

Application of Liposome Technology in the Treatment of Leishmaniasis: Past, Present and Future

Amir Mellati¹
 Peyman Asadi²
 Nahid Soltanloo²
 Mahdi Fakhar^{3,4}
 Seyedeh Hoda Alavizadeh^{5,6}
 Javad Akhtari^{4,7}

¹ Assistant Professor, Department of Tissue Engineering and Applied Cell Sciences, Faculty of Advanced Technologies in Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

² MSc student in , Student Research Committee, Faculty of Advanced Technologies in Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

³ Professor, Department of Medical Parasitology, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

⁴ Toxoplasmosis Research Center, Communicable Diseases Institute, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

⁵ Assistant Professor, Department of Pharmaceutical Nanotechnology, Faculty of Pharmacy, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

⁶ Nanotechnology Research Center, Pharmaceutical Technology Institute, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

⁷ Associate Professor, Department of Medical Nanotechnology, Faculty of Advanced Technologies in Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received June 1, 2021; Accepted November 11, 2023)

Abstract

Leishmaniasis is one of the most common parasitic diseases in tropical and subtropical regions worldwide and poses a threat to public health. According to the World Health Organization (WHO), the number of leishmaniasis cases worldwide is estimated at 12 million, and the number of people at risk is 350 million. However, leishmaniasis therapies have their limitations, and today nanoparticle delivery systems such as liposomes are used. Liposomes are bilayered structures made of phospholipids and cholesterol, which contain hydrophilic and hydrophobic components in their structure and enable the uptake of hydrophobic, hydrophilic, or amphiphilic compounds.

Since the leishmaniasis parasite is predominantly found in macrophages, drug delivery systems improve the therapeutic index of anti-leishmaniasis drugs and reduce the effective dose and toxic off-target effects of non-specific biodistribution.

Targeted liposomal drug delivery systems are achieved by utilizing their different structural features such as particle size and surface charge and attaching other ligands to the surface of liposomes for targeted drug delivery.

Today, sugar-coated liposomes, cationic liposomes, arsenoliposomes and peptide-targeted liposomes are used to deliver traditional anti-leishmaniasis drugs to Leishmania, and due to the importance of nanoliposomes and their many benefits, research continues in this field.

Keywords: Liposomes, Leishmania, Leishmaniasis, Nanotechnology, Vesicle

J Mazandaran Univ Med Sci 2023; 33 (Supple 2): 380-397 (Persian).

Corresponding Author: Javad Akhtari, Faculty of Advanced Technologies in Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran. (E-mail: Javad.Akhtari@gmail.com)

کاربردهای فناوری لیپوزوم در درمان لیشمانیا: گذشته، حال و آینده

امیر ملتی^۱

پیمان اسدی^۲

ناهد سلطانیلو^۲

مهدی فخار^۳

سیده هدی علوی زاده^۴

جواد اختری^۴

چکیده

لیشمانیازیس یکی از بیماری‌های انگلی شایع در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری جهان بوده و تهدیدی برای سلامت عمومی محسوب می‌شود. طبق آمار سازمان جهانی بهداشت (WHO)، موارد لیشمانیوز موجود در دنیا ۱۲ میلیون نفر و تعداد افراد در معرض خطر ۳۵۰ میلیون نفر تخمین زده می‌شود. داروهای درمانی لیشمانیوز دارای محدودیت‌هایی هستند و امروزه، رویکرد به سمت سیستم‌های دارورسانی نانوذره‌ای همچون لیپوزوم‌هاست. لیپوزوم‌ها ساختارهای دولایه فسفولیپیدی و کلسترول هستند که شامل قسمت‌های هیدروفیل و هیدروفوب در ساختار خود بوده و امکان بارگیری ترکیبات هیدروفوب، هیدروفیل یا آمفی‌فیل را فراهم می‌کنند.

از آنجایی که انگل لیشمانیا بیش‌تر در ماکروفاژها حضور دارد، سیستم‌های دارورسانی باعث بهبود شاخص درمانی داروهای ضد لیشمانیا شده و موجب کاهش دوز مؤثر و اثرات سمی خارج از هدف (off target) حاصله از توزیع زیستی غیراختصاصی آن‌ها می‌شود.

هدفمندسازی سیستم‌های دارورسانی لیپوزومی نه تنها با استفاده از ویژگی‌های ساختاری مختلف آن‌ها همچون اندازه ذره‌ای و بار سطحی به دست می‌آید، بلکه با اتصال لیگاندهای مختلف به سطح لیپوزوم‌ها، جهت دارورسانی هدفمند قابل دستیابی است.

امروزه، از لیپوزوم‌های پوشیده شده با قند، لیپوزوم‌های کاتیونی، آرسنولیپوزوم‌ها و لیپوزوم‌های هدفمند شده با پپتید برای رسانش داروهای ضد لیشمانیای سنتی به لیشمانیا استفاده می‌شود و با توجه به اهمیت نانولیپوزوم‌ها و مزیت‌های زیاد آن، تحقیقات در این زمینه روز به روز بیش‌تر می‌شود.

واژه های کلیدی: لیپوزوم، نانو تکنولوژی، لیشمانیا، لیشمانیوز، وزیکول

E-mail: Javad.Akhtari@gmail.com

مؤلف مسئول: جواد اختری - ساری: دانشگاه علوم پزشکی مازندران، دانشکده فناوری‌های نوین پزشکی

۱. استادیار، گروه مهندسی بافت و علوم سلولی-کاربردی، دانشکده فناوری‌های نوین پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۲. دانشجوی کارشناسی ارشد، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده فناوری‌های نوین پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران

۳. استاد، گروه انگل شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۴. مرکز تحقیقات توکسوپلاسموز، پژوهشکده بیماری‌های غیرواگیر، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۵. استادیار، گروه نانوفناوری دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

۶. مرکز تحقیقات نانو فناوری دارویی، موسسه فناوری‌های دارویی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

۷. دانشیار، گروه نانوفناوری پزشکی، دانشکده فناوری‌های نوین پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

✉ تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۳/۱۱ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۴۰۰/۳/۱۹ تاریخ تصویب: ۱۴۰۲/۸/۲۰

مقدمه

لیشمانیازیس یکی از بیماری‌های انگلی شایع در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری جهان بوده و تهدیدی برای سلامت عمومی محسوب می‌شود. ایران نیز یکی از مناطق اندمیک لیشمانیوز جلدی در جهان است. سالانه حدود ۲۰ تا ۴۰ مورد لیشمانیوز به ازای هر ۱۰۰ هزار نفر گزارش می‌شود (۱).

لیشمانیازیس

این بیماری بیش‌تر به سه شکل لیشمانیوز احشایی (کالا آزار)، پوستی (سالک)، لیشمانیای پوستی مخاطی (اسپوندیا) مشاهده می‌شود. طبق آمار سازمان جهانی بهداشت (WHO)، موارد لیشمانیوز موجود در دنیا ۱۲ میلیون نفر و تعداد افراد در معرض خطر ۳۵۰ میلیون نفر تخمین زده می‌شود. سالک از انواع دیگر بیماری (احشایی و مخاطی - پوستی) شایع‌تر است؛ به طوری که هر ساله، نزدیک به ۷۰ درصد کل موارد جدید گزارش شده (حدود ۶۰۰ هزار نفر) مربوط به این شکل بیماری است و ۹۰ درصد موارد سالک جهان از کشورهای ایران، اتیوپی، الجزیره، افغانستان، سودان شمالی، سوریه، برزیل، پرو، کلمبیا و کاستاریکا گزارش شده است (۲).

روش‌های درمانی لیشمانیازیس

درمان‌های رایج برای لیشمانیازیس شامل درمان‌های فیزیکی و درمان‌های جراحی و داروها می‌شود.

درمان‌های فیزیکی: این درمان‌ها شامل نوردرمانی (مانند فتودینامیک تراپی)، درمان‌های حرارتی (مانند هایپرترمی) و درمان‌های الکتروتراپی (مانند الکتروکواگولاسیون) است. این روش‌ها ممکن است به عنوان درمان‌های تکمیلی به همراه داروها استفاده شوند. البته، در برخی موارد، جراحی می‌تواند برای درمان لیشمانیازیس لازم باشد. داروهای ضد لیشمانیا که به صورت خوراکی یا تزریقی مصرف می‌شوند، بیش‌تر برای درمان عفونت‌های خفیف تا متوسط استفاده می‌شوند. برخی از

داروهای رایج شامل آنتی‌بیوتیک‌ها مانند پنتامیدین، ضد قارچ‌هایی مانند آمفوتریسین B و سولفادیازین و داروهای ضد انگل همچون میلنفوسین است (۳).

