بسم الله الرحمن الرحيم

دانشگاه پیام نور استان تهران

مرکز تهران شرق

عنوان پایان نامه

اثر نانوترانسفروزومال هیدروکسی اوره بر روی رده سلول های سرطانی MCF-7

پایان‌نامه برای دریافت درجه کارشناسی ارشد

در رشته زیست شناسی گرایش بیوشیمی

نام دانشجو:

میترا اسدزاده بیرنگ

استاد راهنما :

دکتر داریوش نوروزیان

اساتید مشاور:

دکتر عظیم اکبرزاده خیاوی

دکتر بهزاد لامع راد

اردیبهشت ماه ۱۳۹۳

گواهی اصالت، نشر و حقوق مادی و معنوی اثر

اینجانب میترا اسدزاده بیرنگ دانشجوی ورودی نیمسال دوم ۱۳۸۹ مقطع کارشناسی ارشد

رشته زیست شناسی گرایش بیوشیمی گواهی می نمایم چنان چه در پایان نامه خود از فکر، ایده و نوشته دیگری بهره گرفته ام با نقل قول مستقیم یا غیرمستقیم منبع و ماخذ آن را نیز در جای مناسب ذکر کرده‌ام. بدیهی است مسئولیت تمامی مطالبی که نقل قول دیگران نباشد بر عهده خویش می دانم و جوابگوی آن خواهم بود.

دانشجو تأیید می نماید که مطالب مندرج دراین پایان نامه نتیجه تحقیقات خودش می باشد و در صورت استفاده از نتایج دیگران مرجع آن را ذکر نموده است.

نام و نام خانوادگی دانشجو: میترا اسدزاده بیرنگ

تاریخ و امضاء:

اینجانب میترا اسدزاده بیرنگ. دانشجوی ورودی نیمسال دوم ۱۳۹۸ مقطع کارشناسی ارشد

رشته زیست شناسی گرایش بیوشیمی گواهی می نمایم چنانچه براساس مطالب پایان نامه خود اقدام به انتشار مقاله، کتاب، و .... نمایم ضمن مطلع نمودن استاد راهنما، با نظر ایشان نسبت به نشر مقاله، کتاب، و ... و به صورت مشترک و با ذکر نام استاد راهنما مبادرت نمایم.

نام و نام خانوادگی دانشجو: میترا اسدزاده بیرنگ

تاریخ و امضاء:

(کلیه حقوق مادی مترتب از نتایج مطالعات ، آزمایشات و نو آوری ناشی از تحقیق موضوع این پایان نامه متعلق به دانشگاه پیام نور می باشد.

چکیده : موضوع این پژوهش در ارتباط با تهیه فرمولاسیون نانوترانسفروزومی حاوی داروی هیدروکسی‌اوره در جهت بهبود رهایش و افزایش کارآیی دارو و کاستن عوارض جانبی آن می‌باشد. هیدروکسی‌اوره در برخی بیماری‌های نئوپلاستیک و غیرنئوپلاستیک کاربرد دارد اما اثرات جانبی متعددی روی بیماران بجا می‌گذارد، بخصوص لکوپنی و ترومبوسیتوپنی. ترانسفروزوم وزیکول لیپیدی بسیار تغییرشکل یابنده‌ای است که توانایی فشردن خود و عبور از موانع انتقالی مانند پوست را داشته و می‌تواند داروی همراه خود را به بافت هدف برساند. در این پژوهش ما سعی کردیم از مزایای داروسانی پوستی و تکنولوژی حامل‌های دارویی بطور همزمان استفاده کنیم. برای تهیه هیدروکسی‌اوره نانوترانسفروزومال، از فسفاتیدیل کولین، کلسترول، توین 80 ، سدیم داکسی کولات و داروی هیدروکسی‌اوره در نسبت‌های مناسب واز روش تبخیر فاز معکوس و هیدراتاسیون مجدد استفاده شد. سایز و بار سطحی ذرات هیدروکسی‌اوره ترانسفروزومال با استفاده از دستگاه DLS تعیین و به ترتیب 82 نانومتر و 9.03- میلی‌ولت گزارش شد. میانگین بازده بدام‌اندازی دارو 97% و SD 2.87% با سه بار تکرار محاسبه شد. پایداری فرمولاسیون در شرایط دمایی مختلف با اندازه‌گیری EE% سه بار به فواصل هر سه هفته یکبار تعیین شد. بازده بدام‌اندازی پس از سه هفته نگه‌داری در دمای 2±4 درجه 94.6% و پس از شش هفته در همان شرایط 91.8% بود. پروفایل رهاسازی هیدروکسی‌اوره نانوترانسفروزومال و داروی آزاد با استفاده از غشا استات سلولز بررسی شد و نشان داده شد که دارو از ترانسفروزوم به آهستگی و مداومت و در طی دوره زمانی طولانی‌ترنسبت به داروی آزاد رها می‌شود. اثر سیتوتوکسیسیته داروی فرموله بر روی سلول‌های سرطانی سینه رده MCF-7 با روش MTT بررسی شده و IC50 هیدروکسی‌اوره ترانسفروزومال و هیدروکسی‌اوره آزاد با استفاده برنامه PHARM تعیین شده و با آزمون آماری T با یکدیگر مقایسه گردید. تست MTT در چاهک‌های تریپلیکیت و به دفعات سه بار تکرار گردید و سپس IC50 میانگین محاسبه شد. ترانسفروزوم‌های بدون دارو تاثیر معناداری روی رشد سلول‌ها نداشتند. میزان IC50 برای داروی فرموله 202 µg/ml و±14.73µg/ml = SD و برای داروی آزاد 417.33µg/ml و 24.78 ± = SD µg/ml بود. اختلاف معنی‌دار قابل توجهی ($P < 0.01$) بین این دو وجود دارد. از این مطالعه می‌توان

