

ارزیابی قابلیت نانوحاملهای نیوزومی بر حفظ سمیت و رسانش عصاره پوست انار در شرایط کشت سلول (رده MCF-7 سرطان پستان)

نویسندگان: ملیحه عسگری، نرگس نیکونهاد لطف آبادی*

گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه علم و هنر، یزد، ایران

* نویسنده مسئول: نرگس نیکونهاد لطف‌آبادی E-mail: nikounahad_1976@yahoo.com

چکیده

مقدمه و هدف: استفاده از نانوحاملهای حاوی ترکیبات سیتوتوکسیک گیاهی به جای داروهای رایج شیمی‌درمانی می‌تواند بسیاری از چالش‌های پیشروی این روش سرطان‌درمانی را کاهش دهد. در این مطالعه نانوسامانه‌های سورفکتانتی حاوی عصاره پوست انار به منظور ارزیابی سمیت آن بر رده سلولی MCF-7 سرطان پستان طراحی و ویژگی‌های فیزیوشیمیایی آن مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها: وزیکول‌های نیوزومی با استفاده از Span 60، کسترویل و پلی‌اتیلن گلیکولبروش فیلم نازک تهیه‌شده و عصاره پوست انار درون نیوزومها بارگذاری شد. بررسی شاخصه‌های فیزیوشیمیایی آن‌ها با استفاده از دستگاه‌های زتا سائزر، FT-IR، SEM انجام شد و میزان رهائش عصاره در دمای ۳۷°C و ۴۲°C محاسبه گردید. در پایان میزان سمیت نانوسامانه دارای عصاره بر سلول‌های سرطانی پستان با استفاده از تست MTT سنجیده شد.

نتایج: نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهد که نیوزومهای دارای عصاره به ترتیب دارای راندمان انکپسولاسیون، اندازه و شارژ سطحی ۶۱/۲۸ درصد، ۱۴۳/۶ nm و ۴۰/۹ mV- است. بررسی رهائش نیز نشان می‌دهد که نانوحامل نیوزومی در دمای ۳۷°C و ۴۲°C دارای رهائش کنترل شده است. مطالعه-ی FT-IR و SEM نیز عدم برهمکنش عصاره با سامانه و موفقولوژی کروی سامانه را تأیید می‌کند. در پایان مشخص می‌شود که میزان سمیت عصاره پوست انار در شرایط کپسوله نسبت به شرایط کپسوله نشده بر رده سلولی MCF-7 سرطان پستان بیشتر است.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش مشخص می‌شود که نانو حامل نیوزومی می‌تواند حامی مناسب جهت رسانش عصاره پوست انار در شرایط سلول‌های سرطانی باشد.

واژگان کلیدی: گیاهان دارویی، پوست انار، نیوزوم، نانوحامل، MCF-7

دوماهنامه علمی-پژوهشی
دانشگاه شاهد
سال بیست‌وششم-شماره ۱۳۸
دی ۱۳۹۷

دریافت: ۱۳۹۷/۰۷/۲۹
آخرین اصلاح‌ها: ۱۳۹۷/۰۹/۲۳
پذیرش: ۱۳۹۷/۱۰/۰۱

مقدمه

سرطان پستان بیماری است که در آن سلول‌های بدخیم از بافت پستان منشأ گرفته به طور نامنظم و فزاینده‌ای تکثیر می‌یابند و بدون اینکه موجب عکس‌العمل تدافعی و تهاجمی در سیستم ایمنی بدن شوند، از سیستم ایمنی و دفاعی بدن عبور می‌کنند. این بیماری در بیشتر موارد به صورت توده‌ی سفت و بدون درد در قسمت فوقانی و خارجی پستان شروع می‌شود و به‌طور کلی می‌تواند در هر جایی از پستان از جمله نوک آن ایجاد گردد (۱). در ایران سرطان پستان ۲۱/۴ درصد کل موارد گزارش‌شده سرطان را تشکیل می‌دهد. میزان خام بروز سرطان پستان در ایران معادل ۲۲/۴ در هر ۱۰۰ هزار زن برآورد شده و داده‌های موجود حکایت از آن دارد که بیماری در ایران روند افزایشی در پیش گرفته و از سال ۱۳۷۸ به بعد مقام اول را در بین سرطان‌های ثبت‌شده در کشور دارا است. توزیع بروز بیماری در گروه‌های مختلف سنی بین زنان ایرانی و غربی متفاوت است. مقالات موجود نشان می‌دهد که میانگین سن بیماران سرطانی در کشورهای غربی بیش از ۵۵ سال و در ایران حدود ۱۰ سال پایین‌تر است (۲). استفاده از روش‌های رایج برای درمان سرطان از جمله، شیمی‌درمانی اگرچه توانسته است تا حدودی از پیشرفت رو به افزایش این بدخیمی‌کشنده بکاهد ولی عوارض جانبی فراوان ناشی از این روش‌ها، چالشی بزرگ بر سر راه سرطان‌درمانی است. از این‌رو محققان حوزه سرطان به دنبال یافتن ترکیبات طبیعی با ویژگی‌های ضد سرطانی هستند تا از این طریق بتوانند با کاهش عوارض جانبی روش‌های سرطان‌درمانی، کیفیت زندگی مبتلایان به سرطان را افزایش دهند. در این میان گیاهان دارویی با برخورداری از ترکیبات ضد توموری می‌توانند کاندیدای مناسبی جهت مبارزه با سلول‌های سرطانی باشند (۳ و ۴). گیاه انار با نام علمی *Punica granatum* دارای میوه‌ای با پوستی چرمی و تا اندازه‌ای ضخیم است که تعداد زیادی دانه‌های گوشتی موسوم به آریل را در برمی‌گیرد. این میوه دارای سه بخش دانه، که حدود ۳ درصد وزن میوه را تشکیل

می‌دهند و حاوی ۲۰ درصد روغن هستند، آب‌میوه، که حدود ۳۰ درصد وزن میوه را تشکیل می‌دهد و پوست میوه که با بخش‌های گوشتی متصل شده به دانه‌ها، پوست خوانده می‌شود (۵). بر اساس مطالعاتی که در شرایط آزمایشگاهی انجام‌گرفته، مشخص شده است که ترکیب‌های پلی فنولیک انار، دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی، ممانعت از رشد سلول‌های سرطانی، آنتی آترواسکلروتیک و همچنین بر کلیه‌ها مؤثر هستند (۶). گزارش‌ها زیادی مبنی بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی عصاره قسمت‌های مختلف انار ارائه شده است؛ که در این میان عصاره پوست انار، دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل‌توجهی است که با میزان بالای ترکیبات فنولی موجود در این بخش از جمله ترکیب فنولی الازییک اسید (Ellagicacid) همبستگی دارد (۷ و ۸).

نیوزومها و زیکول‌های سورفکتانت‌های غیریونی با ساختارهای میکروسکوپی لایه‌لایه هستند که از آبدهی کلسترول با سورفکتانت‌های غیر یونی در محیط آبی تهیه‌شده و از سیستم‌های مهم دارورسانی می‌باشند (۹). نیوزومها عمدتاً حاوی سورفکتانت‌های غیریونی به منظور تشکیل لایه‌ی زیکول و افزودنی‌هایی شامل کلسترول، پایدارکننده‌ها و باردارکننده‌ها به منظور اثرگذاری بر سیالیت زیکول، نفوذپذیری زیکول و غیره می‌باشند (۱۰). طراحی آسان، زیست‌تخریب‌پذیری، زیست‌سازگار بودن، غیر ایمونوژن بودن، انعطاف‌پذیری بالا، آهسته رهش بودن و غیره، بخشی از مزایای نیوزومها است که آن را به یکی از مهم‌ترین سیستم‌های دارو رسان مبدل کرده است (۱۱ و ۱۲). با این‌وجود، توده‌ای و فیوز شدن نیوزومها در بافت‌های پوست و نفوذپذیری ناچیز این حامل‌های دارویی در پوست، استفاده از آن‌ها را جهت دارورسانی به بافت‌های پوست با مشکلات جدی روبرو نموده است (۱۳). هدف از انجام این مطالعه، ارزیابی قابلیت نانوحامل‌های نیوزومی در حفظ سمیت و رسانش عصاره پوست انار در شرایط کشت سلولی سلول‌های سرطان

۱۹۳/۴۷۳، ۱۹/۳۱۹ و ۵۸/۴۴۸ میلی‌گرم و عصاره پوست انار تهیه گردید که خلاصه آن بدین شرح است: ابتدا Span60، کلسترول و پلی‌اتیلن گلیکول (PEG) در حلال کلروفرم و در دمای ۴۵°C بر روی روتاری (هایدولف، آلمان) حل شده و تحت شرایط خلأ، فیلم نازک خشک تهیه گردید. سپس عمل هیدراته کردن با افزودن عصاره پوست انار طی مدت یک ساعت و در دمای ۵۰°C انجام گردید. سپس نانوذرات تهیه‌شده، با استفاده از سونیکیت پروبی در مدت ۲ دقیقه با فاصله ۱ دقیقه استراحت در دمای ۴۰°C درجه سانتی‌گراد کاهش سایز داده شدند (۱۴ و ۱۵).