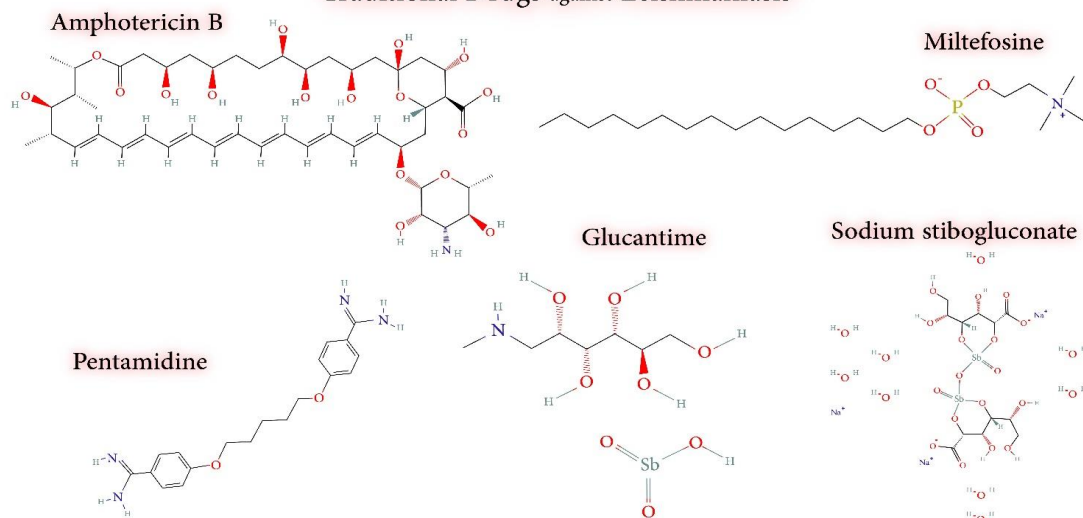
دارو درمانی لیشمانیازیس

اغلب داروهایی که برای درمان لیشمانیوز استفاده می‌شوند، دارای محدودیت‌هایی هستند؛ مانند مقرون به صرفه نبودن، سمی بودن، داشتن مشکلاتی در شیوه مصرف و... مهم‌ترین مسئله در مورد این داروها گسترش مقاومت انگل به آن‌ها است. در حال حاضر، افزایش مقاومت در برابر ترکیبات آنتی‌موان به عنوان یک هشدار و چالش عمده موفقیت درمان مطرح است. از این‌رو، نیاز به گسترش ترکیبات ضد لیشمانیایی مؤثر، کم‌هزینه، با سمیت کم و هم‌چنین، با قابلیت تجویز از راه خوراکی، نسبت به گذشته بیش‌تر احساس می‌شود. تصویر شماره ۱ شماری از داروهای رایج در درمان لیشمانیوز را نشان می‌دهد (۴-۷). چالش اصلی در درمان لیشمانیا این حقیقت است که انگل ماکروفاژها را آلوده می‌کند؛ بنابراین، داروهای ضد لیشمانیایی سنتی، برای پیدا کردن انگل و نفوذ به آن باید نخست وارد ماکروفاژها شوند که این با مشکلاتی همراه است. به عنوان مثال، در لیشمانیوز احشایی، دارو باید انگل‌ها را در داخل ماکروفاژهای آلوده در طحال، کبد و مغز استخوان هدف قرار دهد، در حالی که در لیشمانیوز پوستی، دارو باید به انگل‌ها در زخم‌های پوستی منتقل شود. در محل عفونت، هر دارویی باید پیش از عبور از غشاء پارازیتوفور (واکوئل پارازیتوفور)، از غشاء پلاسمایی ماکروفاژ هم عبور کند و در نهایت، به غشاء پلاسمایی انگل برسد (۸).

نانوحامل‌ها در دارورسانی

نانوحامل‌ها به عنوان یک فناوری نوین در علم داروسازی و پزشکی، قابلیت کاهش میزان سمی بودن داروها را دارا هستند. این حمل‌کننده‌های نانومتری، داروها را درون خود جا داده، به طور مستقیم به سلول

Traditional Drugs against Leishmaniasis



تصویر شماره ۱: ساختار مولکولی شماری از داروهای رایج در درمان لیشمانیوز (ترسیم شده توسط نرم افزار Adobe Illustrator)

ضد لیشمانیا حلالیت ضعیفی دارند که محدودیت‌هایی برای جذب و توزیع آن‌ها در بدن ایجاد می‌کند. لیپوزوم‌ها قادر به حل کردن این داروها هستند، حلالیت آن‌ها را افزایش داده و جذب و توزیع آن‌ها در بدن را بهبود می‌بخشند. لیپوزوم‌ها نیز حامل‌های دارویی هستند که به صورت کروی و بدون لایه چربی و از سورفکتانت‌های غیریونی، ساخته می‌شوند و قابلیت جذب و حمل دارو را افزایش می‌دهند (۱۰، ۱۱).

استفاده از نانوحامل‌ها در کاهش مقاومت دارویی

یکی از مشکلات مهم در درمان بیماری‌ها، مقاومت دارویی است که به معنای کاهش اثربخشی داروها در مقابل عوامل بیماری‌زا است. استفاده از نانوحامل‌ها به عنوان یک روش نوین و کارآمد در کاهش مقاومت دارویی مورد توجه قرار گرفته است. این نانوحامل‌ها قابلیت حمل داروهای ضد باکتری، ضد ویروس و ضد سرطان را دارند و باعث افزایش جذب و نفوذ دارو به داخل سلول‌های بیماری‌زا می‌شوند. علاوه بر این، نانوحامل‌ها می‌توانند باعث بهبود توزیع دارو در بدن، افزایش زمان اقامت دارو در منطقه هدف و کاهش

هدف تحویل می‌دهند. این فرایند باعث کاهش نیاز به مصرف دارو در اندام‌های دیگر بدن می‌شود و از این رو، میزان سمی بودن داروها کاهش می‌یابد. هم‌چنین، می‌توان از نانوذرات برای تغییر حلالیت دارو استفاده کرد. در نتیجه، استفاده از نانوحامل‌ها می‌تواند به کاهش میزان سمی بودن داروها و افزایش کارایی آن‌ها کمک کند (۹). به عنوان مثال، لیپوزوم‌ها به دلیل ویژگی‌ها و مزایای منحصربه‌فرد خود در انتقال دارو، در بیماری لیشمانیوز مهم هستند. لیپوزوم‌ها که ساختارهای وزیکولی مبتنی بر لیپید هستند، مزیت‌های زیادی همچون دارورسانی هدفمند، پایداری دارو درون آن‌ها، آزادسازی طولانی‌مدت دارو، بهبود حلالیت دارو و... را دارند که همه این ویژگی‌ها در مورد لیشمانیوز دارای اهمیت است؛ مثلاً در مورد آزادسازی طولانی‌مدت دارو، لیپوزوم‌ها را می‌توان به گونه‌ای طراحی کرد که به صورت کنترل شده داروها را آزاد کنند و باعث آزادسازی پایدار عوامل درمانی شوند. این آزادسازی پایدار باعث تماس طولانی‌مدت انگل با دارو می‌شود و کارایی آن را افزایش می‌دهد. هم‌چنین، در مورد بهبود حلالیت دارو توسط این نانوذرات، بسیاری از داروهای

عوارض جانبی دارو شوند و میزان سمی بودن دارو را کاهش دهند. به طور کلی، استفاده از نانوحامل‌ها می‌تواند به بهبود درمان بیماری‌ها و کاهش مقاومت دارویی کمک کند (۷). برخی از نانوحامل‌های مهم با کاربردهایی در حمل و نقل دارو عبارت‌اند از: لیپوزوم‌ها، نانوذرات پلیمری و نانوساختارهای کربنی. لیپوزوم‌ها قابلیت تسریع جذب داروها را دارند و هم‌چنین، می‌توانند دارو را به صورت مستقیم، به سلول‌های بیمار منتقل کنند (۱۲).

نانوذرات پلیمری از پلیمرهای مختلف تشکیل شده‌اند؛ مانند پلیمر پلی‌لاکتیک کو گلیکولیک اسید (PLGA) و قابلیت جذب و حمل دارو را دارند. آن‌ها می‌توانند دارو را به صورت پایدار در خود نگه دارند و با تغییر در خصوصیات سطح، جذب دارو را به سلول‌های هدف افزایش دهند (۱۳). روند تغییر نانوحامل‌ها در افزایش کارایی آن‌ها در جهت حمل داروهای ضد لیشمانیا در طول سال‌ها بهبود یافته است. نخست، نانوذرات ساده مانند نانوذرات طلا و نقره یا نانولوله‌های کربنی برای حمل داروهای ضد لیشمانیا استفاده می‌شدند؛ اما این روش‌ها محدودیت‌هایی داشتند و عملکرد بهبود یافته‌ای نداشتند. سپس، با پیشرفت تکنولوژی و شناخت بیولوژی سلولی مولکولی انگل لیشمانیا، نانوذرات پلیمری و لیپوزوم‌ها برای حمل داروهای ضد لیشمانیا استفاده شدند. این نانوذرات دارای خواص منحصربه‌فردی هستند که می‌توانند دارو را به صورت کنترل شده و مستقیم، به سلول‌های لیشمانیا برسانند. هم‌چنین، این نانوذرات قابلیت حمل داروهای مختلف را دارند و می‌توانند در ترکیب با داروهای دیگر استفاده شوند. علاوه بر این، تغییرات در ساختار و روش ساخت نانوذرات هم‌چنین، به بهبود کارایی آن‌ها کمک کرده است. مثلاً، استفاده از روش‌های جدید ساخت نانوذرات مانند روش تزریق حلال یا میکروفلوئیدیک، می‌تواند بهبود قابل توجهی در حمل و نقل داروها به سلول‌های لیشمانیا ایجاد کند (۱۴).

استراتژی اصلی در درمان لیشمانیوز، رسانش هدفمند دارو با استفاده از نانوساختارها به ماکروفاژها می‌باشد که این نانوساختارها توانایی غلبه بر سدهای زیستی را نیز دارند. علاوه بر این، استفاده از نانوحامل‌های ذکر شده سبب کاهش سمیت دارویی، افزایش کارایی درمان، بهبود انتخاب‌پذیری (selectivity)، تغییر در فارماکوکینتیک دارو، افزایش حلالیت داروها، کاهش مقاومت دارویی و حفاظت از دارو در مقابل تجزیه شده و هم‌چنین، باعث پیشبرد دارورسانی آهسته به جایگاه هدف می‌شود (۱۵).

از مزیت‌های دیگر، امکان طراحی نانوذرات برای حمل بیش از یک دارو است که امکان درمان ترکیبی را فراهم می‌کند که در این حالت، اثرات هم‌افزایی فارماکولوژیکی داروها قابل بررسی است. مطالعات زیادی به بررسی اثر سینرژیستی نانولیپوزوم‌های حاوی دارو در ترکیب با مواد دیگر پرداخته‌اند؛ مثلاً Adinolfi و همکاران در سال ۱۹۸۵، به بررسی اثر هم‌زمان گلوکانتیم و لیپوزوم‌های آنالوگ مورامیل دی‌پتید پرداختند. آن‌ها این ترکیب را در لیشمانیوز احشایی در موش و همستر بررسی کردند. نتایج نشان داد که درمان ترکیبی در حذف آماسیگوت‌های لیشمانیا دونوانی از ماکروفاژهای بافت‌های آلوده، مؤثرتر از اثر درمانی آن‌ها به تنهایی است (۱۶).