نتیجه گرفت که فرمولاسیون ترانسفروزومی با توجه به خصوصیاتش ممکنست بتواند کارآیی داروی هیدروکسی‌اوره را روی رده سلول‌های سرطانی MCF-7 در درمان سرطان سینه افزایش دهد.

واژه‌های کلیدی : نانوترانسفروزوم، هیدروکسی‌اوره، حامل دارو، انتقال پوستی، ضدسرطان، رهایش

فهرست مطالب

صفحه

چکیده : ۵

فهرست مطالب ۷

فهرست جداول ۱۱

فهرست نمودارها ۱۲

فهرست اشکال ۱۳

مقدمه ۱۴

ترانسفروزوم چیست ۱۶

ترکیبات ساختاری ترانسفروزوم ۱۷

قابلیت دارورسانی ۱۸

روش تهیه ترانسفروزوم ۲۰

اندازه وزیکول ها ۲۰

خصوصیات ترانسفروزوم ها ۲۱

رفتار درون تنی وزیکول های لیپیدی ۲۳

اندرکنش وزیکول های لیپیدی با سلول ها ۲۵

سرنوشت وزیکول های لیپیدی در بدن ۲۵

نحوه ی انتقال دارو توسط حامل های لیپیدی ۲۶

هدف گیری حامل های لیپیدی ۲۶

هدف گیری غیرفعال ۲۷

مقایسه ترانسفروزوم با لیپوزوم های معمول ۲۸

کینتیک نفوذ ترانسفروزوم ها ۲۹

کاربرد ترانسفروزوم ها ۳۱

۱– حمل پروتئین ها و پپتیدها ۳۱
۲– حمل انسولین ۳۲
۳– حمل داروهای ضد سرطان ۳۲
۴– حمل کورتیکواستروئیدها ۳۳
۵– حمل اینترفرون ها ۳۳
۶– حمل بیحس کننده ها ۳۳
۷ –ایمنی سازی پوستی ۳۳
۸– حمل NSAIDS[۲] ۳۴
۹– حمل داروهای گیاهی ۳۴
۱۰– حمل آنتی بیوتیک ها ۳۴
داروی هیدروکسی اوره ۳۵
فصل ۱ : ۳۷
مروری بر منابع ۳۷
مقدمه ۳۸
مروروی بر پژوهش های اخیر دارورسانی هدفمند ۳۸
نتیجه گیری ۴۳
فصل ۲ : ۴۵
روش تحقیق ۴۵
مقدمه ۴۶
مواد وروش های استفاده شده ۴۶
مواد و تجهیزات مورد نیاز ۴۶
الف – مواد ۴۶
ب– لوازم و تجهیزات آزمایشگاهی ۴۷
تشریح کامل روش تحقیق ۴۹