۴. تعیین درصد بارگذاری عصاره در نیوزوم

برای این منظور ابتدا نانونیوزومها را بعد از کاهش سایز وارد کیسه دیالیز نموده و به مدت یک ساعت درون بشری که دارای آب مقطر با حجم سه برابر حجم ساخت اولیه و در دمای ۴۰°C قرار داده شد تا عصاره آزاد و انکپسوله نشده حذف گردد. سپس نیوزومهای ساخته‌شده را با نسبت ۱ به ۲۰ با ایزوپروپیل مخلوط کرده تا دیواره لیپیدی اطراف عصاره پوست انار شکسته شود و عصاره پوست انار آزاد گردد. در مرحله بعد میزان جذب عصاره انکپسوله شده با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ماکزیمم عصاره پوست انار که در مراحل قبلی تعیین گردیده بود محاسبه شد. در پایان با استفاده از نمودار استاندارد عصاره پوست انار در ایزوپروپیل و رابطه زیر، درصد لود عصاره در نیوزوم محاسبه گردید (۱۴).

مقدار عصاره پوست انار محصور شده

$$\times 100 = \frac{\text{راندمان بارگذاری عصاره پوست انار}}{\text{مقدار عصاره پوست انار اولیه}}$$

۵. تعیین اندازه نانو ذرات و ضریب پراکندگی

محدوده توزیع اندازه ذرات و همچنین پیک اندازه ذرات با استفاده از دستگاه تفرق دینامیکی نور (DLS) تعیین می‌شود که بدین منظور از دستگاه نانوسایزر Brookhaven Instruments Corp استفاده گردید. اندازه‌گیری نانو نیوزومها در یک زاویه ۹۰ درجه و تابش نور لیزر با طول موج ۶۵۷ nm در دمای ۲۵°C صورت گرفت نمونه مورد استفاده به صورت رقیق شده در غلظت ۰/۱ mg/ml آماده شده و بلافاصله پس از

پستان، رده MCF-7، است.

مواد و روش ها

۱. عصاره گیری از پوست انار

قبل از انجام عصاره‌گیری، گونه گیاهی مورد (Punica granatum) نظر توسط متخصصان گیاهی دانشگاه شیراز شناسایی و تأیید گردید. سپس، پوست انار را بعد از شستشو جدا نموده و در شرایط مناسب دمایی و دور از نور خورشید خشک کرده و سپس با استفاده از دستگاه سوکسله (Suckcele) عمل عصاره‌گیری از پوست انار انجام شد. بدین منظور از مخلوطی از متانول (۸۰٪)، آب مقطر (۱۹٪) و هیدرو کلرید اسید ۱/۵ نرمال (۱٪) با عنوان حلال به نسبت ۱۵:۱ (حلال به نمونه) استفاده گردید. ۳۳ گرم پودر پوست انار به همراه ۵۰۰ میلی‌لیتر حلال در ارلن متعلق به دستگاه سوکسله ریخته شده و بین ۶ تا ۱۰ ساعت عصاره‌گیری انجام شد و سپس عصاره حاصل به بشر منتقل شده و توسط کاغذ واتمن فیلتر شد. پس از این مرحله عصاره‌ی حاصل به منظور تبخیر حلال داخل حمام آب گرم در دمای بین ۳۰-۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و بعد از تبخیر کامل حلال عصاره‌ی به‌دست‌آمده جمع‌آوری شده و تا زمان استفاده در فریزر قرار داده شد.

۲. رسم نمودار استاندارد عصاره پوست انار در ایزوپروپیل و بافر PBS (Phosphate Buffered Saline)

در این مرحله ابتدا، استوک عصاره پوست انار در حلال متانول تهیه گردید و با استفاده از آن، سری رقت‌های مختلف عصاره پوست انار در حلال ایزوپروپیل و سری رقت‌های مختلف عصاره پوست انار در PBS تهیه گردید. سپس به کمک دستگاه اسپکتروفتومتر، میزان جذب هریک از رقت‌ها اندازه‌گیری شد. آزمایش در این مرحله سه مرتبه تکرار گردید و در ادامه با استفاده از طول‌موج‌های جذبی به‌دست‌آمده، نمودار استاندارد عصاره پوست انار در ایزوپروپیل و PBS رسم گردید (۱۴).

۳. تهیه نیوزوم حاوی عصاره پوست انار

نیوزومهای حاوی عصاره پوست انار به روش آب‌پوشانی لایه نازک و با فرمولاسیونی شامل Span60، کلسترول، پلی‌اتیلن گلیکول به ترتیب با اوزان

مشخص صورت پذیرفت. در انتها با بهره‌گیری از معادله کالیبراسیون عصاره پوست انار در بافر PBS نسبت به محاسبه غلظت‌های آزادشده دارو در دماهای 37°C و 42°C و به ترتیب با pH های $7/4$ و $5/4$ در زمان‌های مختلف و رسم نمودار آن اقدام گردید.

۱۰. رده سلولی و محیط کشت

این مطالعه در محیط آزمایشگاه و با استفاده از رده سلول‌های سرطان پستان (MCF-7) انجام شد. رده‌ی سلول-MCF-7 از بانک سلولی انستیتو پاستور (تهران، ایران) تهیه شد. سلول‌های این رده‌ی سلولی در فلاکس‌های یک‌بارمصرف کشت سلول در محیط کشت RPMI-1640، ۱۰٪ درصد FBS، در دمای 37°C با فشار ۵٪ از CO_2 و ۹۵٪ بخار آب کشت داده شد.

۱۱. تعیین سمیت سلولی و زنده‌مانی سلول

سمیت سلولی با روش MTT برای فرمولاسیون مطالعه شده به کارگرفته شد. به منظور اندازه‌گیری سمیت، سلول‌های MCF-7 سرطان پستان با تعداد ۱۰۴ سلول در هر چاهک از پلیت ۹۶ تایی به مدت ۲۴ ساعت کشت داده شدند. سپس، غلظت‌های ۱۰۰ و ۵۰ و ۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از نیوزوم بدون عصاره تهیه و سلول‌ها به مدت ۴۸ ساعت با آن‌ها تیمار گردیدند تا میزان سمیت نیوزوم‌های فاقد عصاره بررسی گردد. همچنین غلظت‌های $0/5$ و $1/5$ و $2/5$ و 5 و $7/5$ mg/ml و ۱۰ از عصاره پوست انار و نانوذره‌ی حاوی این عصاره تهیه‌شده و سلول‌های موجود در پلیت ۹۶ خانه با این غلظت‌ها برای زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت تیمار شدند. پس از گذشت زمان تیمارهای مورد نظر، ۲۰ میکرولیتر محلول MTT با غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به هر چاهک اضافه شد و به مدت ۳ ساعت انکوبه شدند. بعد از آن مایع رویی خارج شد و به منظور حل شدن کریستال‌های فورمازون ۱۵۰ میکرولیتر DMSO اضافه گردید. جذب در طول موج ۵۷۰ نانومتر با استفاده از توسط دستگاه الیزا ریدر ثبت و در نهایت با توجه به رابطه‌ی زیر درصد زنده‌مانی سلول‌ها محاسبه شد.

آماده‌سازی اندازه‌گیری صورت گرفت. همچنین اندازه‌گیری نمونه‌ها طی ۳ مرتبه و هر مرتبه به مدت ۳۰ ثانیه انجام گردید.