مطالعه دیگری در سال ۲۰۱۴ توسط Corral و همکاران انجام شده و در آن، اثرات هم‌افزایی آمفوتریسین B و آلیسین بر انگل‌های لیشمانیا در شرایط برون تنی بررسی شده است. مطالعه در غلظت‌های مختلف ترکیبی بررسی شد و نتایج نشان داد که در برخی از غلظت‌ها، فعالیت آمفوتریسین B بر انگل‌های داخل سلولی، افزایش می‌یابد. کاهش ۴۵ درصدی غلظت انگل داخل سلولی در برخی از غلظت‌ها به دست آمد (۱۷). سطح نانوحامل‌ها را می‌توان با عوامل مختلف زیستی تغییر داد و با ساخت نانوذرات هدفمند، سبب افزایش انتخاب‌پذیری به انگل‌ها شد. به نظر می‌رسد که دارورسانی

هدفمند به ماکروفاژها یک مقوله جذاب برای بهبود اثرات درمانی داروهای حمل شده است (۱۸، ۱۹).

تأثیر خصوصیات فیزیکوشیمیایی لیپیدها و لیپوزوم‌ها شامل اندازه، پتانسیل زتا و شاخص پراکندگی (PDI)، گروه‌های عاملی سطحی، تارگت بودن یا نبودن و تنوع لیپیدی تأثیرات عمیقی بر کینتیک و دینامیک فراورده نهایی دارد. مانند اندازه و پتانسیل زتای لیپوزوم‌ها که تأثیر مهمی در حمل دارو دارند. اندازه لیپوزوم‌ها می‌تواند تأثیر زیادی بر سرعت حمل و نقل دارو به سلول‌های هدف داشته باشد. به طور کلی، لیپوزوم‌های کوچک‌تر قابلیت نفوذ بهتری به سلول‌ها دارند و می‌توانند به سرعت و با کارایی بیش‌تر دارو را منتقل کنند؛ به عبارت دیگر، اندازه کوچک‌تر لیپوزوم‌ها باعث افزایش سرعت حمل و نقل دارو به سلول‌ها می‌شود (۲۰).

پتانسیل زتای لیپوزوم‌ها نیز تأثیر مهمی در حمل دارو دارد. پتانسیل زتای لیپوزوم‌ها معمولاً به عنوان پارامتری برای تعیین توانایی لیپوزوم‌ها در ترکیب با سطح سلول‌ها استفاده می‌شود. وجود پتانسیل زتای منفی در سطح لیپوزوم‌ها می‌تواند باعث جذب و تعامل بیش‌تر لیپوزوم‌ها با سطح سلولی شود و در نتیجه، حمل دارو به سلول‌های هدف را بهبود بخشد. برای مثال، فرض کنید یک لیپوزوم با اندازه کوچک و پتانسیل زتای منفی برای حمل داروی ضد سرطان به سلول‌های سرطانی استفاده می‌شود. به دلیل اندازه کوچک لیپوزوم، این لیپوزوم به راحتی می‌تواند به سلول‌های سرطانی نفوذ کند و دارو را به داخل سلول منتقل کند. هم‌چنین، به دلیل پتانسیل زتای منفی لیپوزوم، به سطح سلول‌های سرطانی جذب می‌شود و باعث تعامل بیش‌تر و حمل دارو به داخل سلول می‌شود. در نتیجه، لیپوزوم می‌تواند سمیت کم‌تری داشته باشد و به طور کلی، کارایی بیش‌تری در حمل دارو به سلول‌های سرطانی داشته باشد (۲۱).

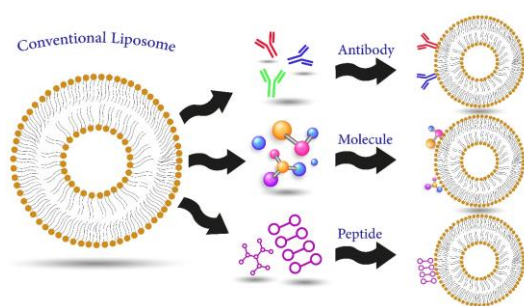
پاسخ ایمنولوژیک به اجسام خارجی یک پدیده طبیعی بدن بوده که می‌تواند جهت

هدفمندسازی غیرفعال (Passive Targeting) با نفوذ دارو و حامل‌های دارویی با تغییر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی آن‌ها به کار رود. جذب ذرات به وسیله سلول‌های سیستم رتیکولاندوتلیال (RES) یک مثال فوق‌العاده از دارورسانی غیرهدفمند است. توانایی ماکروفاژها در تشخیص و حذف سریع ذرات خارجی، یک دیدگاه منطقی را در هدفمندسازی اختصاصی به ماکروفاژها، با استفاده از نانوذرات ایجاد می‌کند. جذب غیرفعال حامل‌های کلئیدی به وسیله ماکروفاژها، فرصت‌های درمانی جهت دلیوری داروهای ضد لیشمانیا را به ماکروفاژهای مستقر در RES فراهم می‌کند. هدفمندسازی غیرفعال تحت تأثیر فاکتورهای پاتوفیزیولوژی بدن، همانند اثر افزایش نفوذ و ماندگاری (EPR effect) یا فاکتورهای فیزیکوشیمیایی سیستم دارورسانی (همچون اندازه ذره، بار سطحی و وزن مولکولی) است (۲۲).

دارورسانی هدفمند (Active targeting)

دارورسانی هدفمند سبب بازتعریف سرنوشت بیولوژیکی یا الگوی توزیع طبیعی سیستم حامل دارو می‌شود. این عمل با تغییر و دست‌کاری سطح حامل‌ها به گونه‌ای که قابلیت تشخیص اختصاصی سلول‌های ویژه را داشته باشند، صورت می‌گیرد. اتصال حامل‌های حاوی دارو به سلول‌های هدف توسط انواع مختلف لیگاندها تسهیل می‌شود و بنابراین، تجمع وابسته به گیرنده داروها را افزایش می‌دهد. انگل لیشمانیا در فاگولیزوزوم‌های داخل سلولی ساکن بوده و بنابراین، نیاز به هدفمند کردن نانوذرات به داخل سلول‌هاست. فرایند جذب پروماستیگوت لیشمانیا به وسیله ماکروفاژها یک فرایند وابسته به گیرنده بوده که مستلزم مصرف انرژی توسط ماکروفاژ است؛ اما انگل، انرژی مصرف نمی‌کند. به دلیل ماهیت داخل سلولی اجباری این عامل بیماری‌زا، این ارگاناسم، لیگاندهای مختلفی را بر سطح خود بیان می‌کند که با بسیاری از گیرنده‌های ماکروفاژ

پیشرفت‌های زیادی چه در زمینه ابزارهای سنتز آن‌ها و روش‌های جدید ساخت و چه تغییر در اجزای تشکیل دهنده یا استفاده از پلیمرها در سطح فسفولیپیدها صورت گرفته است (۲۵). هدفمندسازی سیستم‌های دارورسانی لیپوزومی نه تنها با استفاده از ویژگی‌های ساختاری مختلف آن‌ها همچون اندازه ذره‌ای و بار سطحی به دست می‌آید، بلکه با اتصال لیگاندهای مختلف به سطح لیپوزوم‌ها، جهت دارورسانی هدفمند قابل حصول است (۲۶). تصویر شماره ۲ ساختار شماتیک لیپوزوم و چند شکل هدفمند آن را نشان می‌دهد.



تصویر شماره ۲: ساختار لیپوزوم و قرار گیری مولکول‌های مختلف بر سطح آن در دارورسانی هدفمند. (ترسیم شده توسط نرم افزار Adobe illustrator)

داروهای لیپوزومی در درمان لیشمانیا

یکی از پیشگامان استفاده از لیپوزوم‌ها در درمان لیشمانیوز احشایی در مدل‌های همستر Alving بوده است. در یکی از مطالعاتی که او انجام داد، از گلوکانتیم لیپوزومی استفاده کرد که ۷۰۰ برابر نسبت به داروی آزاد، اثربخشی بهتری دیده شد و تجمع لیپوزوم‌های حاوی دارو در کبد و طحال و در سلول‌های کوپفر مشاهده شده است. عکس‌های میکروسکوپ الکترونی تخریب شدید انگل را در سلول‌های کوپفر پس از درمان با شکل لیپوزوم نشان داد که احتمالاً به دلیل الحاق فاگولیزوزومی است. با توجه به مشکلات مربوط به مقاومت از ترکیبات آنتیموانی، تلاش‌ها در جهت ارزیابی اثربخشی عوامل خط دوم درمانی همچون

برهم کنش کرده و جذب و ورود آن به سلول‌های فاگوسیستی را تضمین می‌کند. شماری از این گیرنده‌ها شامل فیرونکتین، قندهایی همچون مانوز، فوکوز، گیرنده گالاتکوزیل و گیرنده کمپلمان و... است (۲۳). به علاوه، یافتن کاربردهای جدید برای داروهای موجود که استفاده مجدد دارو (Drug repurposing) نام دارد و دیدگاه‌های هدفمندسازی جدید، روش‌های جالبی برای کشف و توسعه داروهای نوین جهت بیماری‌های گرمسیری فراموش شده مانند لیشمانیوز ایجاد کرده است (۲۴).