تهیه بافر فسفات ۴۹
تهیه هیدروکسی اوره خالص ۵۰
منحنی استاندارد هیدروکسی اوره ۵۰
تهیه فسفاتیدیل کولین خالص ۵۲
ساخت ترانسفروزوم ۵۲
تعیین پارامترهای فیزیکوشیمیایی ترانسفروزوم ها ۵۴
۱– سایز و بار سطحی ذرات ۵۴
۲– مشاهده ذرات با SEM[1] ۵۴
۳– بازده بدام اندازی ۵۵
۴ – پایداری بازده بدام اندازی ۵۶
۵– آزاد سازی برون تنی دارو ۵۷
۶– اثر برون تنی داروی نانوترانسفروزومه ۵۸
دستور العمل های کار در اطاق کشت سلول ۵۹
انکوباتور دی اکسیدکربن ۶۰
میکروسکوپ نوری ۶۱
ظروف کشت ۶۱
اتوکلاو و فور ۶۱
تهیه محیط کشت و فیلتر کردن جهت استریلیزاسیون ۶۲
فریز کردن سلول ها ۶۴
روش کشت سلول های MCF-7 ..... ۶۵
خصوصیات سلول های MCF-7 ..... ۶۵
ذوب سلول های منجمد شده (دفریز) ۶۶
تعویض محیط کشت و پاساژ سلولی ۶۷
شمارش سلول های سرطانی ۶۸

روش MTT برای تشخیص سمیت سلولی ۶۸
آنالیز آماری داده ها ۷۰
فصل ۳ : ۷۱
نتایج و تفسیر آنها ۷۱
ارائه نتایج ۷۲
خالص کردن داروی هیدروکسی اوره ۷۲
رسم منحنی استاندارد هیدروکسی اوره ۷۳
تعیین سایز و بار سطحی ذرات ۷۵
تصویر برداری SEM ۷۷
تعیین بازده بدام اندازی ترانسفروزوم ها ۷۸
سنجش پایداری فیزیکی فرمولاسیون ۷۹
رهایش برون تنی دارو ۸۱
اثر برون تنی فرمولاسیون بر رده سلولی MCF-7 و تست MTT ۸۳
فصل ۴ : ۸۶
جمع‌بندی و پیشنهادها ۸۶
مراجع ۹۱

فهرست جداول

جدول ۲-۱: تغییر رنگ فنل قرمز در محیط های اسیدی و بازی ۶۴

جدول ۳-۱ میزان جذب هیدروکسی‌اوره در غلظت‌های مختلف بر حسب µg/ml ۷۳

جدول۳- ۲ میزان جذب نمونه ها در غلظت های مختلف بر حسب µg/ml ۷۴

جدول ۳-۳ بار سطحی ذرات نانوترانسفروزوم شاهد ۷۵

جدول ۳-۴ بار سطحی ذرات نانوترانسفروزوم حاوی داروی هیدروکسی‌اوره ۷۶

جدول ۳- ۵ درصد پایداری انکپسولاسیون هیدروکسی‌اوره نانوترانسفروزومال ۸۱

جدول ۳-۶ مقدار داروی هیدروکسی اوره در نمونه ها برحسب µg ۸۲

جدول ۳-۷ خصوصیات فیزیکوشیمیایی هیدروکسی‌اوره نانوترانسفروزومال ۸۵

فهرست نمودارها

نمودار ۳-۱ منحنی استاندارد هیدروکسی اوره در غلظت 50 – 500 µg/ml ۷۳

نمودار ۳- ۲ منحنی استاندارد هیدروکسی اوره در غلظت 5 – 40 µg/ml ۷۴

نمودار ۳-۳ منحنی توزیع سایز نانوترانسفروزوم شاهد ۷۵

نمودار ۳-۴ منحنی توزیع سایز نانوترانسفروزوم حاوی داروی هیدروکسی‌اوره ۷۶

نمودار ۳ – ۵ پروفایل رهایش تجمعی دارو نسبت به زمان ۸۳

نمودار ۳ – ۶ IC50 هیدروکسی‌اوره نانوترانسفروزومال و هیدروکسی اوره آزاد ۸۴

فهرست اشکال

شکل۱- قسمت های آبدوست و آبگریز مولکول فسفولیپید ۱۷

شکل ۲ - داروهای هیدروفیل در بخش آبدار مرکزی و داروهای لیپوفیل و آمفی‌فیل در غشاء دو لایه ۱۹