۶. تعیین پتانسیل زتا نانونیوزومها

میزان بار سطحی و پتانسیل زتا نانونیوزوم‌های حامل عصاره با استفاده از دستگاه زتاسایزر شرکت Brookhaven Instruments Corp در دمای 25°C اندازه‌گیری گردید. برای تعیین بار سطحی به $1500 \mu\text{L}$ با غلظت $0/1 \text{ mg/ml}$ نیاز است.

۷. تصویربرداری از نانو نیوزومها

از نانو نیوزومها با استفاده از میکروسکوپ الکترونیکی روبشی (Scanning electron microscope) به منظور بررسی شکل و ساختار نانو نیوزوم‌های تولیدی حامل دارو تصویر گرفته شد.

۸. آنالیز نانونیوزوم سنتز شده توسط دستگاه طیف‌سنجی مادون قرمز (FTIR)

گروه‌های عاملی سطح نانونیوزوم تولیدشده توسط آنالیز طیف‌سنجی زیر (مادون) قرمز بررسی گردید. در طیف زیر قرمز عمدتاً دو ناحیه مورد توجه است. ناحیه گروه عاملی از 1500 cm^{-1} تا 4000 ، ناحیه‌ای است که بیشتر کشش‌های پیوندی اتفاق می‌افتد. این ناحیه معمولاً تعداد نسبتاً کمی پیک دارد، اما بسیاری از پیک‌های آن مشخص‌کننده گروه‌های عاملی هستند. برای اطمینان از نبود داروی آزاد و مواد اضافی در نمونه نانو نیوزوم، از نمونه دیالیز شده نانو نیوزومها، استفاده گردید و به منظور کاهش رطوبت، حدود نیم ساعت نمونه در آن با دمای تقریبی 60°C قرار داده شد.

۹. بررسی روند رهایش عصاره

به منظور شبیه‌سازی رهایش دارو از حامل در محیط *in vivo* از PBS و دمای 37°C و 42°C استفاده شد تا بتوان شرایط سینک درون تنی را برقرار ساخت. در ادامه مقدار ۱ mL از محلول نیوزوم‌میحاوی عصاره پوست انار درون کیسه دیالیز قرار گرفت. سپس با قرار دادن کیسه دیالیز درون یک محیط ایزوله (فالكون استریل و بسته) با تنظیمات یاد شده استیر شد. نمونه‌برداری از محیط اطراف کیسه دیالیز در زمان‌های

نیوزوم، راندامان انکپسولاسیون نانونیوزومهای حاصل از این پژوهش حدود ۶۱/۲۸ درصد بوده است. همچنین با استناد به نمودار کالیبراسیون عصاره پوست انار در بافر PBS، نمودار رهایش عصاره از نانوسامانهی نیوزومی در دما 37°C و 42°C رسم گردید (تصویر ۲) که با توجه به نمودار رهایش مشخص می شود که نانو سامانهی دارای عصاره در دمای 37°C و 42°C آهسته رهش بوده و رهایش کنترل شده ای داشته است، به گونه ای که ماکزیمم رهایش عصاره از این سامانه در دمای 37°C و 42°C در طی ۴۸ ساعت به ترتیب $43/4644$ و $52/1639$ درصد بوده است.

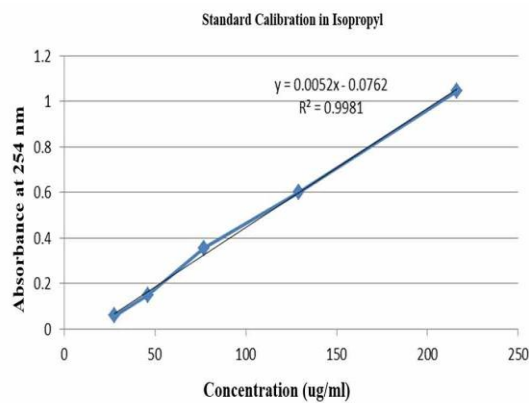
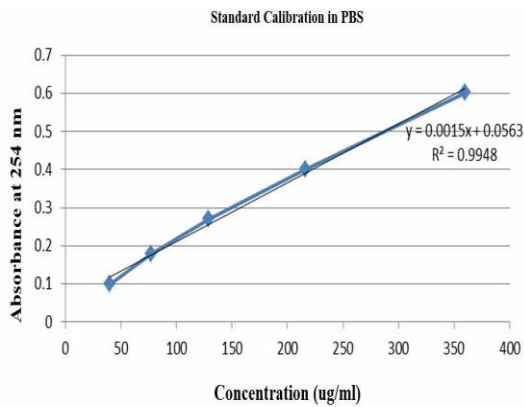
میانگین جذب نوری در محیط کشت - میانگین جذب نوری در گروه آزمون $\times 100$
میانگین جذب نوری در محیط کشت - میانگین جذب نوری در گروه کنترل

۱۲. آنالیز آماری

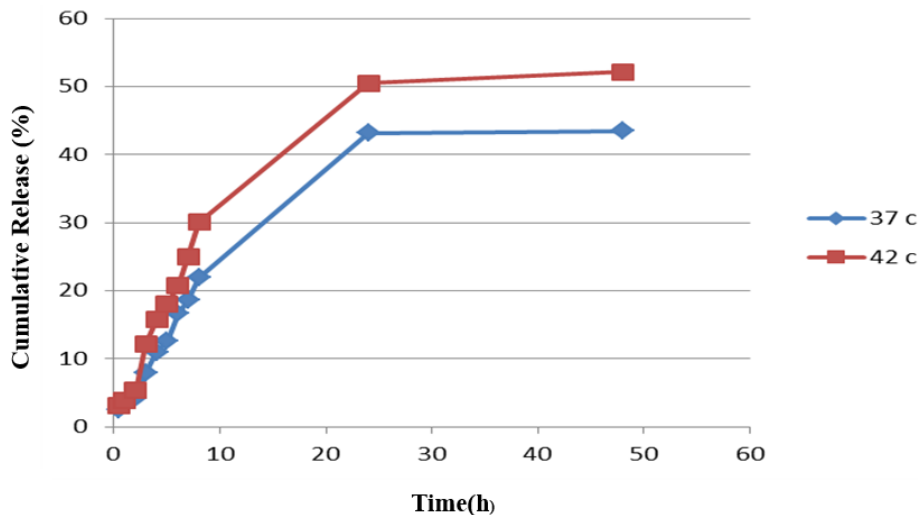
برای بررسی آماری نتایج از نرم افزار SPSS و روش t-test استفاده شد و معناداری نتایج بر حسب $P < 0/05$ value سنجیده شد.

نتایج

۱. راندامان انکپسولاسیون و بررسی پروفایل رهایش عصاره
با بررسی نمودار کالیبراسیون عصاره پوست انار در ایزوپروپیل و نتایج حاصل از ارزیابی عصاره در



تصویر ۱. نمودار کالیبراسیون عصاره پوست انار در ایزوپروپیل (راست) و PBS (چپ)