از نظر مفهومی، بسیاری از ویژگی‌های دور از انتظار داروهای ضد لیشمانیای سنتی را می‌توان با استفاده از سیستم‌های دارورسانی و ابزارهای نانو و تکنولوژی‌های داروسازی صنعتی بهبود داد. سیستم‌های دارورسانی باعث بهبود داروهای با حلالیت کم مثل آمفوتریسین B می‌شوند. هم‌چنین، می‌توانند پروتئین‌های دارای خواص آنتی‌ژنی، DNA یا RNA را از تخریب سریع حفظ کنند و باعث هدفمند کردن داروها به جایگاه عمل آن‌ها مثل ماکروفاژها شوند. از آنجایی که انگل لیشمانیا بیش‌تر در ماکروفاژها حضور دارد، سیستم‌های دارورسانی سبب بهبود شاخص درمانی داروهای ضد لیشمانیا شده و سبب کاهش دوز مؤثر و اثرات سمی خارج از هدف (off target) حاصله از توزیع زیستی غیراختصاصی آن‌ها می‌شود. امروزه، سیستم‌های دارورسانی نانویی مختلفی علیه لیشمانیا در مراحل مختلف آزمایشگاهی هستند، نمونه‌ای از آن‌ها دندریمرها، نانوذرات لیپیدی جامد، نانو ساختارهای لیپیدی، ماتریکس‌های لیپیدی با تغییر شکل بالا (ultra-deformable) و لیپوزوم‌ها است. این نانوذرات را می‌توان از راه خوراکی یا موضعی استفاده کرد (۱۲).

لیپوزوم‌ها و نانوداروهای لیپوزومی

کشف و استفاده از لیپوزوم‌ها در دارورسانی به دهه ۶۰ میلادی برمی‌گردد و از آن زمان تا به حال،

آمفوتریسین B، انجام شد و نتایج نشان داد که به طرز شگفت آوری، ترکیب لیپوزومی آمفوتریسین B بهتر از مگلو مین آنتیموان (۳۵۰ تا ۷۵۰ برابر) و ۲ تا ۵ برابر بهتر از آمفوتریسین B در مدل لیشمانیوز احشایی بود؛ بدین ترتیب، لیپوزوم‌ها به عنوان حامل‌های مؤثری برای هدفمندسازی داروها در ماکروفاژهای آلوده در لیشمانیوز احشایی معرفی شدند (۲۷).

آمفوتریسین B یک عامل ضد لیشمانیا و ضد انگلی قدرتمند بوده که سمیت کبدی قابل توجهی دارد. سیستم‌های دارورسانی لیپوزومی از این دارو سبب افزایش کارایی دارو و کاهش سمیت آن می‌شود. امروزه، کاملاً اثبات شده است که آمفوتریسین B در ساختارهای لیپوزومی بسیار مؤثرتر از اشکال غیرلیپوزومی است که شاید یک دلیل آن کاهش سمیت دارویی و تغییر توزیع دارو در جایگاه عفونت است. کارایی فرمولاسیون لیپوزومی آمفوتریسین B با مطالعات آزمایشگاهی در مدل موشی BALB/C آلوده با لیشمانیا دونوانی تأیید شده است (۲۸).

یکی از اشکال لیپوزومی آمفوتریسین B به نام آمبیزوم تأییدیه سازمان غذا و داروی آمریکا را برای درمان بیماران آسپرژیلوس، کاندیدیازیس و عفونت‌های کریپتوکوکی و لیشمانیوز احشایی کسب کرده است. در یک مطالعه در سال ۱۹۹۶، اثرات fungizone و آمبیزوم با همدیگر مقایسه شدند، تحمل و اثربخشی این داروها بر لیشمانیوز احشایی در مدل موشی BALB/C بررسی شد. در دوزهای قابل تحمل ۵ یا ۵۰ (mg/kg)، آمبیزوم به طور کامل انگل را از کبد، طحال و شش‌ها حذف کرد (۲۹).

دیگر فرمولاسیون لیپیدی تجاری شده و دارای کارایی مؤثر علیه لیشمانیا Abelcet و Amphocil

است. Abelcet کمپلکسی از آمفوتریسین B با ساختارهای لیپیدی روبان مانند است که قطر ۲ تا ۵ میلی‌متر دارد که از فسفاتیدیل کولین و فسفاتیدیل گلیسرول تشکیل شده است. Amphocil پراکندگی کلوتیدی از سدیم کلسترل سولفات است که به شکل صفحات تخت قرار گرفته و قطر ۴ نانومتر دارد. در مطالعات بسیاری که به مقایسه اثربخشی آمبیزوم با سایر فراورده‌های لیپوزومی همچون Amphocil و Amphotec پرداخته شده است، اثربخشی بالاتر آمبیزوم در شرایط درون تنی اثبات شد. امروزه، آمبیزوم تنها محصول لیپوزومی تأیید شده برای درمان لیشمانیوز احشایی در بزرگسالان و کودکان است (۳۰). جدول شماره ۱ شماری از فراورده‌های نانولیپوزومی و مشخصات آن‌ها را که کاربرد بیش تری در کلینیک دارند، توضیح می‌دهد.

در یک مطالعه در سال ۲۰۱۶، پرز و همکاران لیپوزوم‌های قابل انعطاف حاوی آمفوتریسین B را تهیه کردند که هدف آن‌ها بهبود دارورسانی موضعی به لیشمانیوز پوستی بود. این مطالعه روی لیشمانیا برزیلیازیس انجام شد و اثرات آن بر پروماستیگوت ۱۰۰ درصد و روی آماستیگوت ۷۵ درصد مهار را نشان داد. تجمع آمفوتریسین B در پوست ۴۰ برابر بالاتر از آمبیزوم بود (۳۵).

در مطالعه دیگری، Patere و همکاران در همان سال، با تغییر در سطح لیپوزوم‌ها با استفاده از پلی‌ساکارید، نانوذره هدفمند حاوی آمفوتریسین B برای ماکروفاژهای مستقر در RES را ساختند. اندازه لیپوزوم‌ها حدود ۲۰۵ نانومتر بود. این نانولیپوزوم‌های هدفمند سبب افزایش جذب سلولی شده که مرتبط با اندوسیتوز وابسته به گیرنده است (۳۶).

جدول شماره ۱: فراورده‌های نانولیپوزومی و مشخصات آن‌ها

ردیف	نام تجاری	ساختار	کارایی	منبع
۱	AmBisome	آمفوتریسین B لیپوزومی	کارایی بالا در درمان لیشمانیوز احشایی داشته است.	(۳۱)
۲	Impavido	ملفوسین لیپوزومی	مصرف خوراکی دارد. در لیشمانیوز احشایی و پوستی استفاده می‌شود. سبب افزایش کارایی و کاهش عوارض جانبی نسبت به داروی آزاد شده است.	(۳۲)
۳	AeroLEISH	پاروموماپسین لیپوزومی	در لیشمانیوز احشایی استفاده می‌شود. سبب افزایش کارایی و کاهش عوارض جانبی نسبت به داروی آزاد شده است. در بعضی از کشورها دارای مجوز است.	(۳۳)
۴	Amphocil	شکل دیگری از آمفوتریسین B لیپوزومی	در لیشمانیوز احشایی و پوستی استفاده می‌شود. سبب افزایش کارایی و کاهش عوارض جانبی نسبت به داروی آزاد شده است.	(۳۴)

۵	Pentostam	سدیم استیو گلوکات لیپوزومی	سدیم استیو گلوکات جزء داروهای آنتی‌بیوتال بوده و با توجه به عوارض جانبی، شکل لیپوزومی آن در لیشمانیوز احشایی و پوستی استفاده می‌شود. (۳۴)
۶	Ambisome-PM	شکل دیگری از پارومومایسین لیپوزومی	مشابه سایر داروهای لیپوزومی، کپسوله شدن دارو سبب افزایش کارایی و افزایش اثربخشی شده است. (۳۱)

آزاد در شکل پروماستیگوت لیشمانیایی دارد که مقاوم

به میل‌تفوسین معمول است (۴۰).

در مطالعه دیگری، Montari و همکاران در سال ۲۰۱۰ مشاهده کردند که فتالوسیپین، ۲۰ درصد فعالیت ضد پروماستیگوتی و ۲۰ درصد ضد آماستیگوتی علیه لیشمانیا برزیلیازیس دارد. با وجود این، هنگامی که این ترکیب در لیپوزوم‌های انعطاف‌پذیر قرار گیرد، اثر ضد پروماستیگوتی آن به ۱۰۰ درصد و اثر ضد آماستیگوتی آن به ۸۰ درصد در همان دوز می‌رسد. به علاوه، آن‌ها مشاهده کردند که ساختارهای لیپوزومی انعطاف‌پذیر قادرند به طور عمیق‌تر و هموژن‌تری به لایه شاخی پوست (stratum corneum) نفوذ کنند. این نتایج پتانسیل این فرمولاسیون‌ها را برای لیشمانیوز پوستی نشان داد (۴۱).

لیپوزوم‌های حامل قند

این لیپوزوم‌ها برای بهبود رسانش به ماکروفاژها طراحی شده و قادرند عوامل ضد لیشمانیا را به سطح ماکروفاژها که گیرنده‌های این عوامل را دارند، هدفمند کنند. نمونه‌ای از این قندها، گالاکتوز، مانوز، فوکوز یا رزیدوهای گلوکز گلیکوزیدهاست (۴۲).

با در نظر گرفتن این موضوع، در یک مطالعه urea-stibamine به شکل آزاد، در لیپوزوم ساده و در لیپوزوم‌های حاوی مانوزهای سطحی در مدل همستر لیشمانیا بررسی شد. نتایج نشان داد که لیپوزوم‌های حاوی مانوز در انتقال دارو به ماکروفاژها نسبت به لیپوزوم‌های سنتی و داروی آزاد کارایی بالاتری دارند. به علاوه، فرایند کپسوله کردن لیپوزومی باعث کاهش سمیت داروها شد (۴۳).