شکل ۳- اثر HDL بر دو لایه ای های لیپیدی ۲۴

شکل ۴- تجمع حامل‌های لیپیدی در تومورهای جامد؛ خروج حامل‌ها از رگ به بافت تومورهای غیرطبیعی ۲۷

شکل ۵- انعطاف پذیری ترانسفروزوم و نفوذ پوستی ۲۸

شکل ۶- راه های عبور ترانسفروزوم ها از درون و از بین سلول های پوست ۲۹

شکل ۷- مولکول هیدروکسی اوره ۳۵

شکل ۸ – طیف جذبی هیدروکسی‌اوره خالص شده ۷۲

شکل ۹- تصویر اسکن میکروسکوپ الکترونی از ذرات هیدروکسی‌اوره نانوترانسفروزومال ۷۸

مقدمه

بیماری سرطان یکی از بزرگ‌ترین مشکلات سلامت در کل جهان محسوب می‌شود. موارد ابتلا به سرطان به حدی در حال افزایش است که می‌بایست تهدید آن را برای بشریت بسیار جدی گرفت. سرطان در ایران پس از بیماری‌های قلبی و سوانح رانندگی، سومین عامل مرگ و میر در کشور است. روند رشد سرطان در ایران در سال‌های اخیر بسیار نگران‌کننده بوده و بنا بر پیش‌بینی محققان، ایران درسال ۲۰۱۵، با سونامی سرطان روبه‌رو خواهد شد. طبق آخرین آمارهای ارائه شده از سوی انجمن سرطان ایران، سرطان در ردیف مسایل کلان بهداشتی و درمانی قرار دارد، چرا که سالانه حدود ۸۵ هزار مورد سرطان در کشور شناسایی می‌شود که بیش از ۳۰ هزار مورد آن به مرگ می‌انجامد(۱). ایران بر اساس آمارهای سازمان بهداشت جهانی، بالاترین میزان شیوع سرطان در خاورمیانه را دارد. در کشور ما بعد از سرطان پوست با شیوع ۱۳/۰۸٪ ، سرطان سینه با ۱۱/۳۱٪ در جمعیت کل زن و مرد، رتبه دوم شیوع را به خود اختصاص داده است. در بین جمعیت زنان، سرطان پستان شایع‌ترین بوده و نزدیک به نیمی از انواع سرطان‌های زنان را شامل می‌شود و سرطان معده و پروستات در مردان، و سرطان خون در نوجوانان و جوانان از شایع‌ترین سرطان‌ها هستند(۲). سرطان زمانی شروع می‌شود که سلول در ژن‌های کنترل‌کننده رشد دچار جهش می‌شود. در حالت‌های طبیعی، سلول اگر دچار جهش جبران‌ناپذیر شود، خودش را می‌کشد ولی اگر نتواند خودش را بکشد، این سلول‌ها و یا اولاد و دودمان آنها ممکن است، به شکل غیر قابل کنترل شده‌ای با اطلاعات ژنتیکی غلط تقسیم شوند. حتی ممکن است متاستاز داده و از محل اولیه خود در تومور خارج شده و در محل جدیدی و دور از تومور اولیه، جایگزین و توده توموری جدیدی را بنیان گذارند.(۸)

روش‌های مختلف کنترل ودرمان سرطان عمدتاً شامل سه پروتوکل اصلی است و معمولاً ترکیبی از جراحی، شیمی‌درمانی با داروهای ضدسرطان و رادیوتراپی بکار می‌رود. بهترین و ایده‌ال ترین داروی ضدسرطان، ترکیبی است که بتواند بدون آسیب رساندن به سلول‌های سالم، با هدف‌گیری و تخریب سلول‌های سرطانی اثرات درمانی خود را نشان دهد. متاسفانه تاکنون چنین دارویی کشف نشده است و تحقیقات برای شناسایی این قبیل مواد ادامه دارد. راه دیگر، بهبود قابلیت اثربخشی داروهای موجود روی سلول‌های سرطانی و کاهش عوارض جانبی نامطلوب آنها روی سلول‌های سالم بدن بیماران است. همچنین پایین آوردن دز موثره دارو نیز منجر به تقلیل عوارض نامطلوب می‌گردد.