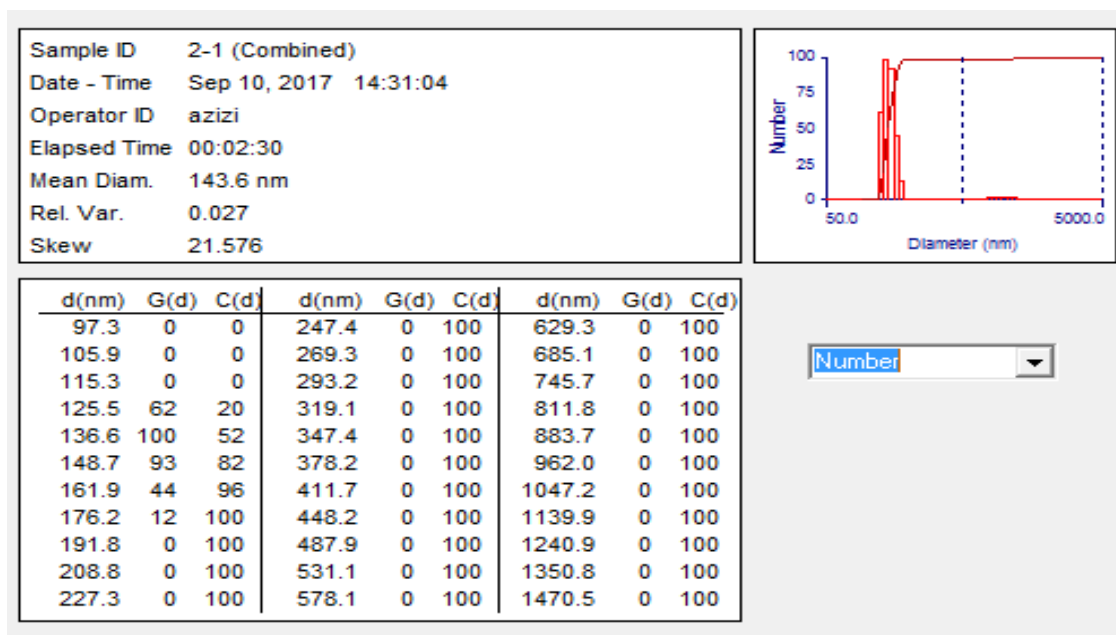


تصویر ۲. نمودار رهایش عصاره از نانوسامانهی نیوزومی در دمای 37°C و 42°C

۲. اندازه و بار سطحی نانوسامانه‌های نیوزومی

اندازه‌ی نانوسامانه‌های نیوزومی دارای عصاره پوست انار در این پژوهش $143.6 \pm 0.027 \text{ nm}$ (تصویر

۳) و میزان شارژ سطحی (پتانسیل زتا) نانوسامانه‌ی حاصل $0.027 \pm 0.09 \text{ mV}$ است.

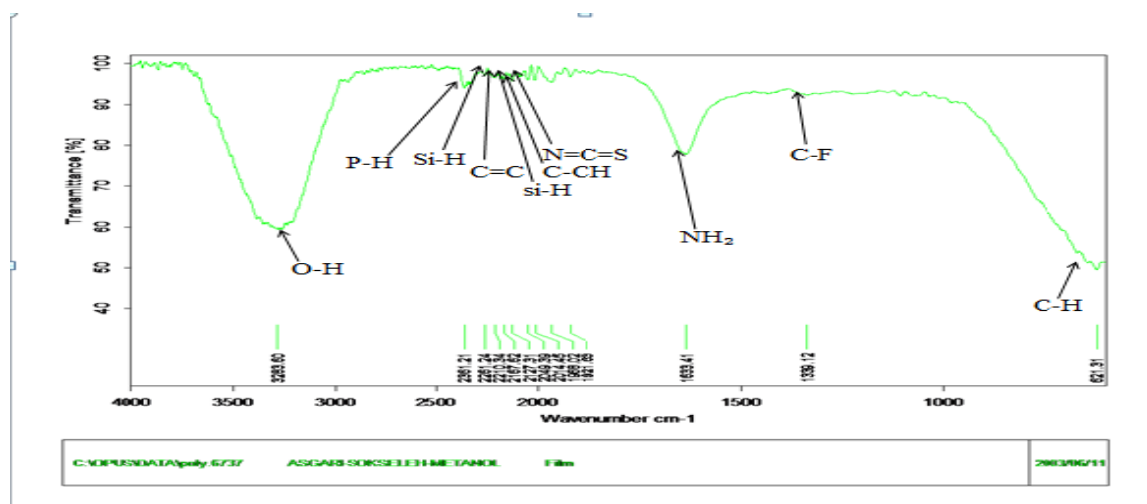


تصویر ۳. اندازه نانوسامانه‌ی نیوزومی دارای عصاره پوست انار

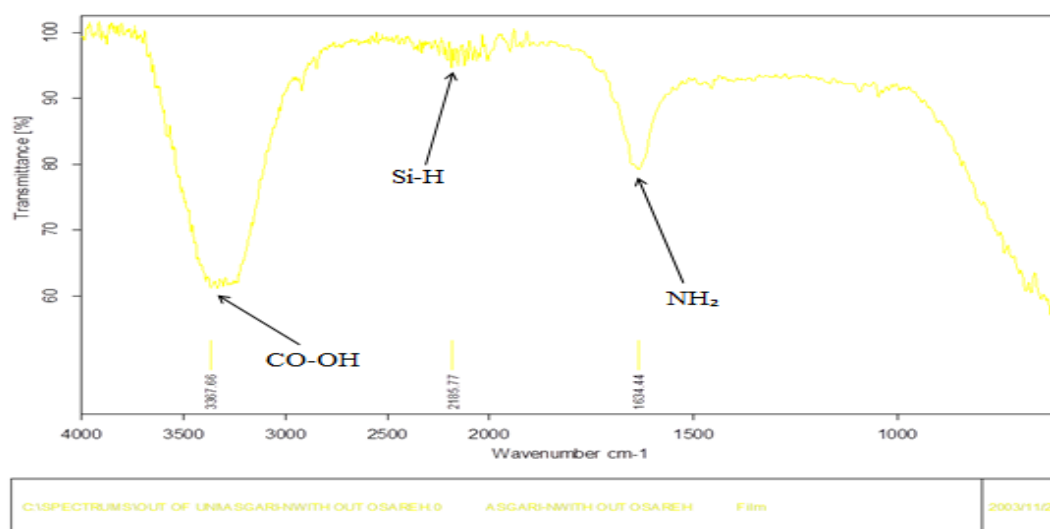
۳. نتایج حاصل از بررسی طیف مادون قرمز

بررسی طیف FTIR عصاره حاصل از روش سوکسله (تصویر ۴) مشخص می‌کند که پیک‌ها شاخص عصاره پوست انار عبارت‌اند از: پیک $3283/10 \text{ cm}^{-1}$ که نشان‌دهنده پیوند O-H در ترکیبات فنلی است، پیک $2917/14 \text{ cm}^{-1}$ با ساختار NH_2 مربوط به آمید و پیک $1633/11 \text{ cm}^{-1}$ در طیف نشان‌دهنده پیوند C-H در عصاره است که این پیوند در ترکیبات آلکین، آلکالوئید و ساپونین‌ها حضور دارند. همچنین پیک‌های $1339/12 \text{ cm}^{-1}$ ، $1049/31 \text{ cm}^{-1}$ و $1027/31 \text{ cm}^{-1}$ به ترتیب مربوط به آلکالوئیدها با ساختار C-F، مربوط به پیوند $\text{N}=\text{C}=\text{S}$ در ساختار ایزوسیانات و کتون‌ها و مربوط به آلکین‌ها با پیوند C=CH است. در طیف FTIR نانوذره‌ی بدون عصاره (تصویر ۵) نیز طول موج $1634/44 \text{ cm}^{-1}$ مرتبط با پیوند NH_2 آمیدها و طول موج $3377/16 \text{ cm}^{-1}$ مربوط به پیوند CO-OH کربوکسیلیک اسید مشخص‌ترین پیک‌ها را شامل می‌شوند. در طیف FTIR نانوذره حاوی عصاره

