

## بررسی دارورسانی نانوذرات مزوحفره‌ی سیلیکایی - نانومیله طلا و تاثیر کورکومین درون این نانوذرات بر روی رده‌های سلول MCF7 و 4T1 سرطان سینه

دکتر حسین دانافر<sup>۱</sup>، دکتر حمید رضا خیری منجیلی<sup>۲</sup>، الهه عطاری<sup>۳</sup>، دکتر علی شرفی<sup>۴</sup>

نویسنده‌ی مسئول: گروه نانو فناوری دارویی، دانشکده‌ی داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، زنجان h.kheiri@zums.ac.ir

دریافت: ۹۵/۹/۲ پذیرش: ۹۵/۱۲/۲۲

### چکیده

**زمینه و هدف:** کورکومین از مشتقات پلی‌فنولیک می‌باشد که خواص ضد سرطانی و ضد التهابی دارد و هم به‌صورت خوراکی و هم به‌صورت موضعی قابل استفاده و تزریق است. به این منظور، نانوذرات مزوحفره‌ی سیلیکایی - نانومیله طلا به‌عنوان یک سیستم نوپایدهنده برای دارورسانی موثر مولکول کورکومین استفاده شد و نانومزوسپورهای طلا در دسترس سلول‌های سرطانی سینه قرار داده شد. **روش بررسی:** ویژگی‌های نانوذرات سنتزی با تکنیک‌های مختلف از قبیل میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM)، آنالیز جذب و واجذب گاز نیتروژن و تکنیک تفرق نور پویا (DLS) مشخص گردید. همچنین تاثیرات کاربرد این ابزار بر خواص دارویی ضد سرطان این مولکول در محیط کشت سلولی، با روش آزمون سمیت سلولی MTT مورد ارزیابی قرار گرفت. کارایی نانو سامانه دارویی تولید شده در لاین سلول سرطان سینه انسانی (MCF-7) و 4T1 آزمایش گردید.

**یافته‌ها:** میانگین اندازه نانو سامانه مزوحفره‌ای کمتر از ۳۰ نانومتر بود که مشابه با داده‌های حاصل از تکنیک تفرق دینامیک نور به دست آمد، میزان درصد قرارگیری کورکومین در داخل نانو سامانه مزوسپوری در حدود ۸۰ درصد بود، ایزوترم جذب - وا جذب نیتروژن AuNR@msio2 و CUR@ AuNR@msio2 نشان می‌دهد که مساحت ویژه نانوذرات Au@msio2 در حدود  $834 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$  بود که با قرارگیری دارو این مساحت ویژه به حدود  $234 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$  کاهش یافت. دوز کشندگی (LD50) برای نانوکورکومین مزوسپوری برای MCF-7 در زمان ۴۸ ساعت ۵/۱۹ میکرومولار و برای 4T1 ۶/۱۴ میکرومولار بود. همچنین میزان بقای سلول‌های مذکور پس از تیمار با ساختارهای مزوسپوری در غلظت‌های مختلف تغییر زیادی نکرد که نشان از عدم سمیت نانو سامانه مزوسپوری دارد. **نتیجه گیری:** نانوذره مزوسپوری نسبت به داروی آزاد، آپتوز بیشتری را در سلول‌های سرطان سینه سبب می‌شوند.

**واژگان کلیدی:** کورکومین، نانومزوسپور طلا، سرطان سینه، سیستم دارورسانی، تست سمیت سلولی

- 
- ۱- دکترای تخصصی شیمی دارویی، استادیار گروه شیمی دارویی، دانشکده‌ی داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، زنجان
  - ۲- دکترای تخصصی نانو فناوری دارویی، استادیار گروه نانو فناوری دارویی، دانشکده‌ی داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، زنجان
  - ۳- دانشجوی داروسازی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده‌ی داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، زنجان
  - ۴- دکترای تخصصی بیوتکنولوژی، استادیار گروه بیوتکنولوژی، دانشکده‌ی داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، زنجان

## مقدمه

سرطان به بیماری‌هایی اطلاق می‌شود که وجه مشترک آنها رشد کنترل نشده و گسترش سلول‌های غیرطبیعی است. به گزارش بنیاد تحقیقات بین‌المللی سرطان در بریتانیا، آمار جهانی مبتلایان در ۱۰ سال گذشته، ۲۰ درصد بیشتر شده است (۱ و ۲). سرطان سینه یکی از شایع‌ترین سرطان‌ها در زنان است که حدود ۲۳ درصد از کل سرطان زنان را به خود اختصاص داده است و سالیانه حدود ۰/۵ درصد نرخ بروز سرطان سینه در جهان از سال ۱۹۹۰ افزایش یافته است، درمان‌های مرسوم سرطان شامل اعمال جراحی روی بافت سرطانی و خارج کردن آن، رادیوتراپی و شیمی درمانی می‌باشد (۳ و ۴). در سال‌های اخیر برنامه اصلی تحقیقات کلینیکی سرطان، توسعه راهکارهای بر پایه مکانیسم‌های بیولوژیکی با قدرت انتخابی بالا استوار بوده است که بتواند به‌طور اختصاصی تومور را مورد هدف قرار دهد در حالی که حداقل اثرات سمی ناخواسته را داشته باشد. گیاهان دارویی از قدیم در درمان بیماری‌های مختلف مورد استفاده قرار می‌گرفتند، زردچوبه با نام علمی *Curcuma longa* دارای متابولیت ثانویه‌ای به نام کورکومین می‌باشد که اثرات آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی و ضد سرطانی آن ثابت شده است (۵). تحقیقات متعددی نشان داده‌اند که کورکومین از ایجاد سلول‌های توموری جلوگیری نموده و سرعت رشد و پیشرفت بسیاری از سرطان‌ها را کاهش می‌دهد. تحقیقات انجام شده در این زمینه کورکومین را دارویی بالقوه در جهت درمان طیف وسیعی از سرطان‌ها نظیر سرطان سینه، پروستات، تخمدان، مری، کلیه، دستگاه گوارش، ملانوما، لوکمی و لنفوما معرفی کرده است (۶ و ۷). کورکومین در دوزهای خاصی باعث القای آپوپتوز در بسیاری از سلول‌های سرطانی شده و اغلب باعث توقف این سلول‌ها در فاز G2 میتوز می‌شود. از طرفی توقف سلول‌ها در فاز G2 آنها را نسبت به اثرات سیتوتوکسیک رادیوتراپی حساس‌تر می‌کند (۸). القای