فرمولاسیون‌های طراحی شده بر اساس تکنولوژی وزیکول‌های لیپیدی، یکی از استراتژی‌های دستیابی به این هدف میباشد(۲۶).

ترانسفروزوم چیست

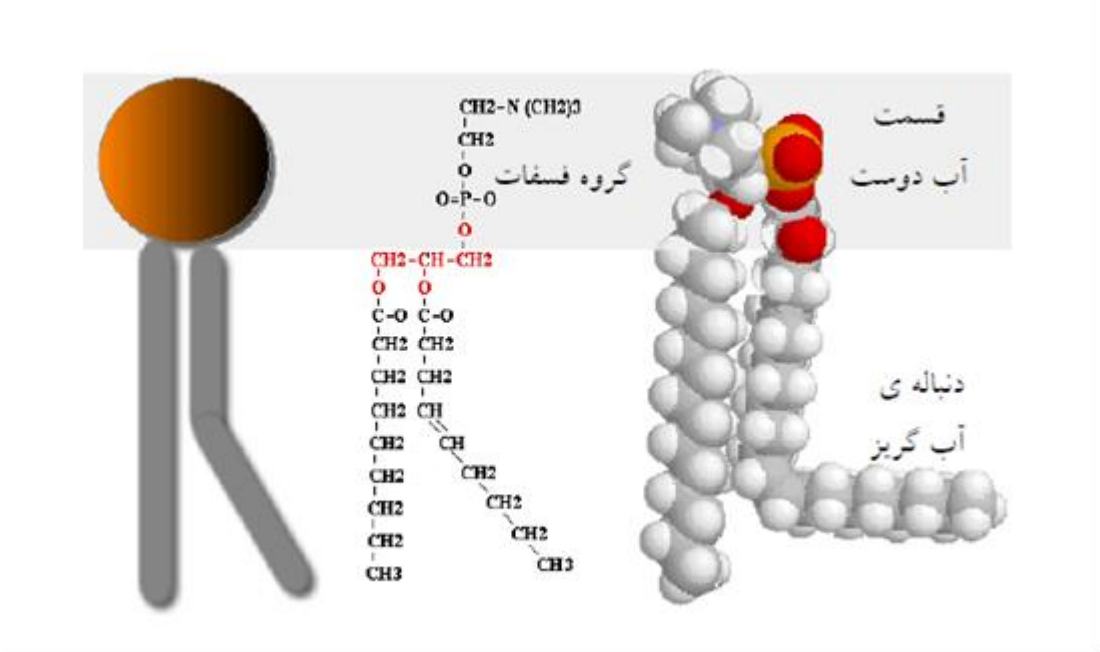
در تحقیقات دارویی، دارورسانی از طریق پوست توجهات زیادی را به خود جلب کرده است، چرا که تعدادی از مشکلات توام با تجویز خوراکی داروها با این روش قابل حل است. دارورسانی از طریق پوست، از این نظر مورد توجه و علاقه قرار گرفته که راه پوستی آسان و ایمن است. راه پوستی مزایای بالقوه زیادی نسبت به راههای مرسوم دیگر دارد، مانند پرهیز از متابلیسم اولیه، مدت زمان فعالیت قابل پیش بینی و طولانی، کاهش عوارض جانبی ناخواسته، بهره مندی بهتر از داروهای با نیمه‌عمر کوتاه، بهبود عملکردهای فیزیولوژیک و فارماکولوژیک، پرهیز از نوسانات سطح دارو، کاهش تفاوت‌های بین وداخل بیمار و مهم‌تر از همه فراهم کردن راحتی بیمار(۳۱).