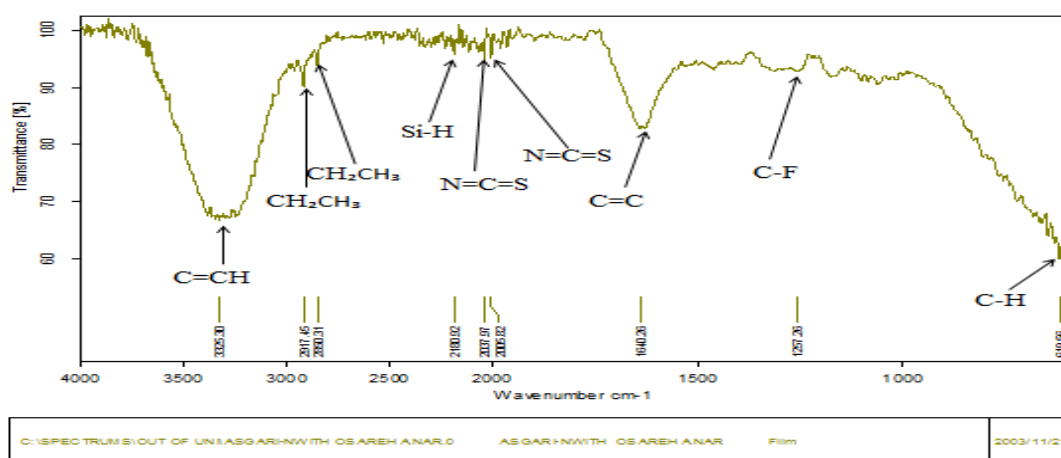
پوست انار (تصویر ۶) قوی‌ترین پیک‌ها مربوط به طول موج $1619/56 \text{ cm}^{-1}$ با پیوند C-H و طول موج $1640/361 \text{ cm}^{-1}$ با پیوند C=C و طول موج $3325/30 \text{ cm}^{-1}$ با پیوند C=CH نشان‌دهنده آلکین‌ها بوده و طول موج $2917/14 \text{ cm}^{-1}$ با پیوند CH مربوط به آلکان‌ها است. همچنین در طول موج $2005/82 \text{ cm}^{-1}$ با پیوند $\text{N}=\text{C}=\text{S}$ مربوط به ایزوسیانات و کتون‌ها و در طول موج $2180/92 \text{ cm}^{-1}$ پیوندهای Si-H مشاهده گردید؛ بنابراین با توجه به توضیحات فوق و مقایسه طیف FTIR عصاره و سامانه‌ی فاقد عصاره و سامانه حاوی عصاره، مشخص می‌شود که عصاره پوست انار در نانوذره نیوزومی جای گرفته است و از آنجا که پیک جدیدی در سامانه‌ی نیوزومی حاوی عصاره ایجاد نشده است، می‌توان نتیجه گرفت که میان عصاره و سامانه واکنشی رخ نداده است و عصاره موقعیت مناسبی در نانوسامانه پیدا نموده است.



تصویر ۴. طیف FTIR عصاره پوست انار

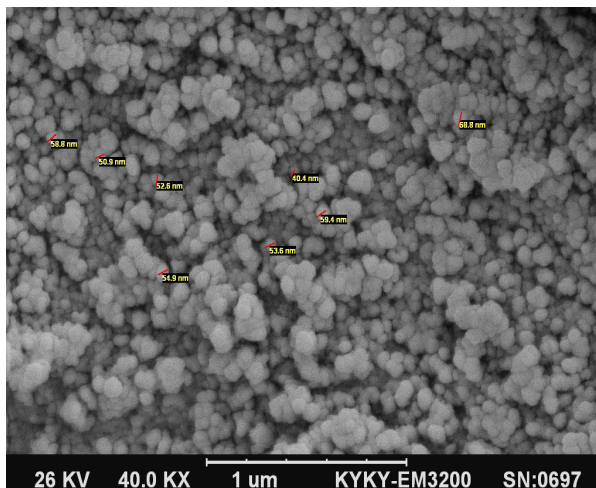


تصویر ۵. طیف FTIR نانوسامانه‌ی نیوزومی بدون عصاره پوست انار



تصویر ۶. طیف FTIR نانوسامانه‌ی نیوزومی حاوی عصاره پوست انار

۴. نتایج تصویربرداری با میکروسکوپ الکترونی روبشی با توجه به تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی (تصویر ۷) مشخص می‌شود که نانو ذرات سنتز شده که به صورت توده‌ای و کروی شکل بوده و دارای اندازه‌ای حدود ۷۳/۶ نانومتر می‌باشند که مؤید مقدار اندازه‌ی حاصل از نتایج DLS است.

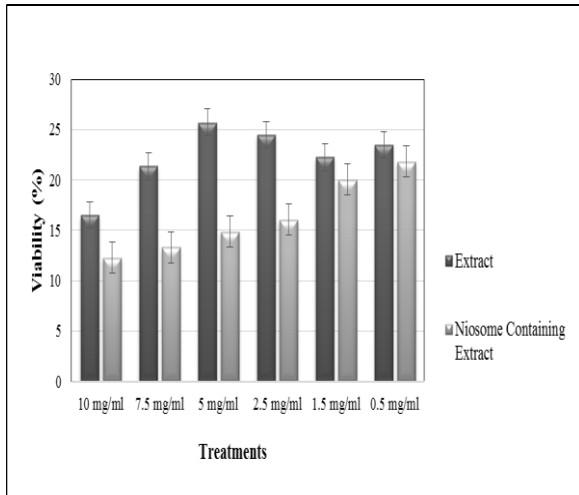


تصویر ۷. تصویر SEM از نانوسامانه‌ی نیوزومی حاوی عصاره پوست انار که نشان‌دهنده مورفولوژی نانو ذرات است.

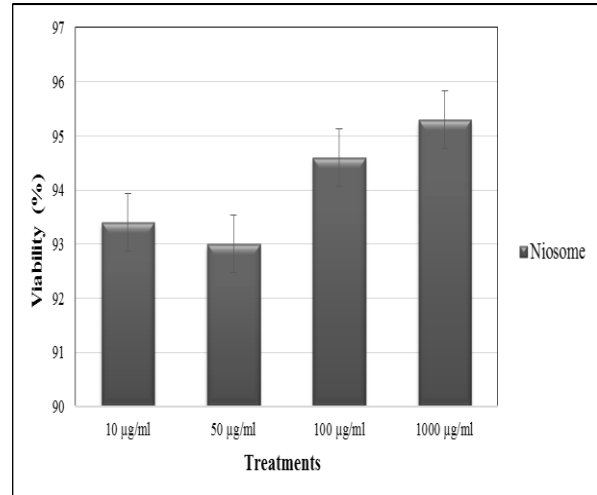
۵. بررسی سمیت نانونیوزومهای دارای عصاره پوست انار

نتایج حاصل از سمیت سلولی نشان می‌دهد که سمیت عصاره آزاد و نیوزومه وابسته به غلظت است، به گونه‌ای که کمترین بقای سلول‌های سرطانی تیمار شده با عصاره پوست انار و نانوذره نیوزومی حاوی این عصاره مربوط به غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر است و با کاهش غلظت عصاره و نانونیوزومهای حاوی عصاره از میزان سمیت کاسته و بر میزان بقای سلول‌ها افزوده می‌شود. با توجه نمودار بقای سلول‌های رده‌ی MCF-7 تحت تأثیر نانونیوزومهای فاقد عصاره (تصویر ۸) مشخص می‌شود که میزان بقای سلول‌ها در غلظت‌های مختلف نیوزومهای فاقد عصاره بیش از ۹۰ درصد است که خود نشان‌دهنده‌ی عدم سمیت نانونیوزومهای فاقد عصاره بر سلول‌ها است. نمودار سمیت سلولی در ۲۴ ساعت (تصویر ۹) نشان می‌دهد که کمترین بقای سلول‌ها تحت تأثیر عصاره آزاد و

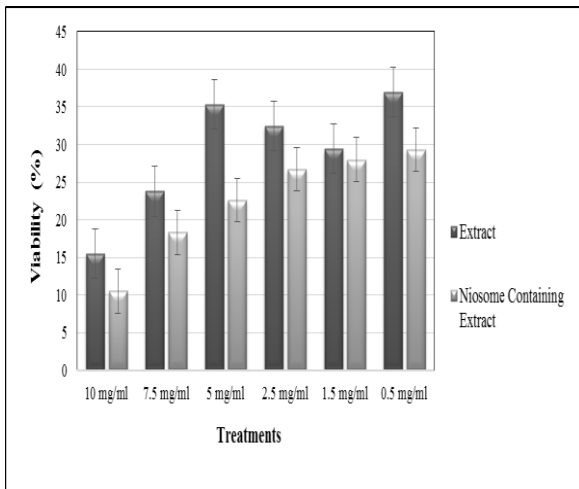
عصاره نیوزومه، مربوط به غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر است به گونه‌ای که میزان بقای سلول‌ها در این غلظت برای عصاره آزاد و نیوزومه به ترتیب ۱۹ و ۱۰/۶۵ درصد است که دارای تفاوت معناداری ($P < 0.05$) است. همچنین با کاهش غلظت عصاره و نانوذره حاوی عصاره، بر میزان بقای سلول‌ها افزوده می‌شود به طوری که بیشترین بقای سلول‌های تیمار شده با نانوذره نیوزومی حاوی عصاره مربوط به غلظت ۰/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و به مقدار ۲۶/۱۵ درصد است و بیشترین بقای سلول‌های تیمار شده با عصاره در غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر ۲۴/۴ درصد بوده که تفاوت معناداری با بقای سلول‌های تیمار شده با عصاره در غلظت ۰/۵ ندارد ($P < 0.05$). بررسی نمودار سمیت سلولی در ۴۸ ساعت (تصویر ۱۰) نیز نشان می‌دهد که نانوذره نیوزومی و عصاره آزاد در غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به ترتیب با درصد بقای ۱۲/۱۶ و ۱۶/۳۹، بیشترین مهار رشد سلول‌ها را داشته‌اند که تفاوت معناداری با غلظت ۰/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر دارد ($P < 0.05$). همچنین بیشترین درصد زنده‌مانی سلول‌های تیمار شده با عصاره آزاد و نیوزومه طی ۴۸ ساعت، به ترتیب ۲۵/۶۹ و ۲۱/۸ درصد بوده که مربوط به غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر است که تفاوت معناداری با غلظت ۰/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر ندارد ($P < 0.05$). بررسی نمودار سمیت سلولی بعد از گذشت ۷۲ ساعت (تصویر ۱۱) نشان می‌دهد که کمترین بقای سلول‌ها با عصاره آزاد و نانوذره نیوزومی حاوی عصاره مربوط به غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر است که درصد بقای سلول‌ها برای عصاره آزاد و نیوزومه در این غلظت به ترتیب ۱۶/۲۱ و ۱۱/۳۲ است. همچنین حداکثر بقای سلول‌ها تیمار شده با عصاره آزاد و عصاره انکپسوله شده طی ۷۲ ساعت مربوط به غلظت ۰/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر است.