آپوپتوزیس در اثر افزایش بیان کاسپازهای مختلف به خصوص کاسپازهای ۳ و ۸ و ۹ در سلول‌های سرطانی رخ می‌دهد. به علاوه کورکومین با مهار پروتئازوم باعث فعال شدن کاسپاز ۹ می‌گردد. استفاده از کورکومین دارای محدودیت‌هایی است که می‌توان به سطوح پایین کورکومین در بافت‌های بدن و پلاسمای خون، جذب پایین، متابولیسم سریع و حذف سریع سیستماتیک است. طبق اطلاعات موجود، عمده‌ی کورکومینی که وارد بدن می‌شود، دفع شده و مقدار کمی از آن وارد جریان خون می‌شود؛ این به واسطه غیر قابل حل بودن آن در آب، تحت شرایط خنثی یا اسیدی، می‌باشد. به علاوه، این رنگ‌دانه معدنی داخل روده به سرعت دچار تغییر و تحول می‌شود؛ بنابراین با پیدا کردن راهی برای حفاظت از کورکومین می‌توان قابلیت دسترسی زیستی آن را افزایش داد. برای اصلاح حلالیت و در دسترس بودن زیستی کورکومین روش‌های متعددی در ده سال اخیر به کار گرفته شده است (۹ و ۱۰). امروزه، کاربرد نانو ذرات در زمینه رسانش داروهای مختلف به سبب افزایش زیست ماندگاری دارو و هدفمند نمودن آن، مورد توجه محققین قرار گرفته است. این ذرات می‌توانند زیست ماندگاری داروهای حساس نظیر کورکومین را افزایش دهند (۱۱-۱۳). نانو ذرات به دلیل اندازه کوچک، قابلیت عبور از سد‌های غشایی را دارند. امکان هدفمند سازی این ذرات برای ورود به یک ارگان خاص، از دیگر مزایای آنها به شمار می‌رود (۱۴-۱۷). در مورد ترکیبات به شدت هیدروفوب، مانند کورکومین، کاربرد نانوذرات، به جهت افزایش حلالیت آبی دارو از اهمیت ویژه‌ای برخوردار می‌باشد (۱۸). با این وجود، بررسی‌های اندکی در زمینه‌ی نانو ذرات حاوی کورکومین تا کنون صورت گرفته است و تحقیقات در راستای تولید و کاربرد سیستم‌های مبتنی بر نانوذرات جهت رسانش کورکومین در ابتدای مسیر خود قرار دارد (۱۹). در این مطالعه با استفاده از نانوموزسپورهای سیلیکایی به‌عنوان حامل در جهت افزایش

سنتز نانوذرات طلا با پوشش سیلیکای مزوحفره  $\text{AuNR@Ag@mSiO}_2$ : ۵ میلی‌لیتر از کلئید  $\text{AuNR@Ag}$  تشکیل شده در مرحله قبل با ۲۵ میکرولیتر از هیدروکسی سدیم ۰/۱ مولار تحت شرایط همزدگی شدید قرار داده شد. سپس ۳۰ میکرولیتر از TEOS حل شده در متانول ۱۰ درصد حجمی حجمی اضافه گردید و برای مدت ۳ ساعت تحت همزدن ملایم قرار گرفت و سپس اجازه داده شد این کار به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق ادامه پیدا کند تا  $\text{AuNR@Ag@mSiO}_2$  به دست آید. سپس ۸ میلی‌لیتر از آب اکسیژنه به ۴ میلی‌لیتر از ترکیب  $\text{AuNR@Ag@mSiO}_2$  اضافه گردید و به مدت ۱۲ ساعت بر روی همزن قرار داده شد. ترکیب نانوذرات طلا با پوشش سیلیکای مزوحفره  $\text{AuNR@mSiO}_2$  با استفاده از سانتریفیوژ محلول فوق به دست آمد. سپس رسوب حاصله سه بار با اتانول شستشو داده شد و در آخر در ۴ میلی‌لیتر اتانول حل گردید و در شرایط خنک نگهداری گردید.

**تهیه فرمولاسیون نانو سامانه با پوشش طلا حاوی کورکومین:** مقدار مناسب از کورکومین در میکروتیوب ۱/۵ میلی‌لیتری پوشیده با فویل آلومینیومی قرار داده شد. سپس مقدار کافی از نانو سامانه به آن اضافه گردید. واکنش بر روی استیر با دور ۳۰۰ rpm در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد به منظور انحلال کامل کورکومین در نانو سامانه، و به مدت ۳ ساعت انجام شد. نانو سامانه کورکومین دور از نور و در ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد.

**بررسی سمیت سلولی نانو سامانه‌های طراحی شده حاوی کورومین:** لاین‌های سلول‌های سرطانی سینه (MCF-7، 4T1) و نرمال سینه (MCF10A) از انیستیتو پاستور تهیه گردید. بر اساس محیط کشت نوشته شده در جدول ۱ سلول‌ها کشت داده شدند.

زیست ماندگاری و دسترسی زیستی کورکومین به رده‌ی سلولی آدنوکارسینوما‌ی سینه انسانی و موشی منتقل گردید و اثرات ضد سرطانی آن با کاهش تکثیر سلولی از طریق بررسی میزان مرگ سلولی به کمک تست سمیت سنجی مشاهده شد.

### روش بررسی

این مطالعه از نوع مطالعات علوم پایه (Experimental) با کد اخلاق (ZUMS.REC.1394.286) می‌باشد.

**سنتز نانو ذرات مزوحفره سیلیکایی - نانومیل طلا:** در ابتدا برای سنتز محلول دانه، ۴۰۰ میکرولیتر محلول سدیم بوروهیدرید سرد ۰/۱ مولار، به محلول آبی متشکل از ۲۵۰ میکرولیتر نمک طلا ۰/۱ مولار و ۷۵ میلی‌لیتر از ستیل تری متیل آمونیوم برومید ۰/۱ مولار در شرایط هم خوردن شدید اضافه گردید. رنگ مخلوط به سرعت از زرد به قهوه‌ای تبدیل شد که این نشان دهنده تشکیل نانو ذرات دانه‌ای طلا می‌باشد. در این حالت به مدت ۲ ساعت دیگر اجازه داده می‌شود به شدت هم بخورد. در ادامه در مرحله رشد دانه‌ها، محلول رشد که حاوی ۹/۵ میلی‌لیتر از ستیل تری متیل آمونیوم برومید ۰/۱ مولار، ۴۰۰ میکرولیتر از نمک طلا ۰/۱ مولار، ۶۰ میکرولیتر از نیترات نقره ۰/۱ مولار و ۶۴ میکرولیتر از اسید اسکوربیک ۰/۱ مولار می‌باشد، تهیه گردید. در این مرحله نانومیل‌های طلا به وسیله اضافه کردن ۱۰ میکرولیتر از محلول دانه به محلول رشد و هم خوردن به مدت ۲۴ ساعت به دست می‌آید. سپس به ۶ میلی‌لیتر از محلول فوق، ۲۰ میکرولیتر اسید اسکوربیک ۰/۱ مولار و ۱ میلی‌لیتر نیترات نقره ۰/۱ مولار اضافه شده و ۳۰۰ ماکرولیتر هیدروکسید سدیم ۰/۱ مولار به این مخلوط اضافه شد تا PH به ۱۰ افزایش پیدا کند. مخلوط به مدت ۲ ساعت به شدت هم خورده می‌شود تا این که اطمینان حاصل شود تمام سطح نانوذرات طلا به وسیله نقره پوشانده شده است.