در ادامه، برتری سیستم‌های دارورسانی لیپوزومی حاوی مانوز برای داروهای غیر از آنتی‌بیوتیک‌ها، مثلاً پنتامیدین ایزوتیانات، hamycin و آنتی‌بیوتیک‌های پلی‌ان بررسی شد. گسترده‌گی استفاده از مانوز و موفقیت‌های

uparvaquone (BPQ) یک دارو با مصرف

دامپزشکی است که برای درمان تیلروزیس (theileriosis) استفاده می‌شود. توزیع زیستی و فراهمی زیستی ضعیف BPQ منجر به کارایی پائین درون‌تنی این دارو در مدل‌های حیوانی لیشمانیوز شده است. به این ترتیب، در سال ۲۰۱۲، مطالعه‌ای جهت فرموله‌سازی لیپوزومی این ترکیب انجام شد. از همسترهای آلوده به انگل جهت بررسی اثر درمانی احتمالی این نانو دارو استفاده شد. نتایج نشان داد که لیپوزوم‌های غنی از فسفاتیدیل‌سرین و حاوی BPQ، این پتانسیل را دارند تا در درمان لیشمانیوز احشایی به کار روند. تجمع لیپوزوم‌های دارای بار منفی در بهبود جذب اختصاصی آن‌ها توسط ماکروفاژها از طریق گیرنده‌های جاروب‌گر (scavenger) مؤثر بوده و منجر به اثربخشی بالاتر به صورت درون‌تنی و برون‌تنی می‌گردد (۳۷).

محققان زیادی ترکیبات مختلف را برای درمان لیشمانیوز در لیپوزوم‌ها کپسوله کردند؛ مثلاً در سال ۲۰۰۲، سرکار و همکاران quercetin را نانولیپوزومی کردند و اثرات افزایش یافته آن را در کاهش بار انگلی در طحال اثبات نمودند. هم‌چنین، سمیت کبدی و سمیت کلیوی در مقایسه با داروی آزاد کاهش یافت (۳۸).

در مطالعه دیگری لیپوزوم‌های حاوی atovaquone که یک داروی ضد انگلی مناسب در درمان لیشمانیا است، مطالعه شد. از مدل موشی آلوده به لیشمانیا اینفانتوم استفاده شد و نتایج نشان داد که فرم لیپوزومی این ترکیب ۲۳ بار مؤثرتر از ترکیب آزاد است (۳۹).

میل‌تفوسین که به صورت موضعی برای درمان لیشمانیوز پوستی و به صورت خوراکی برای لیشمانیوز احشایی استفاده می‌شود نیز در ساختارهای لیپوزومی بررسی شده است. در یک مطالعه محققان نشان دادند که میل‌تفوسین لیپوزومی کارایی بالاتری نسبت به داروی

لیپوزوم‌های دارای بار مثبت

لیپوزوم‌های دارای بار مثبت هم از خود اثرات ضد انگلی نشان دادند، اگرچه مکانیسم این برهم‌کنش هنوز شناخته نشده است. برهم‌کنش لیپوزوم‌های کاتیونی با بار منفی غشاء انگلی سبب آسیب‌های سلولی و نقص متابولیسم اکسیژن می‌شود. هم‌چنین، گزارش‌هایی وجود دارد که از جذب بهتر دارو توسط ماکروفاژهای کبد و طحال موقع استفاده از آن‌ها حکایت دارد و در بیش‌تر موارد نسبت به لیپوزوم‌های با بار منفی و خنثی کارایی ضد انگلی بالاتری دارد. این مشاهدات محققان را به تحقیق در پتانسیل لیپوزوم‌های با بار مثبت در عفونت‌های لیشمانیا ترغیب کرد (۴۷). در یک مطالعه جذاب، Dey و همکاران نشان دادند که تجویز یک تک‌دوز از لیپوزوم‌های با بار مثبت که در آن استاریل آمین به کار رفته است، می‌تواند به طور مؤثری، سبب کاهش بار انگلی در کبد در مدل لیشمانیوز احشایی شود (۴۸).

به تازگی، اثر ضد لیشمانیایی یک الیگونوکلوئید آنتی‌سنس علیه ژن بتاتوبولین انگل بررسی شده است، در این مطالعه از لیپوزوم‌های کاتیونی، با القاگرهای بار مختلف استفاده شد، نمونه آن‌ها DOTAP، SA و CTAB بود. نتایج نشان داد که DOTAP از دو مورد دیگر مؤثرتر است (۴۹). به علاوه، استفاده از لیپوزوم‌ها به عنوان ادجوانت در توسعه واکسن‌ها بسیار کاربرد داشته است که عمدتاً از لیپوزوم‌های کاتیونی به عنوان ادجوانت برای حمل آنتی‌ژن‌ها و DNA استفاده شده است (۵۰).

لیپوزوم‌های متصل شونده به پپتید

در مطالعه‌ای اثر افزایش جذب لیپوزوم‌های آمفوتریسین B متصل به tuftsins در مدل حیوانی همستر در مقایسه با فرمولاسیون لیپوزومی آمفوتریسین B بررسی شد. Tuftsins یک تتراپپتید از ترئونین-پروлін-لیزین-آرژنین بوده و به خوبی به سطح لیپوزوم‌ها متصل شده و به طور مؤثری سبب تغییر توزیع زیستی آن‌ها در اندام‌های غنی از ماکروفاژ در حیوان آلوده

آن به حدی بود که عوامل طبیعی همچون پپیرین، andrographolide و سایر عوامل گیاهی طب هندی در مدل لیشمانیوز همستر بررسی شد. در همه این موارد، سیستم‌های لیپوزومی حاوی مانوز بالاترین اثربخشی را در کاهش بار انگل، بیش‌تر در طحال و سمیت کم‌تر در مقایسه با داروی آزاد و داروی لیپوزومی نشان داد (۴۴).

پتانسیل لیپوزوم‌های متصل به نوگلیکوپروتئین در بهبود هدفمندسازی hamycin به ماکروفاژهای آلوده به انگل بررسی شده است. نتایج نشان داده است که فرم هدفمند hamycin لیپوزومی، آماستیگوت‌های داخل سلولی را به ترتیب، ۱/۵ تا ۱۰ برابر بیش‌تر از اشکال لیپوزومی و داروی آزاد حذف می‌کند. به علاوه، لیپوزوم‌های حاوی لیگاند در این ساختار توانایی حذف کامل انگل را از طحال داشتند. در حالی که لیپوزوم‌های غیر کوئزوگه اثربخشی نسبی داشتند (۴۵). اگرچه اتصال مانوز و نوگلیکوپروتئین به لیپوزوم‌ها کارایی بالایی دارد، پیچیدگی‌های ساخت لیپوزوم‌های کوئزوگه با این ترکیبات، استفاده از آن‌ها را محدود می‌کند. برای غلبه بر این مشکل، basu و همکاران استفاده از لیپوزوم‌های حاوی گلیکوزیدهای گیاهی را برای درمان لیشمانیوز پیشنهاد دادند که در آن، جزء بدون قند گلیکوزید در ماتریکس لپیدی پنهان شده است و در دسترس نیست و جزء قندی از سطح لیپوزوم بیرون زده است و به عنوان لیگاند برای اتصال به گیرنده‌های سطح ماکروفاژ عمل می‌کنند (۴۶).

در مطالعه دیگری، Rathore و همکاران ثابت کردند که لیپوزوم‌های مانوزیله شده سبب کاهش حداکثری در بار انگلی می‌شوند. مطالعات توزیع زیستی به طور واضح نشان می‌دهد که جذب لیپوزوم‌های مانوزیله شده در کبد و طحال بالاتر بوده و دارورسانی هدفمند به سیستم رتیکولاندوتلیال سبب حمله مستقیم دارو به جایگاه‌هایی می‌شود که انگل در آنجا مستقر است و از نفوذ داروها به سایر اندام‌ها جلوگیری کرده و سمیت دارو را کاهش می‌دهد (۴۲).

می‌شود. می‌توان گفت که جذب بالاتر فرمولاسیون لیپوزومی هدفمند این دارو به خاطر افزایش تحمل دارو (drug tolerance) و همچنین افزایش جذب داروی لیپوزومی هدفمند توسط اندام‌های غنی از ماکروفاژ در موش‌های آلوده است (۵۱).

در مطالعه دیگری، Basu و همکاران پتانسیل پتیدهای دارای خاصیت کموتاکسی همچون f-Met-leu-phe (fMLP) را بررسی کردند. سطح لیپوزوم‌ها را با این پتیدها پوشاندند و مدل لیشمانیوز احشایی را مورد مطالعه قرار دادند. همانند سایر مطالعات داروهای هدفمند، لیپوزوم‌های حاوی primaquine دارای fMLP به طور مؤثری دارای اثربخشی بیش‌تر و سمیت کم‌تر نسبت به داروی آزاد و لیپوزوم‌های بدون لیگاند بودند. به علاوه، لیپوزوم‌های گرفته شده با پتید، نه تنها قادر به هدفمندسازی بهتر دارو به ماکروفاژها بوده، بلکه آن‌ها قادر هستند فرایند انفجار تنفسی ماکروفاژها را که منجر به از بین بردن غیراختصاصی پاتوژن‌ها می‌شود نیز پیش ببرند که این فرایند منجر به فعالیت افزایش یافته آن‌ها می‌شود (۵۲).