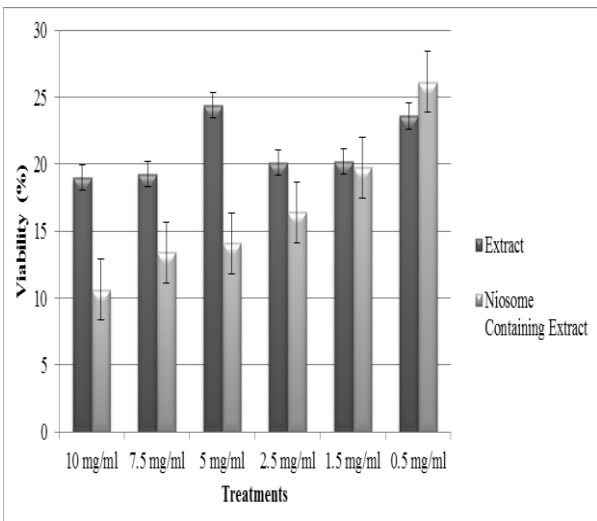
تصویر ۱۰. بررسی اثر سمیت سلولی نانوذره نیوزومی دارای عصاره بعد از ۴۸ ساعت تیمار. در اکثر غلظت‌ها، نتایج نشان‌دهنده کاهش معنادار بقای سلول‌های سرطانی با افزایش دوز طی ۴۸ ساعت تیمار است. علاوه بر این نیوزومهای دارای عصاره پوست انار، به طور معناداری نسبت به عصاره تنها سبب کاهش بقا در سلول‌های سرطانی شدند ($P < 0.05$).



تصویر ۸. بررسی اثر سمیت سلولی نانوذره نیوزومی بدون عصاره. نتایج حاصله، نشان‌دهنده القا سمیت توسط نانونیوزوم فاقد عصاره نیست.



تصویر ۱۱. بررسی اثر سمیت سلولی نانوذره نیوزومی دارای عصاره بعد از ۷۲ ساعت تیمار. نتایج نشان دادند که در تعدادی از گروه‌های تیمار، نیوزومهای دارای عصاره پوست انار، به طور معناداری نسبت به عصاره تنها سبب کاهش بقا در سلول‌های سرطانی شدند ($P < 0.05$).



تصویر ۹. بررسی اثر سمیت سلولی نانوذره نیوزومی دارای عصاره بعد از ۲۴ ساعت تیمار. نتایج نشان‌دهنده کاهش بقای سلول‌های سرطانی با افزایش دوز است. علاوه بر این نیوزومهای دارای عصاره پوست انار، به طور معناداری نسبت به عصاره تنها سبب کاهش بقا در سلول‌های سرطانی شدند ($P < 0.05$).

بحث و نتیجه‌گیری

پژوهش حاضر منتهی به تهیه نانوسامانه‌های نیوزومی حاوی عصاره پوست انار شد که به ترتیب دارای راندمان انکپسولاسیون، اندازه و پتانسیل زتای $62/28$ درصد، $143/6 \pm 0/027 \text{ nm}$ و $10/9 \pm 0/8 \text{ mV}$ بوده است. همچنین بررسی رهایش عصاره از این نانوسامانه‌ی نیوزومی ضمن تأیید آهسته رهش بودن سامانه، نشان می‌دهد که حداکثر رهایش عصاره در شرایط دمایی و pH سلول‌های نرمال و سرطانی به ترتیب $43/46$ و $52/16$ درصد است. تأیید استقرار مناسب عصاره درون نانوسامانه و عدم برهمکنش میان عصاره و سامانه با مقایسه طیف‌های FTIR و نیز مشاهده مورفولوژی کروی و پراکنش همگن نانوذرات دارای عصاره توسط SEM، از دیگر ویژگی‌های مناسب این نانوحامل نیوزومی است. بررسی اثر نیوزوم‌های حاوی عصاره پوست انار بر سلول‌های رده‌ی MCF-7 سرطان پستان نشان می‌دهد که میزان سمیت عصاره کپسوله شده نسبت به عصاره فاقد کپسول (عصاره آزاد) به مراتب بیشتر بوده است.

Detoni و همکاران در سال ۲۰۰۹، نانولیپوزوم‌های چندلایه حاوی اسانس *Zanthoxylum tingoassuiba* با استفاده از روش فیلم نازک تهیه نمودند که اندازه آن‌ها 937 nm و درصد درون‌پوشانی $43/7$ درصد گزارش شد (۱۶). اندازه ذرات کوچک‌تر، نیوزمه بودن ذرات و درصد درون‌پوشانی بالاتر از جمله مزایای پژوهش حاضر نسبت به پژوهش Detoni است.

مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۰ توسط Bei, Di و همکاران جهت تولید نانو کپسول‌های نیوزومی حاوی داروهای *dacarbazine, carmustin, cisplatin and tamoxifen* به منظور درمان ملانومای بدخیم صورت گرفت در این بررسی فناوری‌های نانو امیدوی برای درمان مؤثر این بیماری تهاجمی و تا حد زیادی مقاوم به درمان را فراهم کرد (۱۷).

صفاری و همکاران در سال ۲۰۱۲، به بررسی اثر عصاره دانه و پوست انار بر هلیکوباکتریهای جداسده از نمونه‌های بیوپسی بیماران، پرداختند و گزارش

نمودند که عصاره دانه و پوست انار می‌تواند بعنوان کاهنده‌ی مقاومت آنتی‌بیوتیکی مترونیدازول و کلاریتروماسین، در ریشه‌کنی هلیکوباکتر پیلوری مورد استفاده قرار گیرند (۱۸). نتیجه این پژوهش همانند پژوهش حاضر تأییدی بر فعالیت سیتوتوکسیک عصاره پوست انار است.

در سال ۲۰۱۳، Anbarasa و همکاران نانو کپسول نیوزومی حامل داروی *Capecitabine* علیه سرطان کولورکتال را ارائه کردند در این تحقیق افزایش پایداری و انتشار کند داروی کپسوله شده (مشابه پژوهش حاضر)، داخل نانو ذرات تأیید شد (۱۹).

Celia و همکاران در سال ۲۰۱۳ نانو لیپوزوم‌های حاوی اسانس ترنج را تهیه نمودند که این نانو ذرات ضمن افزایش میزان حلالیت اسانس و بهبود شاخصه‌های ضد سرطانی آن، دارای پتانسیل زتای $6-$ و اندازه ذرات 186 nm بودند (۲۰) که این تحقیق همانند پژوهش حاضر ضمن تأیید فعالیت ضد سرطانی ترکیبات گیاهی، نشان می‌دهد که نانوکپسول‌های محتوی ترکیبات گیاهی فعالیت ضد سرطانی این ترکیبات را افزایش می‌دهد.