جدول ۱. محیط کشت اختصاصی سلول های سرطانی و نرمال

نام سلول	محتوای محیط کشت
MCF-7,4T1	RPMI-1640 + 10% FBS + 1% PenG/Strep
MCF10A	DMEM/F12 + 10% DHS +1% PenG/Strep + rEGF

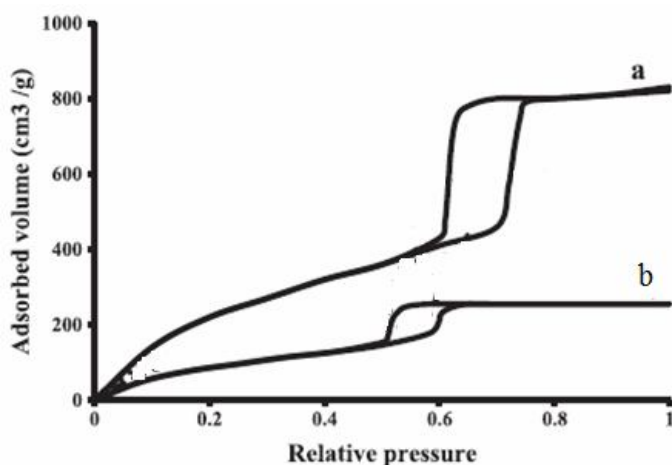
گردید. اندازه گیری جذب سلول در طول موج ۵۷۰ نانومتر (با طول موج رفرنس ۶۹۰ نانومتر) با دستگاه الیزا صورت پذیرفت و توان زیستی سلول های تیمار شده با دارو (در هر غلظت از دارو) به شکل نسبت درصد جذب نوری فورمازان تولیدی در نمونه در قیاس با میزان جذب نوری فورمازان تولیدی در شاهد منفی (سلول های بدون تیمار دارویی) تعیین و در یک منحنی دوعده ای (درصد توان زیستی یا بقای سلول ها در مقابل غلظت دارو) نشان داده شد. با استفاده از این منحنی می توان LC50 را برای داروهای مورد نظر محاسبه و تعیین نمود.

#### یافته ها

بررسی ساختاری نانوسامانه حاوی کورکومین آنالیز نتایج جذب و واجذب گاز نیتروژن برای نانو مزوسپورلا: آنالیز نتایج ایزوترم جذب-واجذب نیتروژن AuNR@msio<sub>2</sub> و CUR@ AuNR@msio<sub>2</sub> نشان می دهد که مساحت ویژه نانوذرات Au@msio<sub>2</sub> در حدود  $834 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$  بود. با قرار گیری دارو در نانو سامانه مزوحفره ای سیلیکایی این مساحت ویژه به حدود  $234 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$  کاهش یافت (شکل ۱). ایزوترم های جذب/واجذب نیتروژن هم از نوع IV با الگوی (hysteresis) از نوع H2 هستند که مؤید وجود ساختار مزو در نانو سامانه تهیه شده می باشد.

آزمون MTT به منظور بررسی بقای سلولی پس از تیمار با داروئی تنها، نانو سامانه خالی و نانو سامانه حاوی کورکومین انجام گردید. مراحل کار به این صورت بود که کشت سلول های مورد نظر تا رسیدن به تراکم سطحی ۸۰ درصد انجام گرفت و سپس سلول ها تریپسین شدند و در ادامه سلول ها سانتریفیوژ (۱۷۰۰ rpm به مدت ۷ دقیقه) گردیدند و محلول رویی تخلیه و رسوب سلولی در ۱ میلی لیتر محیط کشت کامل حل گردید و با استفاده از لام نئوبار شمارش سلولی انجام گرفت و تعداد  $10^4$  سلول در پلیت ۹۶ خانه با حجم نهایی ۲۰۰ میکرو لیتر محیط کشت کامل اختصاصی کشت داده شدند. پلیت ۹۶ خانه در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد با دی اکسید کربن ۵ درصد تا هنگام اتصال سلول ها به سطح فلاسک و رسیدن به مورفولوژی غلظت های دارویی به هر چاهک نگهداری شد. غلظت های مختلف به صورت تکرار ۳ تایی مورد آزمایش قرار گرفت.

محیط کشت حاوی گروه های تیماری پس از طی شدن زمان تیمار و اضافه کردن محیط کشت کامل و تازه تخلیه گردید و ۲۰ میکرو لیتر معرف MTT با غلظت ۵ میلی گرم بر میلی لیتر (حل شده در بافر PBS) به هر چاهک اضافه گردید. پلیت ۹۶ خانه در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد با دی اکسید کربن ۵ درصد به مدت ۴ ساعت نگهداری شد و چاهک ها تخلیه گردید و ۲۰۰ میکرو لیتر DMSO به هر چاهک اضافه



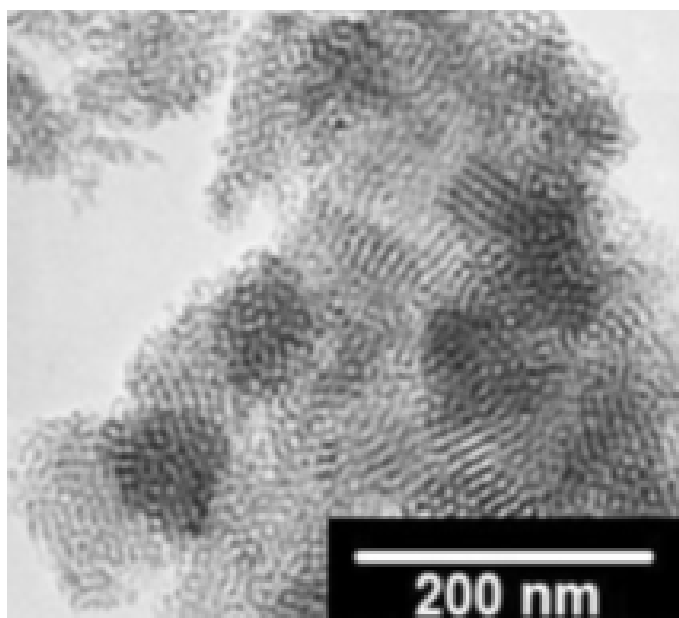
شکل ۱: ایزوترم‌های جذب-سرا جذب نیتروژن

*a*: AuNR@msio2 (نانوذرات طلا با پوشش سیلیکایی مزوحفره)