اخیراً استراتژی‌های زیادی برای افزایش رساندن مواد فعال زیستی از طریق پوست به‌وجود آمده است. از میان این روش‌ها به نظر میرسد که ترانسفروزوم‌ها نویدبخش‌تر باشند. واژه ترانسفروزوم و مفهوم آن در ۱۹۹۱ توسط گریگور Cevc معرفی شد. ترانسفروزوم وزیکول مصنوعی است که مانند یک وزیکول سلولی یا سلولی که متعهد به اگزوسیتوز باشد طراحی شده است و بنابراین برای دارورسانی هدفمند بالقوه و کنترل شده مناسب است(۳۱). ترانسفروزوم، وزیکول بسیار تغییر شکل یابنده‌ای است که دارای یک مرکز آبدار احاطه شده با کمپلکس لیپید دولایه می‌باشد. ترانسفروزوم بسیار سازگار، حساس به استرس و کمپلکس تراکم‌یابنده است. شکل ارجح آن، وزیکول با توانایی تغییر شکل بالاست که ارتباط متقابل شکل و موقعیت جایگیری لیپیدها در دولایه، سبب خودتنظیم کنندگی و خودبهینه شوندگی وزیکول می‌شود. انعطاف‌پذیری غشاء ترانسفروزوم‌ها با مخلوط کردن نسبت‌های مناسبی از ترکیبات فعال‌کننده سطحی مناسب حاصل می‌شود. این موضوع ترانسفروزوم را قادر می‌سازد که بطور کارآمدی از موانع انتقالی مختلفی عبور کند و به عنوان حامل دارویی برای دارورسانی هدفمند غیرتهاجمی و تقویت شده عمل نماید(۳۶). ترانسفروزوم‌ها را می‌توان بصورت سیستمیک و موضعی استفاده نمود(۳۱).

ترکیبات ساختاری ترانسفروزوم

لیپیدهایی که در تهیه ترانسفروزوم بکار می‌روند عمدتاً شامل فسفولیپیدها، لیزوفسفولیپیدها و کلسترول می‌باشند. از انواع سورفکتانت‌های یونی و غیریونی نیز برای افزایش انعطاف‌پذیری مولکول، استفاده شده است.

فسفولیپید یک مولکول آمفی‌پاتیک بوده و واجد هر دو انتهای آب‌دوست و چربی‌دوست است. سر قطبی فسفولیپیدها، انتهای محلول در آب و دنباله‌های اسیدهای چرب، انتهای محلول در چربی یا آب‌گریز آن‌ها را تشکیل می‌دهد. شکل ۱ شمایی از ساختمان مولکول فسفولیپید را نشان می‌دهد.



شکل۱- قسمت‌های آب‌دوست و آب‌گریز مولکول فسفولیپید

طول زنجیره‌های اسید چرب فسفولیپید نقش مهمی در دمای تغییر حالت لیپید دارد و به ازای افزایش هر واحد ۲- متیلن به طول زنجیره ۱۷-۱۴ درجه سانتیگراد افزایش می‌یابد. حضور زنجیره‌های آسیل غیراشباع و انشعابی منجر به کاهش این دما می‌شود. علاوه بر خاصیت یاد شده، فسفولیپیدها از لحاظ بار سطحی نیز متفاوت هستند. آنها می‌توانند در PH فیزیولوژیک به صورت خنثی، منفی یا مثبت باشند (۶).

وزیکول لیپیدی از تجمع مولکول‌های چربی و در صورت صرف انرژی کافی در محیط آبی تشکیل می‌شود. بر اساس قوانین ترمودینامیک، مولکول‌های آمفی‌فیل فسفولیپید به شکل منظم در یک کره بسته قرار می‌گیرند تا گروه‌های آب‌گریزشان را روبروی هم در داخل این کره و دور از مولکول‌های آب پوشش دهند و در همان حال گروه‌های آب‌دوست در تماس با مولکول‌های آب قرار گیرند (۳و۴).

نانووزیکول‌ها یا وزیکول‌های با اندازه‌ی نانومتری نیز بنا به تعریف نانوساختارهای کلوئیدی هستند که ضمن صرف انرژی از آرایش صحیح مولکول‌های تشکیل‌دهنده (فسفولیپیدها) در محلول آبی حاصل می‌شوند. به این ترتیب یک غشای کروی کاملاً بسته تشکیل شده از دو لایه مولکول‌های چربی به وجود می‌آید (۴).

به دلیل کاربردهای وسیع این وزیکول‌ها، به تدریج تحقیقات در زمینه‌ی این علم گسترش یافت و از جنبه‌های مختلف تحقیقاتی مورد توجه قرار گرفتند. سه جنبه‌ی اصلی عبارت است از:

۱- فیزیک‌دان‌ها و شیمی‌فیزیک‌دان‌ها که وزیکول‌های لیپیدی را به عنوان سامانه‌هایی برای مطالعه نیروهای بین مولکول‌های آمفی‌پاتیک یا دوگانه‌دوست مطالعه می‌کنند.