Tao و همکاران نیز در سال ۲۰۱۴، نانوذرات کیتوزان حاوی اسانس آویشن تهیه نمودند که در این پژوهش میزان درون‌گیر شدن اسانس 80 درصد و اندازه نانوذرات بین 3200 تا 5800 نانومتر گزارش شده است (۲۱) که نسبت به پژوهش حاضر از انکپسولاسیون بالاتر و اندازه ذرات بزرگ‌تری برخوردار است.

حق جو و همکاران در سال ۲۰۱۵ نانو لیپوزوم‌های حاوی اسانس گزنه در غلظت‌های مختلفی از فسفاتیدیل کولین و کلسترول تهیه نمودند که حداکثر میزان درون‌پوشانی اسانس $68/83$ ، محدوده اندازه ذرات بین 81 تا 94 نانومتر و شاخص پراکندگی ذرات مانند پژوهش حاضر، $0/3$ گزارش شده است (۲۲).

صحرا بشیری و همکاران در سال ۲۰۱۵، نانو لیپوزوم‌های حاوی بتاکاروتن تهیه نمودند و به بررسی

اسانس در تمامی فرمول‌ها بالای ۷۰ درصد گزارش شده است (۲۶).

نادری نژاد و همکاران در سال ۲۰۱۷، نیوزومهای حاوی کورکومین به منظور اثرگذاری بر سرطان استخوان تهیه کرده و گزارش نمودند که کورکومین نیوزومه نسبت به کورکومین آزاد، به نسبت بیشتری مانع رشد سلول‌های سرطان استخوان می‌شود (۲۷) که همانند پژوهش حاضر تأیید می‌کند که انکپسوله کردن ترکیبات گیاهی فعالیت ضد توموری آن‌ها را افزایش می‌دهد.

مجدی‌زاده و همکاران در سال ۲۰۱۸، نانولیپوزومهای آهسته رهش حاوی اسانس نعناع فلفلی را با درصد بارگذاری ۶۱/۳۸ درصد، اندازه ۲۴۵ nm، شاخص پراکندگی ۰/۳۲ و پتانسیل زتای $mV -34/54$ تهیه نمودند (۱۴). اندازه ذرات کوچک‌تر و نیوزومه بودن حامل از جمله مزایای پژوهش حاضر نسبت به پژوهش مجدی‌زاده و همکاران است.

پژوهشگران حوزه سرطان همواره به دنبال استفاده از ترکیبات گیاهی به جای داروهای صنعتی معمول در شیمی‌درمانی هستند تا مقداری از مشکلات ناشی از شیمی‌درمانی را کاهش دهند، اما استفاده از ترکیبات استخراج‌شده از گیاهان با چالش‌های بنیادی روبه‌رو است، بنابراین دستیابی به استراتژی‌های نوین به منظور بهبود سیستم دارورسانی به سلول‌های سرطانی که بتواند جایگزین مناسب برای سیستم‌های دارورسان معمول باشد، می‌تواند بسیاری از چالش‌های پیش‌روی علم پزشکی را برطرف نماید. در پژوهش حاضر نانوحاملهای نیوزومی حاوی عصاره پوست انار طراحی و ساخته شد که ضمن تأیید ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی مناسب آن، دارای انکپسولاسیون بالا، رهایش کنترل‌شده‌ی دارو در شرایط سلول سرطانی و نرمال و افزایش سمیت اسانس در حالت انکپسوله شده در مقایسه با حالت آزاد است؛ بنابراین با توجه به شواهد فوق می‌توان دریافت که نانوحاملهای نیوزومی می‌توانند با رسانش مؤثر عصاره پوست انار به سلول‌های سرطانی پستان (MCF-7)، در القای اثرات

میزان پایداری این ذرات با گذشت زمان پرداختند. آن‌ها گزارش کرده‌اند که اندازه نانو لیپوزوم‌های تهیه‌شده در حدود ۶۴ nm بوده و میزان درون‌پوشانی در بهترین فرمول حدود ۸۹/۷۷ درصد بوده است (۲۳). ابراهیمی خوسفی و همکاران در سال ۲۰۱۵، لیپوزوم‌های حاوی اسانس آویشن شیرازی تهیه نمودند که درصد درون‌پوشانی را در نقطه بهینه ۵۴/۴ درصد گزارش نمودند. همچنین پژوهش یاد شده نشان می‌دهد که مهم‌ترین پارامتر مؤثر بر ریز پوشانی، درصد محتوای فسفاتیدیل کولین بکار رفته در سنتز لیپوزوم است و با کپسوله‌کردن اسانس آویشن می‌توان خاصیت آنتی‌باکتریال اسانس را افزایش داد (۲۴). نتیجه این پژوهش همانند نتایج پژوهش حاضر تأییدی بر فعالیت‌های سیتوتوکسیک ترکیبات گیاهی است.

Haiying Cui و همکاران در سال ۲۰۱۵ نانو لیپوزوم‌های حاوی اسانس میخک تهیه نمودند که اندازه نانو ذرات را بین ۷۸/۳ تا ۱۵۶/۱ نانومتر، شاخص پراکندگی ذرات را ۰/۱۹۶، پتانسیل زتا ذرات را ۵/۰-۲۴ و میزان درون‌پوشانی را ۲۰/۴۱ درصد گزارش نمودند (۲۵) که نانو ذرات آن نسبت به پژوهش حاضر دارای درصد انکپسولاسیون پایین‌تر و پتانسیل زتای مثبت‌تری بوده‌اند.

حقیرالسادات و همکاران در سال ۲۰۱۶ نانو ذرات لیپیدی حاوی اسانس زنیان تهیه نمودند که میزان انکپسولاسیون اسانس ۳۵/۶ درصد و اندازه نانوذرات حاوی اسانس ۱۸۶/۱ nm بوده است. همچنین پتانسیل زتای نانو ذرات در این پژوهش بین ۱- تا ۶/۷- گزارش شده است (۱۵) که انکپسولاسیون بالاتر، اندازه ذرات کوچک‌تر و نیوزومی بودن ذرات در پژوهش حاضر از جمله مزایای آن نسبت به پژوهش حقیرالسادات و همکاران است.

قره نغده و همکاران در سال ۲۰۱۷، نانو لیپوزوم‌های حاوی اسانس مریم‌گلی با فرمول‌های مختلف (۹۰-۰، ۸۰-۱۰ و ۲۰-۷۰ میلی‌گرم) تهیه نمودند که اندازه ذرات و شاخص پراکندگی ذرات به ترتیب در محدوده ۸۲-۸۸ نانومتر و ۰/۳۹-۰/۴۲ و میزان درون‌پوشانی

انار به سلول‌های توموری از جمله سرطان پستان پیشنهاد نمود.

سمی و کشنده آن بسیار کارآمد عمل نماید. به علاوه می‌توان این نانوحاملها را به عنوان حاملی مناسب جهت رسانش عصاره‌های گیاهی مانند عصاره پوست