*b*: CUR@AuNR@msio2 (نانوذرات طلا با پوشش سیلیکایی مزوحفره حاوی داروی کورکومین)

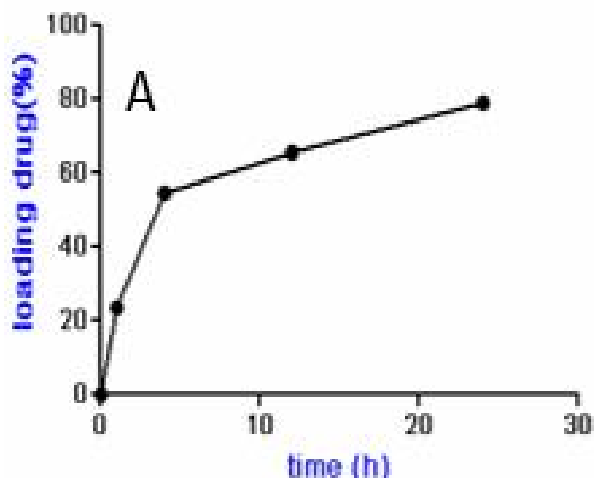
نظر گرفته شد که کمتر از ۳۰ نانومتر بود که مشابه با داده‌های حاصل از تکنیک روش تفرق دینامیک نور به دست آمد. همچنین نتایج عکسبرداری نشان می‌دهد که نانو سامانه مزوحفره‌ای حالت میله‌ای دارد (شکل ۲).

تصویر میکروسکوپ الکترونی عبوری از AuNR@mSiO<sub>2</sub>: در شکل ۲ نتیجه حاصل از عکسبرداری میکروسکوپ الکترونی عبوری از نانوکورکومین مزوحفره‌ای پس از ۱۰ بار رقیق سازی نشان داده شده است. میانگین اندازه حاصل از این ذرات به عنوان اندازه نانو سامانه مزوحفره‌ای در

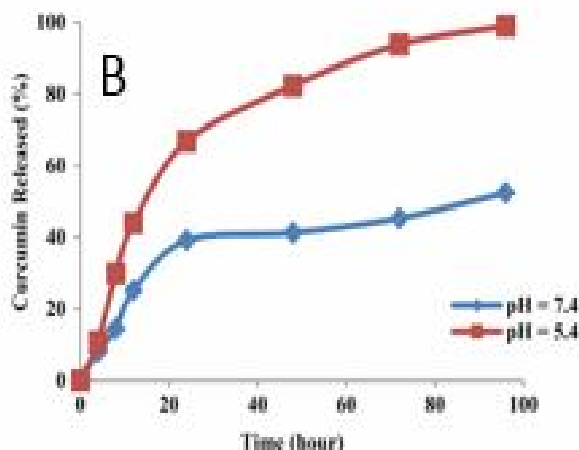


شکل ۲: تصویر نانو سامانه مزوسپوری پس از عکسبرداری بامیکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM)

کورکومین آزاد شده از نانوسامانه مزوسپوری، طی بازه‌های زمانی ۱۲۰، ۷۲، ۴۸، ۲۴، ۱۴، ۱۲، ۶، ۴، ۲ ساعت با استفاده از منحنی استاندارد کورکومین به دست آمد (۲۰). نتایج آنالیز رهایش در دو  $\text{PH} = 5/4$  و  $\text{PH} = 7/4$  نشان داد در محیط فسفات بافر با  $\text{PH} = 7/4$ ، حدود ۵۲ درصد رهایش دارو در ۱۰۰ ساعت مشاهده شده است که در شرایط  $\text{PH} = 5/4$  به ۱۰۰ درصد رسیده است (شکل ۳B).



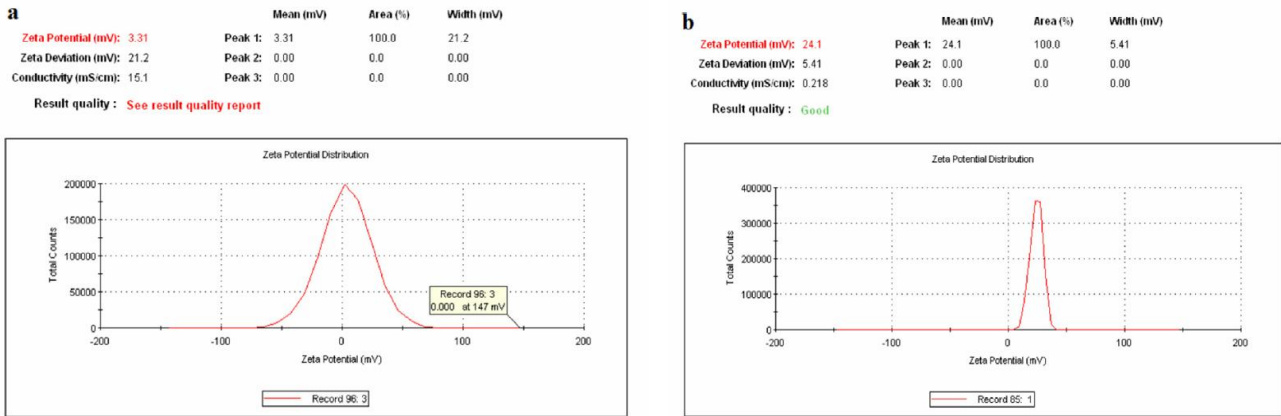
محاسبه‌ی کارایی ورود کورکومین و رهایش کورکومین به صورت برون تنی از نانوسامانه مزوسپوری: میزان کورکومین قرار گرفته در ساختارهای نانو سامانه با استفاده از آنالیز طیف سنجی UV-vis و دیالیز نانوکورکومین مزوسپوری در غشای نیمه تراوا مورد بررسی قرار گرفت. داده‌های به دست آمده از آنالیز طیف سنجی UV-vis بیانگر بازدهی ورودی معادل ۸۰ درصد برای حداکثر ورود نانوسامانه مزوسپوری بود (شکل A). و برای بررسی رهایش کورکومین، مقدار