ایمونولیپوزوم‌ها

ایمونولیپوزوم‌ها کاندید مناسبی برای درمان لیشمانیوز هستند؛ زیرا سطح ماکروفاژها حاوی گیرنده‌های FC بوده که قادرند به بخش FC آنتی‌بادی‌ها، به عنوان مثال ایمونوگلوبولین G (IgG)، متصل شوند؛ بنابراین، هنگام استفاده از آنتی‌بادی‌ها در سطح لیپوزوم‌های حاوی دارو، بهبود در هدفمندسازی ماکروفاژها مشاهده می‌شود و اثرات آنتی‌لیشمانیایی آن‌ها افزایش می‌یابد (۵۳). Dasgupta و همکاران اثربخشی لیپوزوم‌های متصل به IgG را بدون هیچ دارویی در درمان لیشمانیوز احشایی بررسی کردند. نتایج نشان داد که لیپوزوم‌های متصل به IgG، ۲ تا ۳ برابر اثربخشی بالاتری نسبت به ایمونوگلوبولین آزاد و لیپوزوم‌های غیرمتصل در پاک‌سازی گونه‌های مختلف لیشمانیا دونوانی از ماکروفاژها داشتند. این بهبود

اثربخشی مشاهده شده عمدتاً به خاطر هدفمندسازی با واسطه گیرنده‌های FC است (۵۴).

در مطالعه دیگری، Mokhrejee و همکاران اثربخشی فرم لیپوزومی دوکسوروبیسین را در درمان لیشمانیوز احشایی بررسی کردند، یکی از فرمولاسیون‌های آن‌ها دارای آنتی‌بادی اختصاصی علیه لیشمانیا بود. به طور شگفت‌آوری، داروهای لیپوزومی متصل به آنتی‌بادی کارایی بالاتر و سمیت کم‌تر نسبت به داروی آزاد و دوکسوروبیسین داشتند (۵۵).

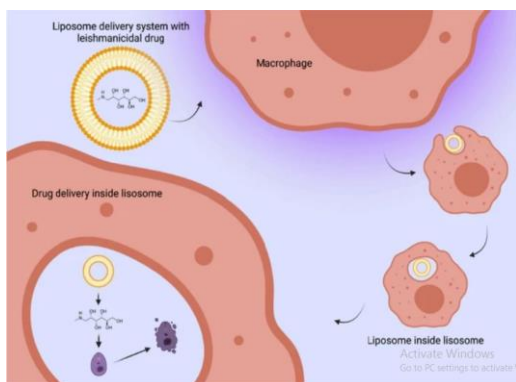
آرسنولیپوزوم‌ها

آرسنولیپوزوم‌ها حامل‌های وزیکولی تشکیل شده از آرسنولیپیدها و دیگر اجزای تشکیل دهنده لیپید هستند. آرسنولیپیدها آنالوگ‌های لیپیدهای خنثی همچون مونوگلیسریدها، گلیکولیپیدها و فسفولیپیدها هستند که حاوی پیوندهای کووالان متصل شونده به آرسنیک هستند. این ترکیبات در میکروارگانیزم‌ها، قارچ‌ها، گیاهان، لیس‌ها، نرم‌تنان دریایی، اسفنج‌ها و دیگر بی‌مهرگان یافت می‌شود. اگرچه آرسنولیپیدها نخست به خاطر کاربردهای ضد سرطانی‌شان مطالعه شدند، کارایی آن‌ها در درمان لیشمانیوز به تازگی مورد توجه قرار گرفته است (۵۶).

لیشمانیا و ماکروفاژ

ماکروفاژها علاوه بر عمل فاگوسیتوز ساده، به عنوان سلول‌های پردازش‌کننده که امکان ارائه مناسب آنتی‌ژن‌های خاص به سیستم ایمنی را مقدور می‌سازند، مطرح هستند. هم‌چنین، ماکروفاژهای فعال شده به صورت فعال در کشتن سلول‌های ناخواسته همچون باکتری‌ها، انگل‌ها و سلول‌های توموری نقش دارند. ماکروفاژها عامل دفاع طبیعی اصلی در مقابل بسیاری از بیماری‌های عفونی هستند. به علاوه، ارگانیزم‌های خاصی مثل لیشمانیا نمی‌توانند مدت زمان طولانی خارج از ماکروفاژها زندگی کنند (۵۶).

رسانش لیپوزوم‌های حاوی دارو به کبد به خاطر گرایش ماکروفاژهای کبد و طحال به تجمع لیپوزوم‌های تزریقی این فرضیه را مطرح کرد که داروهای ضد لیشمانیا که در لیپوزوم‌ها کپسوله شده‌اند، ممکن است با غلط‌های بالاتر نسبت به داروهای کپسوله نشده در بافت‌های حیوانات آلوده به انگل تجمع یابند. تحت شرایط گفته شده، غلظت داروی کپسوله شده در محیط کبد نسبت به داروی آزاد برای مدت‌زمان حدود ۱۰ روز بالاتر باقی می‌ماند. مطالعات زیادی در مورد آنتیموان رادیولیل شده و کپسوله شده در لیپوزوم انجام شده است. شواهد نشان می‌دهد که تجمع داروی آنتیموان ۵ ظرفیتی در کبد کافی نیست که این ممکن است به خاطر دفع کلیوی داروی آزاد باشد (۵۹).



تصویر شماره ۳: مکانیسم اثر لیپوزوم‌های حاوی دارو بر ماکروفاژها: انگل لیشمانیا ماکروفاژها را آلوده می‌کند، لیپوزوم حاوی داروی ضد لیشمانیا با اندوسیتوز جذب ماکروفاژ می‌شود. در ادامه لیپوزوم، لیپوزوم را جذب می‌کند. به این ترتیب، دارو در مجاورت انگل قرار می‌گیرد (۵۸).

لیپوزوم‌ها هم جهت کپسوله کردن داروهای محلول در آب و هم محلول در چربی استفاده می‌شوند. یکی از این داروها 8-aminoquinoline است که WR6026 نام دارد و یکی از مؤثرترین داروهای ضد لیشمانیا است که توسط ارتش ایالات متحده استفاده شده است. داروی مذکور و پریماکوتین یک ویژگی مشخصی دارند که حلالیت دوگانه آن‌هاست؛ زیرا هم در آب و هم در لیپیدها حل می‌شوند. اعتقاد بر آن است

آنالیز کبد و طحال در لیشمانیوز احشایی نشان می‌دهد که همه ارگان‌های لیشمانیا داخل ماکروفاژها مستقر هستند. می‌توان گفت که یک رابطه انگلی بین لیشمانیوز و ماکروفاژ ایجاد می‌شود و در این وضعیت، ارگان‌های برهم کنش‌های داخل سلولی با میزبان (ماکروفاژ) ایجاد می‌کند. بیش‌تر ارگان‌های در واکوئل‌های پارازیتوفور قرار دارند. تصاویر میکروسکوپی الکترونی نشان می‌دهد که واکوئل‌های پارازیتوفوری بیش‌تر با لیپوزوم‌ها الحاق می‌شوند. پر واضح است که انگل‌ها نسبت به هر گونه عوارض جانبی که در اثر مواجهه با آن‌ها لیپوزوم‌های لیپوزومی ممکن است ایجاد شوند، نفوذناپذیر هستند. حتی برخی از مطالعات می‌گویند که محتوای لیپوزومی به عنوان یک منبع تغذیه توسط انگل مصرف می‌شوند (۵۶).

جایگاه داخل سلولی لیپوزوم‌ها در مقایسه با انگل‌ها مطالعات میکروسکوپی نشان می‌دهد که یک مسیر مشابه توسط لیپوزوم‌ها ممکن است آن‌ها را در تماس نزدیک با انگل لیشمانیا قرار دهد. در ابتدا، لیپوزوم‌ها از طریق فاگوزوم وارد ماکروفاژ می‌شوند، سپس فاگوزوم با لیپوزوم الحاق می‌شود. سوم اینکه لیپوزوم‌های حاوی لیپوزوم، به واکوئل‌های پارازیتوفوری متصل می‌شوند و لیپوزوم‌ها را در فاصله نزدیک در تماس با انگل قرار می‌دهند. در ادامه، لیپوزوم‌ها داروی کپسوله شده در خود را به طور مستقیم در مجاورت انگل آزاد می‌کنند که منجر به مرگ انگل می‌شود. یا اینکه لیپوزوم‌ها توسط انگل بلعیده می‌شوند که احتمالاً این کار از طریق اندوسیتوز انجام می‌شود (۵۷). واضح است که انگل نیز لیپوزوم دارد؛ بنابراین، این فرایند خارق‌العاده هدفمندسازی داخل سلولی/داخل سلولی اتفاق می‌افتد که ممکن است یک مثالی از جذب لیپوزوم‌های حاوی دارو با فرایند جذب لیپوزوم‌های ترپیک/لیپوزوم‌های ترپیک باشد (تصویر شماره ۳).

که جذب این دارو توسط دولایه لیپیدی ماکروفاژها و انتقال دارو به فضای آبی سیتوپلاسم سلول تا حدودی مسئول فعالیت ضد لیشمانیایی افزایش یافته این دارو در شرایط درون تنی است. این احتمال وجود دارد که پس از آنکه لیپوزومها فاگوسیتوز می شوند و به واکوئل پارازیتوفور وارد می شوند، انتقال آهسته این دارو از دولایه لیپیدی به دولایه های انگل مجاور آن اتفاق بیفتد. با وجود مکانیسم گفته شده، داروی همراه با لیپوزوم اثربخشی بالاتری از داروی آزاد دارد (۶۰).

اثرات داروهای کپسوله شده در لیپوزوم در درمان لیشمانیوز پوستی

شکل پوستی لیشمانیوز به شکل احشایی آن شبیه است، از این نظر که انگل تقریباً به طور کامل درون ماکروفاژهای بافتی پوست قرار دارد. تمامی مکانیسم های برهم کنش واکوئل پارازیتوفوری و لیپوزوم در ماکروفاژهای پوست، مشابه ماکروفاژهای کبدی اتفاق می افتد. مطالعات توزیع بافتی لیپوزومها عمدتاً پوست را در نظر نمی گیرند؛ اما مطالعاتی که این بافت را بررسی کرده اند، نشان می دهند که لیپوزومها توسط پوست جذب می شوند. اگرچه شمار لیپوزومهای رسوب کرده یا قرار گرفته در پوست برای مدت زمانی طولانی بسیار کم تر از مقادیر تجمع یافته در کبد یا طحال است، تعداد ماکروفاژهای پوست نیز به نسبت بسیار کم تر است. جذب لیپوزومها توسط پوست عمدتاً از طریق ماکروفاژها رخ می دهد و بنابراین، تعجب آور نیست که لیشمانیوز پوستی نیز به درمان با داروهای کپسوله شده در لیپوزوم حساس باشد (۶۱).