منابع

1. Onsory KH, Ranapour S. Breast Cancer in Women and the Role of Environmental Factors in Creating. *New Cellular and Molecular Biotechnology Journal* 2011; 1(4): 59-70
2. Parvin Yavari, Mosavizadeh M, Sadrolhefaz IB, Khodabakhshi R, Madani H, Mehrabi Y. Reproductive Characteristics and the Risk of Breast Cancer: A Case-Control Study. *Iranian Journal of Epidemiology* 2006; 1 (3 and 4):11-19
3. Anand P, Sundaram C, Jhurani S, Kunnumakkara AB, Aggarwal BB. *Cancer Letters* 2008, 267(1):133-164
4. Rahimzadeh M, Sadeghizadeh M, Najafi F, Arab SS, Mobasheri H. Study of Loading, Cytotoxicity, Uptake, and Release of Curcumin from a Novel Gemini Surfactant Nanocarrier. *Pathobiology Research* 2016;19(1):13-27.
5. Mirjalili S. A Review on Biochemical Constituents and Medicinal Properties of Pomegranate (*Punica granatum L.*). *Journal of Medicinal Plants* 2015; 4 (56):1-22.
6. Hasanpour Fard M, Hassanzadeh Taheri M.M, Hosseini M, Ahani A, Ravanbakhsh N, Rabiei N, Ghoreishi S.A. Evaluation of anti-obesity and hypolipidemic effects of aqueous and ethanolic extracts of Pomegranate Peel in male Wistar Rats. *Journal of Birjand University of Medical Sciences* 2015; 22 (1): 39-47
7. Tarkhasi A, Zakipour Rahimabadi E, Alizadeh doughikollae E, Elahi M.Y. Effect of edible coating containing pomegranate (*Punica granatum*) peel extract on the quality and shelf life of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) fillet during refrigerated storage. *Journal of Fisheries Science and Technology* 2016; 5(2): 17-26.
8. Selahvarzi Y, Tehranfar A, Jahanbakhas V. Association of antioxidant and antifungal activity of different parts of pomegranate (*Punica granatum L.*) with its phenolic content. *Iranian Journal of Medicinal Plants and Aromatic Plants* 2011; 27(1): 47-56
9. Asghari J, Mahmoudi-Alami M, Mzaheri-Tehrani M. Study of steroidal saponins in rhizome of *Ruscus echolatosus L.* in northern Iran (Soydokou city). *Quarterly Journal of Ecophythemistry of Medicinal Plants* 2012; 3(2): 28-38.
10. Chandu V, Arunachalam A, Jeganath S, Yamini K, Tharangini K, Chaitanya G. Niosomes: A Novel Drug Delivery System. *International Journal of Novel Trends in Pharmaceutical Sciences* 2012; 2(1): 25-31.
11. Kumar A, Pal J, Jaiswal A, Singh V. Review on niosomes as novel drug delivery system. *International Research Journal of Pharmacy* 2011; 2(5): 61-65.
12. R. Z. Mujoriya RZ, Dhamandeb K, Bodla RB. Niosomal Drug Delivery System-A Review. *International Journal of Applied Pharmaceutics* 2011; 3(1): 7-10.
13. Jain S, Jain V, Mahajan SC. Lipid Based Vesicular Drug Delivery Systems. *Advances in Pharmaceutics* 2014; 2014(1): 1-12.
14. Majdizadeh M, Rezaei Zarchi S, Movahedpour AA, Shahi Malmir H, Sasani E, Haghirsadat BF. A new strategy in improving therapeutic indexes of medicinal herbs: preparation and characterization of nanoliposomes containing *Mentha piperita* essential oil. *Journal of Shahid Sdoughi University of Medical Science* 2018;25(10):853-64.
15. Haghirsadat F, Azhdari M, Kalantar SM, Nadernezhad S, Teymorizadeh K, Yazdani M, et al. Strategy of Improvements in the rapeutic index of medicinal herbs of Iranian in digenous: Synthesis and characterization of phospholipid lipid-based vesicles in incorporated *Trachyspermum copticum*. *Journal of Shahid Sdoughi University of Medical Science* 2016;24(6):468-78.
16. Detoni CB, Hohlemweger SVA, Sampaio C, Barros TF. Essential oil from *Zanthoxylum tingoassuiba* loaded into multilamellar liposomes useful as antimicrobial agents. *Journal of Microencapsulation* 2009;26(8):684-91.
17. Bei D, Meng J, Youan B-BC. Engineering nanomedicines for improved melanoma therapy: progress and promises. *Nanomedicine* 2010;5(9):1385-99.
18. Saffari H, Saffari M, Arj A, Haghir-Ebrahim-Abadi A. Comparing the antimicrobial properties of pomegranate seed and peel extract with common antibiotics used on *helicobacter pylori* isolated from biopsies of patients referring to Kashan Shahid Beheshti hospital. *Feyz* 2012; 16(5): 426-32
19. Anbarasan B, Rekha S, Elango K, Shriya B, Ramaprabhu S. Optimization of the formulation and in-vitro evaluation of Capecitabine Niosomes for the treatment of Colon Cancer. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* 2013;4(4):1504.
20. Celia C, Trapasso E, Locatelli M, Navarra M, Ventura CA, Wolfram J, Carafa M, Morittu VM, Britti D, Di Marzio L PD. Anticancer activity of liposomal bergamot essential oil (BEO) on human neuroblastoma cells. *Colloids and Surfaces: B Biointerfaces* 2013;112:548-53.
21. Tao F, Hill L, Peng Y, Gomes C. Synthesis and characterization of β -cyclodextrin inclusion complexes of thymol and thyme oil for antimicrobial delivery applications. *LWT-Food Science and Technology* 2015;59(1):247-55.
22. Haghjoo S, Ghanbarzadeh B, Hamishekar H, Asnaashari S, Dehghannia J. Evaluation of colloidal and antioxidant properties of nano liposomes containing nettle extract. *Innovations in Food Technology* 2015;2(7):11-23.
23. Sahra Bashiri, Ghanbarzadeh B, Hamishekar H, Dehghannia J. Beta-Carotene loaded nanoliposome: effects of gama-oryzanol on particle size stability and encapsulation. *Journal of Research and Innovation in Food Science and Technology* 2015;4(4):365-82.
24. Ebrahimi Khoufai M, Khosravi darani K, Hoseini H, Arabi S, Kamali Fonoud R, Kouhi Kamali P. Production of nanoliposomes containing essential oil of *Boiss Zataria multiflora* by response surface method. *Nano Scale* 2014;1(2):119-28.
25. Cui H, Zhao C, Lin L. The specific antibacterial activity of liposome-encapsulated Clove oil and its application in tofu. *Food Control* 2015;56(1):128-34.
26. Gharenaghadeh S, Samadlouie HR, Sowti M, Hamisekar H, Mokaram RR. Evaluation of the antimicrobial and antioxidant properties of *Salvia essential oil nano liposome (Salvia multicaulis)*. *Journal of Food Science and Technology* 2017;14(62):271-82.
27. Naderinezhad S, Haghirsadat BF, Amouabedini G, Naderinezhad A, Esmaili Z, Akbaezadeh A. Synthesis of biodegradable and self-assembled anionic nano-carrier: Novel approach for improvement of Curcumin- delivery to bone tumors cells & Mathematical modeling of drug-release kinetic. *New Cellular and Molecular Biotechnology Journal* 2017;7(27):77-84.

Daneshvar
Medicine

*Scientific-Research
Journal of Shahed
University
26th Year, No.138
December-January
2018-2019*

Received: 21/10/2018

Last revised: 14/12/2018

Accepted: 22/12/2018

Evaluation of niosomal nano-carriers capabilities on toxicity preservation and delivery of pomegranate peel extract in cell culture conditions (MCF-7 cell line of breast cancer)

Maliha Askari, Narges Nikoonahad Lotfabadi*

Biology Department, Science Faculty, Science and Arts University, Yazd, Iran.

* Corresponding author E-mail: nikounahad_1976@yahoo.com

Abstract

Background and Objective: Use of nano-carriers that contain plant cytotoxic compounds instead of common chemotherapy drugs can reduce many of the challenges in front of this method of cancer therapy. In this study, surfactant nano-systems containing pomegranate peel extract were designed to evaluate its cytotoxic effects on MCF-7 cell line (breast cancer) and investigated its physicochemical properties.

Materials and Methods: Niosomal vesicles were prepared using span60, cholesterol and polyethylene glycol by thin-film method and the pomegranate peel extract were loaded into the niosomes. Physicochemical characteristics were evaluated using Zeta Sizer, FTIR, SEM, and extract release amount was calculated at 37°C and 42°C. The toxicity of the nano-carrier containing extract was measured on the MCF-7 cell line of breast cancer using MTT assay.

Results: The results of this study indicate that the niosomes-containing extract has the encapsulation efficiency, size, and surface charge as 61.28%, 14.36 nm, and 40.9 mV, respectively. The study of its releasing also shows that the niosomal nano-carrier has controlled release at 37°C and 42°C. The study of FTIR confirms that there is no interaction between peel extract and nano-carrier. Also, SEM shows the spherical morphology of the nano-carriers. MTT results demonstrate that the toxic effects of niosomes-contained pomegranate peel extract on MCF-7 cell line of breast cancer is higher than peel extract alone.

Conclusion: According to the results of this investigation, it is indicated that the carrier niosomal nano vesicles can be a suitable carrier for delivery of pomegranate peel extract in conditions of cancerous cells.

Keywords: Medicinal plants, Pomegranate peel, Niosome, Nano-carrier, MCF-7 cell line