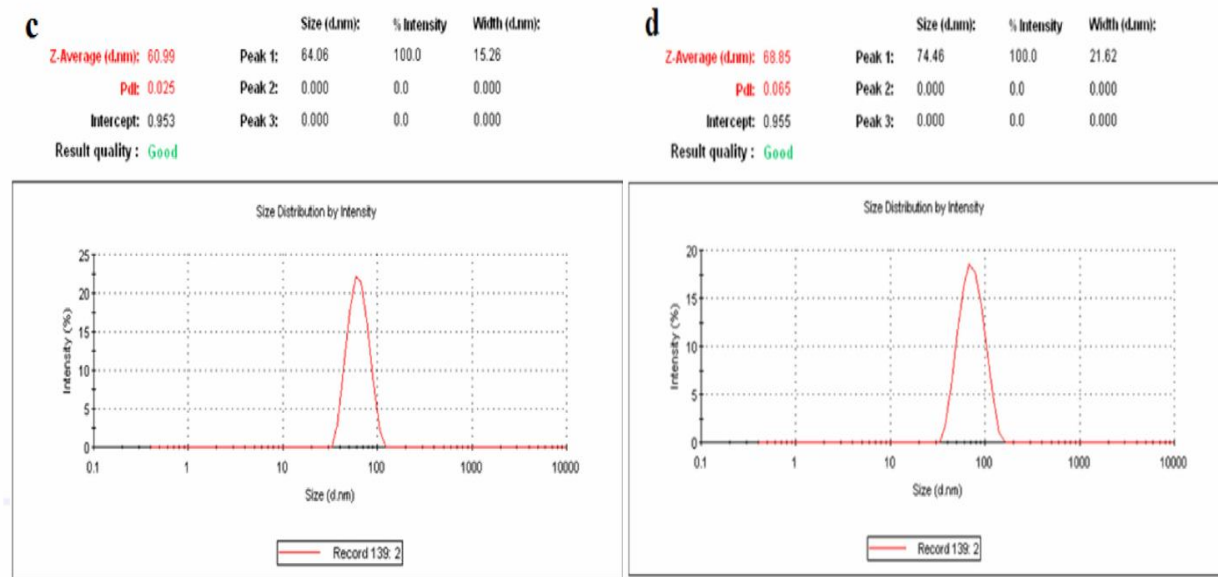
شکل ۳ a: میزان درصد قرارگیری کورکومین در داخل نانو سامانه مزوسپوری در طول یک شبانه روز b: منحنی حاصل از رهش دارو از نانو سامانه مزوسپوری در  $\text{PH} = 5/4$  و  $\text{PH} = 7/4$  در  $37^\circ\text{C}$  درجه‌ی سانتی‌گراد.

نظر می‌رسد (شکل ۴) و میانگین قطر نانوذره مزوسپوری سیلیکایی و نانوکورکومین مزوسپوری نشان داد که این فرمولاسیون‌ها به ترتیب ابعادی حدود ۶۰ و ۷۰ نانومتر دارند (شکل ۵). شاخص عدم تجانس (PDI) برای نانوذره مزوسپوری سیلیکایی و نانوکورکومین مزوسپوری به ترتیب ۰/۰۲۵ و ۰/۰۶۵ محاسبه گردید.

محاسبه‌ی اندازه و بار سطحی نانوکورکومین مزوسپوری با استفاده از تکنیک DLS: نحوه‌ی توزیع و میانگین اندازه‌ی ذرات در نانوذره مزوسپوری سیلیکایی و نانوکورکومین مزوسپوری با استفاده از دستگاه زتا سایزر تعیین شد. پتانسیل زتا برای نانوذره مزوسپوری سیلیکایی و نانوکورکومین مزوسپوری به ترتیب ۳/۳۱ و ۲۴ به دست آمد که مطلوب به



شکل ۴ بررسی بار (a) نانوذره مزوسپوری سیلیکایی (b) نانوکورکومین مزوسپوری با استفاده از تکنیک تفرق دینامیک نور (DLS)



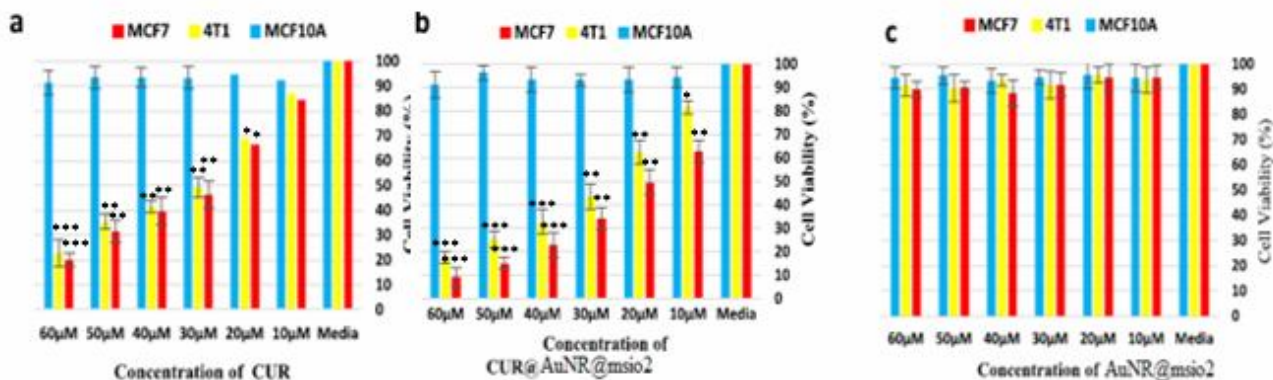
شکل ۵: بررسی اندازه (c) نانوذره مزوسپوری سیلیکایی (d) نانوکورکومین مزوسپوری

MCF-7 ۵/۱۹ میکرومولار و برای 4T1 ۶/۱۴ میکرومولار محاسبه گردید. بر اساس نتایج IC50 کورکومین تنها برای سل لاین MCF-7 ۲۹/۰۴ میکرومولار و برای سل لاین 4T1 برابر با ۲۹/۳۷ می باشد. همچنین در این مطالعه IC50 نانوذره و کورکومین در سل لاین MCF-7 برابر با ۱۹/۵ و برای 4T1 برابر ۲۷/۴۳ می باشد. میزان بقای سلول های مذکور پس

مطالعه ی بقای سلولی رده های سلولی توموری و نرمال و کنترل پس از تیمار با نانو کورکومین مزوسپوری: نانو کورکومین مزوسپوری کاهش بقای رده سلولی توموری MCF-7 و 4T1 را به صورت وابسته به غلظت موجب می شود، با افزایش غلظت میزان مرگ القا شده در سلول ها افزایش می یابد. دوز موثر کشنده (IC50) در ۴۸ ساعت برای

نانوکورکومین مزوسپوری در غلظت‌های مختلف این دارو در ۴۸ ساعت، نشان داد که نانوکورکومین مزوسپوری هیچ اثری در غلظت‌های متفاوت بر مهار رشد سلول‌های نرمال سینه ندارد (شکل ۶).