داروهای لیپوزومی در درمان موضعی لیشمانیوز پوستی

در طی دهه گذشته، تلاش های زیادی در جهت توسعه فرمولاسیون های لیپوزومی موضعی در درمان لیشمانیوز پوستی صورت گرفته است. این روش تجویز مزیت های زیادی نسبت به روش های رایج تزریقی دارد.

با وجود این، یک چالش اصلی وجود داشته است: وجود هتروژنیتی بافتی در محل ضایعه. به گونه ای که برخی از قسمت های پوست سالم است و در بعضی قسمت ها مانع پوستی وجود ندارد و به طور پیوسته، محیط تغییر می کند (۶۲).

سمیت داروهای ضد لیشمانیای کپسوله شده در لیپوزوم یک دلیل ابتدایی برای استفاده از لیپوزومها به عنوان حاملان دارو در درمان لیشمانیوز، این امید است که سمیت دارو ممکن است کاهش پیدا کند. این کاهش سمیت هم با هدفمندسازی اختصاصی دارو و هم با کاهش دوز داروی مورد نیاز اتفاق می افتد. به طور واضح، سمیت دارویی به بافت هایی همچون قلب و حتی کلیه با هدفمند کردن لیپوزومها کاهش می یابد (۶۳).

در پایان می توان نتیجه گرفت که با وجود اهمیت جهانی لیشمانیوز توجه به این بیماری از طرف شرکت های دارویی بسیار کم است. علت آن پیچیدگی عفونت انگلی و کم بودن مشوق های مالی است. استفاده از سیستم های دارورسانی نقش حیاتی را در مدیریت مؤثر عوامل ضد انگلی رایج و نوظهور ایجاد می کند. هم چنین، این رویه باعث افزایش اختصاصی و کاهش عوارض جانبی آنها می شود.

در میان حامل های کلئیدی مختلف، استفاده از لیپوزومها پتانسیل بالایی را در بهبود کارایی و تحمل پذیری عوامل و داروهای ضد لیشمانیا ایجاد کرده است. مزایایی همچون فراهمی زیستی، تخریب پذیری زیستی، غیرسمی بودن، ماهیت غیرایمونوژن، سهولت تجویز و امکان رهایش کنترل شده، لیپوزومها را در درمان لیشمانیا بسیار توانمند ساخته است؛ اما با وجود تحقیقات گسترده، درمان لیشمانیا در انسان با استفاده از لیپوزومها همچنان موفقیت چندانی نداشته است. تنها فرمولاسیون تجاری شده موفق آمیزوم بوده که اثربخشی آن اثبات شده است.

در مجموع، پیشرفت های فعلی در تحقیقات روی تکنولوژی های تهیه لیپوزومها و استفاده از ادجوانتها در بهبود هدفمندسازی لیپوزومها (پپتیدها، قندها و

سپاسگزاری

این مطالعه حاصل طرح تحقیقاتی مصوب دانشگاه علوم پزشکی مازندران با کد ۱۸۹۲۷ است. به این وسیله از همکاران معاونت تحقیقات و فناوری سپاسگزاری می‌گردد.

لیپیدهای دارای بار مثبت) منجر به توسعه فرمولاسیون‌های بهتر در درمان لیشمانیا می‌شود. استفاده از داده‌های مطالعات سلولی و مولکولی لیشمانیا و گسترش تحقیقات هدفمند در این حوزه راه را برای استفاده از ترکیبات لیپوزومی هدفمند برای این انگل درون سلولی هموار می‌سازد.

References

1. Mohebbali M, Edrissian GH, Shirzadi MR, Akhouni B, Hajjaran H, Zarei Z, et al. An observational study on the current distribution of visceral leishmaniasis in different geographical zones of Iran and implication to health policy. *Travel Med Infect Dis* 2011; 9(2): 67-74.
2. Soosaraei M, Khasseh AA, Fakhar M, Hezarjaribi HZ. A decade bibliometric analysis of global research on leishmaniasis in Web of Science database. *Ann Med Surg (Lond)* 2018; 26: 30-37.
3. Monzote L. Current treatment of leishmaniasis: a review. *The Open Antimicrobial Agents Journal* 2009; 1: 9-19.
4. Akhtari J, Faridnia R, Kalani H, Bastani R, Fakhar M, Rezvan H, et al. Potent in vitro antileishmanial activity of a nanoformulation of cisplatin with carbon nanotubes against *Leishmania major*. *J Glob Antimicrob Resist* 2019; 16: 11-16.
5. Faridnia R, Kalani H, Fakhar M, Akhtari J. Investigating in vitro anti-leishmanial effects of silibinin and silymarin on *Leishmania major*. *Ann Parasitol* 2018; 64(1): 29-35.
6. Keighobadi M, Akhtari J, Fakhar M, Emami S, Mirzaei H. An overview on anticancer drugs with antileishmanial activity. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2018; 28(161): 154-165 (Persain).
7. Shokri A, Akhtari J, Keighobadi M, Fakhar M, Teshnizi SH, Emami S, et al. Promising antileishmanial effectiveness of doxorubicin and Doxil against *Leishmania major*: An in vitro assay. *Asian Pac J Trop Med* 2017; 10(6): 544-548.
8. Shaw C, Carter K. Drug delivery: lessons to be learnt from *Leishmania* studies. *Nanomedicine* 2014; 9(10): 1531-1544.
9. Asadi P, Mehravaran A, Soltanloo N, Abastabar M, Akhtari J. Nanoliposome-loaded antifungal drugs for dermal administration: A review. *Curr Med Mycol* 2021; 7(1): 71-78.
10. Osanloo M, Assadpour S, Mehravaran A, Abastabar M, Akhtari J. Niosome-loaded antifungal drugs as an effective nanocarrier system: A mini review. *Curr Med Mycol* 2018; 4(4): 31.
11. Asfaram S, Fakhar M, Keighobadi M, Akhtari J. Promising anti-protozoan activities of propolis (bee glue) as natural product: A review. *Acta Parasitol* 2021; 66(1): 1-12.
12. Akhtari J, Rezayat SM, Teymouri M, Alavizadeh SH, Gheybi F, Badiee A, et al. Targeting, bio distributive and tumor growth inhibiting characterization of anti-HER2 affibody coupling to liposomal doxorubicin using BALB/c mice bearing TUBO tumors. *Int J Pharm* 2016; 505(1-2): 89-95.
13. Mohammadi H, Akhtari J, Assadpour S, Kamali M, Ebrahimnejad P. Synthesis and Characterization of Deferasirox PLGA

- Nanoparticles and Investigation of Toxicity in Cell Model. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2022; 32(214): 65-76 (Persian).
14. Chabra A, Rahimi-Esboei B, Habibi E, Monadi T, Azadbakht M, Elmi T, et al. Effects of some natural products from fungal and herbal sources on *Giardia lamblia* in vivo. *Parasitology* 2019; 146(9): 1188-1198.
 15. Gutiérrez V, Seabra AB, Reguera RM, Khandare J, Calderón M. New approaches from nanomedicine for treating leishmaniasis. *Chem Soc Rev* 2016; 45(1): 152-168.
 16. Adinolfi LE, Bonventre P, Vander Pas M, Eppstein D. Synergistic effect of glucantime and a liposome-encapsulated muramyl dipeptide analog in therapy of experimental visceral leishmaniasis. *Infect Immun* 1985; 48(2): 409-416.
 17. Corral M, González-Sánchez E, Cuquerella M, Alunda J. In vitro synergistic effect of amphotericin B and allicin on *Leishmania donovani* and *L. infantum*. *Antimicrob Agents Chemother* 2014; 58(3): 1596-1602.
 18. Dar MJ, Din FU, Khan GM. Sodium stibogluconate loaded nano-deformable liposomes for topical treatment of leishmaniasis: macrophage as a target cell. *Drug Deliv* 2018; 25(1): 1595-1606.
 19. Moosavian SA, Abnous K, Akhtari J, Arabi L, Gholamzadeh Dewin A, Jafari M. 5TR1 aptamer-PEGylated liposomal doxorubicin enhances cellular uptake and suppresses tumour growth by targeting MUC1 on the surface of cancer cells. *Artif Cells Nanomed Biotechnol* 2018; 46(8): 2054-2065.
 20. Smith MC, Crist RM, Clogston JD, McNeil SE. Zeta potential: a case study of cationic, anionic, and neutral liposomes. *Anal Bioanal Chem* 2017; 409(24): 5779-5787.
 21. Assadpour S, Shiran MR, Akhtari J. Chitosan coating of anionic liposomes containing sumatriptan succinate: a candidate for nasal administration. *Nanomedicine Journal* 2021; 8(2): 132-139.
 22. Makvandi P, Ghomi M, Ashrafizadeh M, Tafazoli A, Agarwal T, Delfi M, et al. A review on advances in graphene-derivative/polysaccharide bionanocomposites: Therapeutics, pharmacogenomics and toxicity. *Carbohydr Polym* 2020; 250: 116952.
 23. Mehravaran A, Nasab MR, Mirahmadi H, Sharifi I, Alijani E, Nikpoor AR, et al. Immunogenicity and protection effects of cationic liposome containing imiquimod adjuvant on leishmaniasis in BALB/c mice. *Iran J Basic Med Sci* 2019; 22(8): 922-931.
 24. Gil C, Martinez A. Is drug repurposing really the future of drug discovery or is new innovation truly the way forward? *Expert Opin Drug Discov* 2021; 16(8): 829-831.
 25. Teymouri M, Badiie A, Golmohammadzadeh S, Sadri K, Akhtari J, Mellat M, et al. Tat peptide and hexadecylphosphocholine introduction into pegylated liposomal doxorubicin: An in vitro and in vivo study on drug cellular delivery, release, biodistribution and antitumor activity. *Int J Pharm* 2016; 511(1): 236-244.
 26. Akhtari J, Tafazoli A, Mehrad-Majd H, Mahrooz A. Nanovehicle-based Small Interfering RNA (siRNA) Delivery for Therapeutic Purposes: A New Molecular Approach in Pharmacogenomics. *Curr Clin Pharmacol* 2018; 13(3): 173-182.
 27. Moosavian SA, Fallah M, Jaafari MR. The activity of encapsulated meglumine antimoniate in stearylamine-bearing liposomes against cutaneous leishmaniasis in BALB/c mice. *Exp Parasitol* 2019; 200: 30-35.
 28. Lanza JS, Pomel S, Loiseau PM, Frézard F.