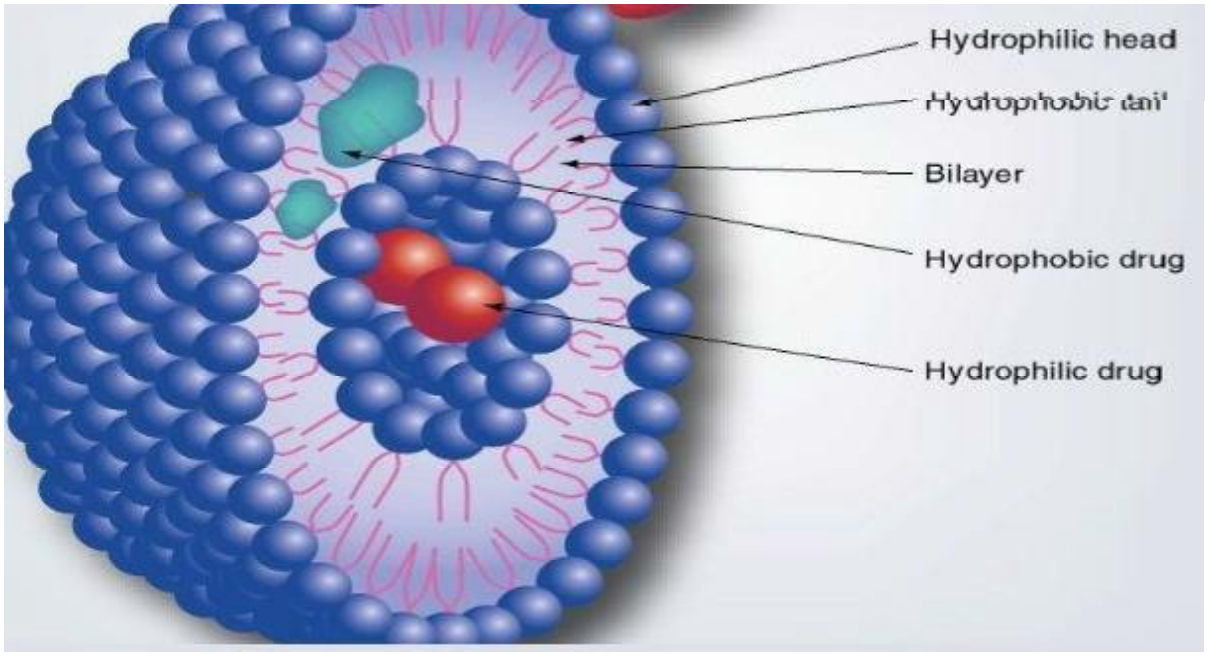
۲- بیوشیمی‌دان‌ها و بیوفیزیک‌دان‌ها وزیکول‌ها را به عنوان الگوی مناسب برای مطالعه‌ی غشاهای زنده در نظر می‌گیرند.

۳- دانشمندان دیگر جنبه‌های علوم بیولوژی همچون داروسازی و صنایع کشاورزی که به استفاده از توانایی این ساختارها به عنوان حامل‌هایی برای انتقال مواد ژنتیکی، داروها یا دیگر عوامل بیولوژیک علاقه‌مند می‌باشند(۳).

قابلیت دارورسانی

از اوایل ۱۹۸۰ امکان کاربرد وزیکول‌های لیپیدی در صنایع دارویی و پزشکی مورد توجه قرارگرفت. آن‌ها کاربردهای صنعتی جالب در صنایع آرایشی و بهداشتی و به ویژه صنعت غذا پیدا کرده‌اند. با استفاده از آن‌ها افزودنی‌های واکنش‌گر، حساس یا فرار (ویتامین‌ها، آنزیم‌ها، آنتی‌اکسیدان‌ها، عوامل