از تیمار با ساختارهای مزوسپوری در غلظت‌های متفاوت تغییر آنچنانی نکرد که نشان از عدم سمیت نانو سامانه مزوسپوری دارد. بررسی حساسیت سلول‌های نرمال MCF10A سینه به واسطه‌ی تیمار این سلول‌ها با



شکل ۶. تاثیر نانو کورکومین مزوسپوری، بر بقای رده سلولی توموری MCF-7 و 4T1 و MCF10A با استفاده از آزمون MTT سلول‌ها با طیفی از غلظت‌ها در زمان ۴۸ ساعت تیمار شدند. منحنی حاصل نشان دهنده اثر بازدارندگی نانو کورکومین مزوسپوری (نانو ذرات طلا با پوشش سیلیکای مزوحفره حاوی داروی کورکومین)، بر روی توان زیستی سلول‌ها به صورت تابعی از غلظت و زمان می‌باشد. هر یک از نقاط، میانگین نتایج حاصل از حداقل سه آزمون مستقل  $\pm$  خطای معیار می‌باشد ( $P < 0.001$ \*\*\*) ( $P < 0.01$ \*\* ) ( $P < 0.05$ \*)

نظر می‌رسد دلایل اصلی مشکل سطوح پایین کورکومین در بافت‌های بدن و پلاسمای خون جذب پایین، متابولیسم سریع و حذف سریع سیستماتیک است. طبق اطلاعات موجود، عمده‌ی کورکومینی که وارد بدن می‌شود، دفع شده و مقدار کمی از آن وارد جریان خون می‌شود؛ این به واسطه غیر قابل حل بودن آن در آب، تحت شرایط خنثی یا اسیدی، می‌باشد. به علاوه، این رنگ‌دانه معدنی داخل روده به سرعت دچار تغییر و تحول می‌شود؛ بنابراین با پیدا کردن راهی برای حفاظت از کورکومین می‌توان قابلیت دسترسی زیستی آن را افزایش داد. برای اصلاح حلالیت و در دسترس بودن زیستی کورکومین روش‌های متعددی در ده سال اخیر به کار گرفته شده است

## بحث

مطالعاتی که در سه دهه‌ی اخیر در زمینه قدرت جذب، توزیع، متابولیسم و دفع کورکومین صورت گرفته است، حاکی از جذب ضعیف و متابولیسم سریع این ترکیب دارویی و در نتیجه محدودیت استفاده از آن به دلیل زیست ماندگاری ضعیف کورکومین می‌باشد. راهکارهایی نظیر ایجاد تغییرات ساختاری و تولید فرمولاسیون‌های مختلف دارو و آنالوگ‌های کورکومینی جهت افزایش جذب کورکومین از ناحیه روده در حال بررسی است. آزمایشات فاز اول کلینیکی نشان داده کورکومین در دوزهای بالا حتی تا ۱۲ گرم در روز برای انسان ایمن است ولی زیست دستیابی بسیار پایینی دارد (۱۹). به



به طوری که هر سال نسبت به سال قبل افزایش چشمگیری در این زمینه تحقیقاتی مشاهده می‌شود (۲۱). در ابتدا از مولکول‌های کمکی مانند پیپرین استفاده شد که با وساطت گلوکوروئیداسیون عمل می‌کرد. سپس از لیپوزوم‌ها استفاده شد و در مرحله‌ی بعدی کمپلکس‌های فسفولیپیدی و در نهایت نانوذرات کورکومین و مولوکول‌های آنالوگ ساختاری کورکومین به کار گرفته شد و همچنان تحقیقات برای به دست آوردن فرمول‌های نوین کورکومین برای افزایش حلالیت و زیست دستیابی ادامه دارد (۲۲). در مطالعه حاضر از نانومزوسپورهای سیلیکایی به عنوان حامل در جهت افزایش زیست ماندگاری و دسترسی زیستی کورکومین استفاده شده است که علت انتخاب دارا بودن سطح بسیار بزرگ که امکان افزایش تعداد قرارگیری دارو را می‌دهد. همچنین ماده سیلیکا یک ترکیب زیست سازگار است که برای کنترل فرایند آزادسازی، قادر به ذخیره و آزادسازی تدریجی داروها می‌باشد (۲۳-۲۵). سایز نانو ذرات مزوسپوری سیلیکایی پوشیده با طلا سنتز شده در رنج ۳۰ تا ۴۰ نانومتر بود که در تحقیقات گذشته ثابت شد نانوذرات مزوسپوری در ابعاد ۲۰ تا حدود ۵۰ نانومتر به طور کارایی جذب سلول‌های سرطان سینه می‌شوند و افزایش سایز به رنج ۳۰ تا ۵۰ نانومتر منجر به افزایش مرگ برنامه‌ریزی شده می‌شود (۲۶) و در دیگر تحقیقات نشان داده شد که ذرات بزرگتر از ۱۰۰ نانومتر در نزدیکی رگ‌ها باقی می‌مانند ولی ذرات کوچکتر به سرعت از رگ‌های خونی خارج شده و به ماتریکس تومور می‌روند (۲۷ و ۲۸). آنالیز نتایج جذب و واجذب گاز نیتروژن در نانو سامانه کاهش ۲۸ درصدی سطح ویژه پس از قرار گیری دارو را نشان می‌دهد. آنالیز رهایش کورکومین از نانو سامانه مزوسپوری در بافر فسفات و بافر سترات اعداد ۵۲ درصد و ۱۰۰ درصد را در ۱۰۰ ساعت نشان می‌دهد که در ۴۸ ساعت اولیه در بافر فسفات حدود ۴۱ درصد از دارو و در بافر سترات حدود ۸۲ درصد از دارو رهایش داشته‌اند و به نظر