- Recent advances in amphotericin B delivery strategies for the treatment of leishmaniasis. *Expert Opin Drug Deliv* 2019; 16(10): 1063-1079.
29. Leenders A, de Marie S, Ten Kate M, Bakker-Woudenberg I, Verbrugh H. Liposomal amphotericin B (AmBisome) reduces dissemination of infection ad compared with amphotericin B deoxycholate (Fungizone) in a rat model of pulmonary aspergillosis. *J Antimicrob Chemother* 1996; 38(2): 215-225.
 30. Stevens DA. Overview of amphotericin B colloidal dispersion (Amphocil). *J Infect* 1994; 28: 45-49.
 31. Adler-Moore J, Proffitt RT. AmBisome: liposomal formulation, structure, mechanism of action and pre-clinical experience. *J Antimicrob Chemother* 2002; 49(Suppl_1): 21-30.
 32. Schrank MA. Leishmaniasis through the lens of the host. *Bios* 2020; 91(4): 258-263.
 33. Matos A, Viçosa A, Ré M-I, Ricci-Júnior E, Holandino C. A review of current treatments strategies based on paromomycin for leishmaniasis. *Journal of Drug Delivery Science and Technology* 2020; 57: 101664.
 34. Berman J. Amphotericin B formulations and other drugs for visceral leishmaniasis. *Am J Trop Med Hyg* 2015; 92(3): 471-473.
 35. Higa LH, Arnal L, Vermeulen M, Perez AP, Schilrreff P, Mundiña-Weilenmann C, et al . Ultradeformable Archaeosomes for Needle Free Nanovaccination with Leishmania braziliensis Antigens. *PloS one* 2016; 11(3): e0150185.
 36. Patere SN, Pathak PO, Kumar Shukla A, Singh RK, Kumar Dubey V, Mehta MJ, et al. Surface-Modified Liposomal Formulation of Amphotericin B: In vitro Evaluation of Potential Against Visceral Leishmaniasis. *AAPS PharmSciTech* 2017; 18(3): 710-720.
 37. Reimão JQ, Colombo FA, Pereira-Chioccia VL, Tempone AG. Effectiveness of liposomal buparvaquone in an experimental hamster model of Leishmania (L.) infantum chagasi. *Exp Parasitol* 2012; 130(3): 195-199.
 38. Sarkar S, Mandal S, Sinha J, Mukhopadhyay S, Das N, Basu MK. Quercetin: critical evaluation as an antileishmanial agent in vivo in hamsters using different vesicular delivery modes. *J Drug Target* 2002; 10(8): 573-578.
 39. Cauchetier E, Paul M, Rivollet D, Fessi H, Astier A, Deniau M. Therapeutic evaluation of free and liposome-encapsulated atovaquone in the treatment of murine leishmaniasis. *Int J Parasitol* 2000; 30(6): 777-783.
 40. Voak AA, Harris A, Coteron-Lopez JM, Angulo-Barturen I, Ferrer-Bazaga S, Croft SL, et al. Pharmacokinetic/pharmacodynamic relationships of liposomal amphotericin B and miltefosine in experimental visceral leishmaniasis. *PLoS Negl Trop Dis* 2021; 15(3): e0009013.
 41. Lopes SC, Silva RA, Novais MV, Coelho LD, Ferreira LA, Souza PE, et al. Topical photodynamic therapy with chloroaluminum phthalocyanine liposomes is as effective as systemic pentavalent antimony in the treatment of experimental cutaneous leishmaniasis. *Photodiagnosis Photodyn Ther* 2019; 28: 210-215.
 42. Rathore A, Jain A, Gulbake A, Shilpi S, Khare P, Jain A, et al. Mannosylated liposomes bearing Amphotericin B for effective management of visceral Leishmaniasis. *J Liposome Res* 2011; 21(4): 333-340.
 43. Das N, Mahato SB, Naskar K, Ghosh DK, Basu MK. Targeting of urea stibamine encapsulated in liposomes to reticuloendothelial

- system for the treatment of experimental leishmaniasis. *Biochemical medicine and metabolic biology. Biochem Med Metab Biol* 1990; 43(2): 133-139.
44. Sinha J, Mukhopadhyay S, Das N, Basu MK. Targeting of liposomal andrographolide to *L. donovani*-infected macrophages in vivo. *Drug Deliv* 2000; 7(4): 209-13.
 45. Kole L, Sakar K, Mahato SB, Das PK. Neoglycoprotein conjugated liposomes as macrophage specific drug carrier in the therapy of leishmaniasis. *Biochem Biophys Res Commun* 1994; 200(1): 351-8.
 46. Medda S, Das N, Bachhawat BK, Mahato SB, Basu MK. Targeting of plant glycoside-bearing liposomes to specific cellular and subcellular sites. *Biotechnol Appl Biochem* 1990; 12(5): 537-543.
 47. Chakraborty R, Dasgupta D, Adhya S, Basu MK. Cationic liposome-encapsulated antisense oligonucleotide mediates efficient killing of intracellular *Leishmania*. *Biochem J* 1999; 340(Pt 2)(Pt 2): 393-396.
 48. Afrin F, Dey T, Anam K, Ali N. Leishmanicidal activity of stearylamine-bearing liposomes in vitro. *J Parasitol* 2001; 87(1): 188-193.
 49. Dasgupta D, Adhya S, Basu MK. The effect of beta-tubulin-specific antisense oligonucleotide encapsulated in different cationic liposomes on the suppression [correction of suppression] of intracellular *L. donovani* parasites in vitro. *J Biochem* 2002; 132(1): 23-27.
 50. Mehravaran A, Nasab MR, Mirahmadi H, Sharifi I, Alijani E, Nikpoor AR, et al. Protection induced by *Leishmania* Major antigens and the imiquimod adjuvant encapsulated on liposomes in experimental cutaneous leishmaniasis. *Infect Genet Evol* 2019; 70: 27-35.
 51. Khan MA, Owais M. Toxicity, stability and pharmacokinetics of amphotericin B in immunomodulator tuftsin-bearing liposomes in a murine model. *J Antimicrob Chemother* 2006; 58(1): 125-132.
 52. Banerjee G, Medda S, Basu MK. A novel peptide-grafted liposomal delivery system targeted to macrophages. *Antimicrob Agents Chemother* 1998; 42(2): 348-51.
 53. Eskandari F, Talesh GA, Parooie M, Jaafari MR, Khamesipour A, Saberi Z, et al. Immunoliposomes containing Soluble *Leishmania* Antigens (SLA) as a novel antigen delivery system in murine model of leishmaniasis. *Exp Parasitol*. 2014; 146: 78-86.
 54. Ghosh AK, Dasgupta S, Ghose AC. Immunoglobulin G subclass-specific antileishmanial antibody responses in Indian kala-azar and post-kala-azar dermal leishmaniasis. *Clin Diagn Lab Immunol* 1995; 2(3): 291-296.
 55. Mukherjee S, Das L, Kole L, Karmakar S, Datta N, Das PK. Targeting of parasite-specific immunoliposome-encapsulated doxorubicin in the treatment of experimental visceral leishmaniasis. *J Infect Dis* 2004; 189(6): 1024-1034.
 56. Durán N, Marcato PD, Teixeira Z, Durán M, Costa FTM, Brocchi M. State of the art of nanobiotechnology applications in neglected diseases. *Current Nanoscience* 2009; 5(4): 396-408.
 57. Weldon JS, Munnell JF, Hanson WL, Alving CR. Liposomal chemotherapy in visceral leishmaniasis: an ultrastructural study of an intracellular pathway. *Z Parasitenkd* 1983; 69(4): 415-424.
 58. Tuon FF, Dantas LR, de Souza RM, Ribeiro

- VST, Amato VS. Liposomal drug delivery systems for the treatment of leishmaniasis. *Parasitol Res* 2022; 121(11): 3073-82.
59. Borborema SET, Osso Junior JA, Tempone AG, de Andrade Junior HF, do Nascimento N. Pharmacokinetic of meglumine antimoniate encapsulated in phosphatidylserine-liposomes in mice model: A candidate formulation for visceral leishmaniasis. *Biomed Pharmacother* 2018; 103: 1609-1616.
60. Sangraula H, Sharma KK, Rijal S, Dwivedi S, Koirala S. Orally effective drugs for kala-azar (visceral leishmaniasis): focus on miltefosine and sitamaquine. *J Assoc Physicians India* 2003; 51: 686-690.
61. Shirzadi MR. Liposomal amphotericin B: a review of its properties, function, and use for treatment of cutaneous leishmaniasis. *Res Rep Trop Med* 2019; 10: 11-18.
62. Minodier P, Parola P. Cutaneous leishmaniasis treatment. *Travel Med Infect Dis* 2007; 5(3): 150-158.
63. Chakravarty J, Sundar S. Current and emerging medications for the treatment of leishmaniasis. *Expert Opin Pharmacother* 2019; 20(10): 1251-1265.