لاغری و غیره) که در شرایط عادی ناپایدارند، می‌توانند به ترکیبات پایدار تبدیل شده و به غنی‌سازی مواد غذایی و ارتقای ارزش تغذیه‌ای کمک کنند(۱۳). وزیکول‌های لیپیدی دارای ساختار منحصر به فردی هستند که قابلیت بدام‌اندازی داروهای هیدروفیل، لیپوفیل، آمفی‌فیل و هیدروفیل باردار (دارای شارژ) را دارند. وزیکول‌ها ذرات کلوئیدی هستند که هسته مرکزی پر از آب احاطه شده با دیواره‌ای از لیپیدها و سورفکتانت‌ها، که در دو لایه چیده شده‌اند را، دارا می‌باشند. اگر نسبت آب افزایش یابد، این آمفی‌فیل ها می‌توانند تشکیل یک یا چند دولایه‌ی متحدالمرکز را بدهند. داروهای هیدروفیل در محیط آبی داخلی جای می‌گیرند، در حالیکه داروهای لیپوفیل و آمفی‌فیل توسط نیروهای الکترواستاتیک و یا هیدروفوبیک در درون دیواره دو لایه بدام می‌افتند(۳۳).



شکل ۲ – داروهای هیدروفیل در بخش آبدار مرکزی و داروهای لیپوفیل و آمفی‌فیل در غشاء دو لایه جای می‌گیرند.

ظهور فناوری نانو در عرصه‌ی داروسازی روزنه‌های تازه‌ای در امر درمان و دارورسانی با نانوحامل‌ها پیش روی محققین قرار داده است. دارورسانی نوین تاثیر شگفت‌آوری در بهبود اثر دارویی بر روی

سلول‌های هدف داشته و از طرف دیگر سلول‌هایی از بدن که در روند بیماری نقشی ندارند تحت تاثیر دارو قرار نمی‌گیرند و به همین دلیل بیمار متحمل عوارض جانبی کمتری می‌گردد. در دارورسانی نوین، دارو به وسیله‌ی یک حامل دارویی مانند وزیکول لیپیدی به سلول‌های هدف منتقل می‌گردد، این حاملین به وسیله‌ی لیگاندهایی چون پادتن، اینتگرین و فولات برای بافت‌های مورد نظر پزشک هدفمند می‌شوند تا بعد از قرار گرفتن در محیط بدن به طور اختصاصی به آن بافت‌ها متصل گردند و بعد از اتصال حاملین دارویی به بافت هدف زمینه رهایش دارو فراهم می‌شود (۳۸و۱۸).

روش تهیه ترانسفروزوم

ابتدا مخلوط اجزاء تشکیل‌دهنده وزیکول‌ها، یعنی لیپیدها و سورفکتانت در حلال ارگانیک فرار حل شده (کلروفرم و متانول ۱:۱)، حلال ارگانیک در دمای بالاتر از تغییر حالت لیپید با استفاده از دستگاه تبخیرکننده چرخان تبخیر می‌شود (دمای اتاق برای فسفاتیدیل کولین خالص و یا 5° C برای دی پالمیتوئیل فسفاتیدیل کولین). باقیمانده حلال، نهایتاً زیر دستگاه مکش در طول شب برطرف می‌شود. فیلم لیپید ته‌نشین شده با بافر فسفات PH 7.4 توسط چرخش 60 rpm[1] بمدت یک ساعت در دمای معادل هیدراته می‌شود. وزیکول‌های حاصل بمدت دو ساعت در دمای اتاق متورم می‌شوند. برای تهیه وزیکول‌های کوچک، سوسپانسیون حاصل در دمای اتاق یا 50° C بمدت 5 دقیقه با استفاده از حمام سونیکاتور یا پروب سونیکه در 40° C بمدت 5 دقیقه سونیکه می‌شوند (تیتانیوم میکروتیپ، سیستم گرما W380). سایز نهایی وزیکول با دستگاه تفرق نور دینامیک(DLS[2]) تعیین می‌شود(۴۰). بهترین ترکیب حامل باید بطور تجربی یافت شده و برای هر داروی مجزا، می‌بایست حامل با سایز مناسب و حداکثر پایداری را بدست آورد.

اندازه وزیکول‌ها

اندازه وزیکول‌ها بر پایداری آن تأثیرگذار است به همین دلیل یکی از روش‌هایی که جهت سنجش پایداری به‌کار می‌رود، برآورد کردن اندازه وزیکول‌هاست. به طور شاخص نانوحامل با کاربرد

1 Rotation per minute

2 Dynamic Light Scattering