می‌رسد در ساعات اولیه داروهای قرار گرفته در سطح نانو ذرات مزوسپوری به راحتی در هر دو شرایط رهایش دارند و پس از آن داروهای قرار گرفته در حفرات نانومزوسپور شروع به رهایش می‌کنند که در داخل حفرات با گروه‌های OH که در آن جا مستقر هستند (۲۹)، در واکنش هستند که به نظر می‌رسد در شرایط اسیدی این برهم کنش‌ها سریع‌تر سست می‌شوند (۳۰). نتایج تست سمیت نشان می‌دهد، که با افزایش غلظت، افزایش مرگ سلولی رده‌های سلولی توموری -MCF 7 و 4T1 سینه مشاهده می‌شود. دوز کشندگی (LC50) برای نانوکورکومین مزوسپوری برای MCF-7 در زمان ۴۸ ساعت ۵/۱۹ میکرومولار و برای 4T1 ۶/۱۴ میکرومولار بود. همچنین میزان بقای سلول‌های مذکور پس از تیمار با ساختارهای مزوسپوری در غلظت‌های مختلف تغییر زیادی نکرد که نشان از عدم سمیت نانو سامانه مزوسپوری دارد (۳۱). در مطالعاتی که جهت بررسی سمیت کورکومین دندروزومی در مقایسه با کورکومین آزاد بر روی رده سلولی آدنوکارسینوما‌ی معده انسان (AGS) انجام شد نتایج مشابهی به دست آمد و نتایج نشان داد که کورکومین دندروزومی در مقایسه با کورکومین آزاد تاثیر بیشتری بر وقوع مرگ برنامه ریزی شده در سلول‌های آدنوکارسینوما‌ی معده انسان (AGS) نشان می‌دهد. بنابراین دندروزوم همانند ساختارهای مزوسپوری ناقل مناسبی برای انتقال کورکومین نامحلول به سلول بوده و از این نانوذرات می‌توان جهت درمان و از بین بردن سلول‌های سرطانی بهره برد (۳۲). و همچنین در ادامه تحقیقات دکتر صادقی‌زاده و همکاران در مرکز تحقیقات سرطان - دانشگاه علوم پزشکی تهران نشان داد که داده‌های پیش بالینی با مدل‌های حیوانی و فاز یک مطالعات کلینیکی روی انسان سالم و سرطانی وقتی کورکومین خوراکی تجویز شود در پلازما و بافت خیلی کم یافت می‌شود که این اثرات می‌تواند ناشی از جذب کم، متابولیسم سریع و حذف سیستمیک سریع کورکومین در بدن باشد، تحقیقات این گروه

مقاوم به درمان را نشان داده است.

### نتیجه گیری

نتایج آزمایشات ما نشان می‌دهد که نانوکورکومین مزوسپوری از بیشتر جهات برای انتقال دارو مناسب می‌باشد ولی از جهت رهایش دارو باید سعی شود خواص آن بهبود یابد. با وجود کاربرد گسترده‌ای نانومواد در علوم مختلف ولی متأسفانه امروزه اطلاعات بسیار کمی در مورد تاثیر آنها بر سلامت انسان وجود دارد به همین دلیل نیاز است که تحقیقات گسترده‌ای در این زمینه صورت گیرد.

نشان داد که کاربرد نانوتکنولوژی و کپسوله کردن کورکومین در نانوامولسیون‌ها (نانوکورکومین) می‌تواند خواص طبی این ماده را بهبود بخشد. مطالعات جامع تیم تحقیقاتی مرکز نشان داد که نانوکورکومین، اثرات به مراتب قویتر و موثرتر بر سلول‌های سرطانی در محیط کشت و حیوان را دارد (۳۳). همچنین نتایج مصرف داروی حاضر در فاز یک کلینیکال تراپال نشان داد که این دارو حتی در دوزهای بالا قابل تحمل و بدون توکسیک می‌باشد. بنابراین تحقیقات گسترده‌ای در فاز دو کلینیکال تراپال، نقش داروی نانوکورکومین به‌عنوان درمان کمکی همراه با داروهای استاندارد بر پاسخ‌های درمانی و کیفیت زندگی در بیماران مبتلا به سرطان سینه و گوارش

### References

- 1- Ali I, Salim K, A Rather M, A Wani W, Haque A. Advances in nano drugs for cancer chemotherapy. *Current Cancer Drug Targets*. 2011; 11: 135-46.
- 2- Beets-Tan RG, Beets GL. Rectal Cancer: Review with emphasis on MR imaging radiology. 2004; 232: 335-46.
- 3- Poorhosseini SM, Hashemi M, Alipour ON, et al. New Gene Profiling in Determination of Breast Cancer Recurrence and Prognosis in Iranian Women. *Asian Pacific J Cancer Prevent. APJCP*. 2016; 17: 155-60.
- 4 -Kheiri Manjili H, Sharafi A, Attari E, Danafar H. Pharmacokinetics and in vitro and in vivo delivery of sulforaphane by PCL-PEG-PCL copolymeric-based micelles. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*. 2017 Jan 30:1-2.

- 5- Porbarkhordari E, Foladsaz K, Hoseini SH, Danafar H, Kheiri Manjili HR, Ramazani A. The hypoglycemic effects of an ethanol extract of peganum harmala in streptozotocin-induced diabetic rats. *Iran J Pharmaceut Sci*. 2014; 1; 10: 47-54.
- 6- Kheiri Manjili HR. "D, L-sulforaphane loaded Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@ gold core shell nanoparticles: a potential sulforaphane delivery system. *PloS one*. 2016; 11: e0151344.
- 7- Goel A, Kunnumakkara AB, Aggarwal BB. Curcumin as "Curecumin": from kitchen to clinic. *Biochem Pharmacol*. 2008; 75: 787-809.
- 8- López - Lázaro M. Anticancer and carcinogenic properties of curcumin: considerations for its clinical development as a cancer chemopreventive and chemotherapeutic agent. *Molec Nut Food Res*. 2008; 52: S103-S27.

- 9- Nomani A, Nosrati H, Manjili KH, et al. Preparation and characterization of copolymeric polymersomes for protein delivery. *Drug Research*. 2003; 90: 261-80.
- 10- Elmore S. Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicol Pathol*. 2007; 35: 495-516.
- 11- Danafar H, Sharafi A, Askarlou S, Manjili KH, Fan L, Strasser-Weippl K, Li JJ, Kenyon M, Mayer DK, Owens AK, Kelsey JL. Preparation and characterization of PEGylated iron oxide-gold nanoparticles for delivery of sulforaphane and curcumin. *Drug Res*. 2014; 15: e279-89.
- 12- Danafar H, Manjili KH, Najafi M. Study of copolymer composition on drug loading efficiency of enalapril in polymersomes and cytotoxicity of drug loaded nanoparticles. *Drug Res*. 2016; 66: 495-504.
- 13- Manjili KH, Malvandi H, Mousavi MS, Attari E, Danafar H. In vitro and in vivo delivery of artemisinin loaded PCL-PEG-PCL micelles and its pharmacokinetic study. *Artificial Nanomed Biotechnol*. 2017; 5: 1-1.
- 14- Manjili H, Malvandi H, Mousavi MS, Danafar H. Preparation and physicochemical characterization of biodegradable mPEG-PCL core shell micelles for delivery of artemisinin. *Pharm Sci*. 2016; 22: 234-43.
- 15- Shaikh J, Ankola D, Beniwal V, Singh D, Kumar MR. Nanoparticle encapsulation improves oral bioavailability of curcumin by at least 9-fold when compared to curcumin administered with piperine as absorption enhancer. *Europ J Pharmacol Sci*. 2009; 37: 223-30.
- 16- Gelperina S, Kisich K, Iseman MD, Heifets L. The potential advantages of nanoparticle drug delivery systems in chemotherapy of tuberculosis. *Am J Respirator Crit Care Med*. 2005; 172: 1487-90.
- 17- Gref R, Minamitake Y, Peracchia MT, Trubetskoy V, Torchilin V, Langer R. Biodegradable long-circulating polymeric nanospheres. *Science*. 1994; 263: 1600-3.
- 18- De Jong WH, Borm PJ. Drug delivery and nanoparticles: applications and hazards. *Int J Nanomed*. 2008; 3: 133.
- 19- Cheng R, Meng F, Deng C, Klok H-A, Zhong Z. Dual and multi-stimuli responsive polymeric nanoparticles for programmed site-specific drug delivery. *Biomaterials*. 2013; 34: 3647-57.
- 20- Mishra V, Verma R, Raghubir R. Neuroprotective effect of flurbiprofen in focal cerebral ischemia: the possible role of ASIC1a. *Neuro Pharmacol*. 2010; 59: 582-8.
- 21- Anand P, Kunnumakkara AB, Newman RA, Aggarwal BB. Bioavailability of curcumin: problems and promises. *Molec Pharmace*. 2007; 4: 807-18.
- 22- Danafar H, Hamidi M. Simple and sensitive high-performance liquid chromatography (HPLC) method with UV detection for mycophenolic acid assay in human plasma. Application to a bioequivalence study. *Adv Pharm Bullet*. 2015; 5: 563.
- 23- Manjili KH, Ghasemi P, Malvandi H, Mousavi MS, Attari E, Danafar H. Pharmacokinetics and in vivo delivery of

- curcumin by copolymeric mPEG-PCL micelles. *Europ J Pharmaceut Biopharmaceut.* 2017; 116: 17-30.
- 24- Yallapu MM, Jaggi M, Chauhan SC. Curcumin nanoformulations: a future nanomedicine for cancer. *Drug discovery today.* 2012; 17: 71-80.
- 25- Wang X, Jiang Y, Wang YW, Huang MT, Ho CT, Huang Q. Enhancing anti-inflammation activity of curcumin through O/W nanoemulsions. *Food Chemistry.* 2008; 108: 419-24.
- 26- Amatani T, Nakanishi K, Hirao K, Kodaira T. Monolithic periodic mesoporous silica with well-defined macropores. *Chem Material.* 2005; 17: 2114-9.
- 27- Mortera R, Vivero-Escoto J, Slowing II, Garrone E, Onida B, Lin VS-Y. Cell-induced intracellular controlled release of membrane impermeable cysteine from a mesoporous silica nanoparticle-based drug delivery system. *Chem Comm.* 2009: 3219-21.
- 28- Onida B, Mortera RS, Garrone E. Cell-induced intracellular controlled release of membrane impermeable cysteine from a *Mesoporous Silica* Nanoparticles-based Drug Delivery System. 2009; *Chem Commun.* 14: 3219-21.
- 29- Salonen J, Kaukonen AM, Hirvonen J, Lehto VP. Mesoporous silicon in drug delivery applications. *J Pharmaceut Applicat.* 2008; 97: 632-53.
- 30- Balas F, Manzano M, Horcajada P, Vallet-Regí M. Confinement and controlled release of bisphosphonates on ordered mesoporous silica-based materials. *J Am Chem Soc.* 2006; 128: 8116-7.
- 31- Slowing II, Trewyn BG, Giri S, Lin VY. Mesoporous silica nanoparticles for drug delivery and biosensing applications. *Adv Func Material.* 2007; 17: 1225-36.
- 32- Tahmasebi Birgani M, Erfani-Moghadam V, Babaei E, et al. Dendrosomal nano-curcumin; the novel formulation to improve the anticancer properties of curcumin. *Prog Biol Sci.* 5: 143-158.
- 33- Babaei E, Sadeghizadeh M, Hassan ZM, Feizi MAH, Najafi F, Hashemi SM. 2012. Dendrosomal curcumin significantly suppresses cancer cell proliferation in vitro and in vivo. *Int Immuno Pharmacol.* 12: 226-34.

## Investigation of Drug Delivery of Rattle-Structured Gold Nanorod-Mesoporous Silica Nanoparticles Core-Shell as Curcumin Carrier and Their Effect on MCF7 and 4T1 Cell Lines

Danafar H<sup>1</sup>, Kheiri Manjili HR<sup>2</sup>, Attari E<sup>3</sup>, Sharafi A<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Medicinal Chemistry, School of Pharmacy Zanzan University of Medical Sciences Zanzan, Iran.

<sup>2</sup>Dept. of Pharmaceutical Nanotechnology, School of Pharmacy, Zanzan University of Medical Sciences, Zanzan, Iran.

<sup>3</sup>Student Researches Committee, School of Pharmacy, Zanzan University of Medical Sciences, Zanzan, Iran.

<sup>4</sup>Dept. of Biotechnology, Faculty of Pharmacy, Zanzan University of Medical Sciences, Zanzan, Iran.

**Corresponding Author:** Kheiri Manjili HR, Dept. of Pharmaceutical Nanotechnology, School of Pharmacy, Zanzan University of Medical Sciences, Zanzan, Iran

***E-mail:*** h.kheiri@zums.ac.ir

**Received:** 22 Nov 2016    **Accepted:** 12 Mar 2017

***Background and Objective:*** Curcumin is a polyphenolic anti-cancer and anti-inflammatory agent and can be used both orally and by injection. In this study, nanoparticles of silica mesopore- gold nano were synthesized as a new drug delivery system. For this aim, gold nanoparticles as a promising system for effective drug delivery of curcumin was used and nano gold were delivered to breast cancer cells .

***Materials and Methods:*** The synthetic nanoparticles characteristics were determined with different techniques such as transmission electron microscopy (TEM), nitrogen gas desorption, absorption analysis and dynamic light scattering techniques (DLS). The anti-cancer effects of this system were evaluated in cell culture, using MTT cytotoxicity test. The efficiency of this system was tested on human breast cancer (MCF-7) and 4T1 cell lines.

***Results:*** The mean size of nano system was less than 30 nm, similar to the data obtained from Dynamic light scattering technique. The amount of curcumin loading in nano- system was about 80 percent. Isotherm - nitrogen adsorption AuNR@msio2 and CUR @ AuNR @ msio2 show that specific area of nano-Au @ msio2 was about -1834 m<sup>2</sup>g but by creating medication this particular area decrease to 234 m<sup>2</sup>g<sup>-1</sup>. IC50 for curcumin loaded mesoporous silica nanoparticles for MCF-7 at the time of 48 hours and 4T1 were 19.5 and 14.6 micro molar respectively. The survival rate of the cells after treatment with different concentrations did not change considerably in the nano structures which demonstrate the lack of toxicity of nanoparticles.

***Conclusion:*** The nanoparticle caused apoptosis in breast cancer cells more than free drug.

***Keywords:*** Curcumin, Gold, Breast cancer, Drug delivery systems, Cell toxicity test