ORIGINAL ARTICLE

Design and Synthesis of a Highly Efficient Niosomal Drug Delivery System for Berberine Delivery to Osteosarcoma Cell Line (Saos-2)

Mohammad Javad Pourmahmoudian[1],
Seyed Mahdi Kalantar[2],
Bibi Fatemeh Haghiralsadat[3]

[1] MSc in Biotechnology, Department of Genetics, School of Medicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran
[2] Professor, Department of Genetics, School of Medicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran
[3] Assistant Professor, Department of Advanced Medical Sciences and Technologies, School of Paramedicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

(Received June 22, 2021 ; Accepted September 11, 2021)

Abstract

Background and purpose: Osteosarcoma, as the most common bone cancer has not shown considerable response to current chemotherapy drugs. New nanotechnology-based drug delivery systems seems to be promising in cancer treatment. The aim of this study was to design and synthesize a niosomal nano-carrier for drug delivery of berberine to Saos-2 cell line, as a model of osteosarcoma.

Materials and methods: Different niosome formulations composed of cholesterol (25%) and different surfactants (75%) were prepared using thin film method. The resulting niosome with optimal properties was pegylated by adding 5% of DSPE-mPEG2000. Finally, the cytotoxicity of free form of berberine and berberine-containing pegylated niosome in normal fibroblast cell line (HFF) and Saos-2 cell line were evaluated by MTT assay.

Results: The niosome made of cholesterol (25%) and Tween 60 (75%) showed the highest drug loading and release rate and was selected as the optimal formulation. Findings showed that the optimized pegylated niosome had high loading efficiency and controlled drug release (79.34% and 66.79%, respectively). Finally, MTT assay showed that the berberine-containing pegylated niosome had more toxicity in Saos-2 cell line than the free form of the drug.

Conclusion: The synthesized niosomal nano-carrier had desirable properties such as high loading efficiency and controlled drug release, which can be used as a favorable drug delivery system with low toxicity and high delivery efficiency in order to increase the effect of the drug while reducing its dose.

Keywords: nano-carrier, niosome, osteosarcoma, drug delivery, berberine, bone cancer

J Mazandaran Univ Med Sci 2021; 31 (202): 25-37 (Persian).

* **Corresponding Author: Bibi Fatemeh Haghiralsadat -** School of Paramedicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran (E-mail: Fhaghirosadat@gmail.com)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-13]

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره سی و یکم شماره 202 آبان سال 1400 (37-25)

طراحی و ساخت یک سیستم دارورسانی کارآمد بر پایه نانو حامل‌های نیوزومی جهت انتقال بربرین به رده سلولی استئوسارکوما (Saos-2)

محمد جواد پورمحمودیان[1]
سید مهدی کلانتر[2]
بی بی فاطمه حقیرالسادات[3]

چکیده

سابقه و هدف: درمان استئوسارکوما، به عنوان شایع‌ترین سرطان استخوان با استفاده از داروهای شیمی‌درمانی پاسخ موفق چشمگیری را نشان نداده است. سیستم‌های نوین دارورسانی مبتنی بر نانوفناوری، یک استراتژی امیدوارکننده در درمان سرطان را نوید می‌دهند. هدف از مطالعه حاضر ساخت نانوسامانه نیوزومی جهت دارورسانی بربرین به رده سلولی Saos-2 به‌عنوان مدلی از استئوسارکوما بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی آزمایشگاهی، فرمولاسیون‌های مختلف نیوزومی با نسبت کلسترول (25درصد) و سورفکتانت‌های مختلف (75 درصد) از طریق روش فیلم نازک تهیه شدند. نانوسامانه حاصل با ویژگی‌های بهینه، از طریق افزودن 5 درصد از DSPE-mPEG2000 به فرمولاسیون بهینه، پگیله شد. در نهایت اثر سمیت سلولی فرم آزاد بربرین و نانوسامانه نیوزومی پگیله حاوی بربرین در رده سلولی فیبروبلاست نرمال (HFF) و رده سلولی (Saos-2) با استفاده از آزمون MTT ارزیابی شد.

یافته‌ها: نانوسامانه نیوزومی ساخته شده با نسبت کلسترول (25 درصد)-Tween 60 (75 درصد) بیش‌ترین میزان بارگذاری و رهایش دارو را از خود نشان داد و به عنوان فرمولاسیون بهینه انتخاب شد. نتایج حاصل نشان داد نانوسامانه بهینه نیوزومی پگیله‌شده کارایی بارگذاری و رهایش دارو به ترتیب 79/34 و 66/79 درصد دارد. در نهایت، براساس نتایج آزمون MTT، نانوسامانه حاوی بربرین اثر سمیت بیش تری نسبت به فرم آزد دارو در رده سلولی Saos-2 داشته است.

استنتاج: در مطالعه حاضر، نانوسامانه ساخته شده دارای خصوصیات مطلوبی همچون بارگذاری بالا و رهایش کنترل‌شده دارو بود که می‌توان از آن به‌عنوان یک سیستم دارورسانی مطلوب با سمیت کم و کارایی بالا، جهت افزایش اثر دارو در کنار کاهش دوز آن در دیگر مطالعات و پژوهش‌ها استفاده کرد.

واژه های کلیدی: نانوسامانه، نیوزوم، استئوسارکوما، دارورسانی، بربرین، سرطان استخوان

مقدمه

استئوسارکوما شایع‌ترین تومور بدخیم استخوانی اولیه در کودکان و نوجوانان می‌باشد و به‌طورمیانگین 60 درصد از تومورهای بدخیم استخوانی اولیه را که در دو دهه اول زندگی افراد تشخیص داده شده را تشکیل می‌دهد(1).

مولف مسئول: بی بی فاطمه حقیرالسادات - یزد: دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی، دانشکده پیراپزشکی E-mail: Fhaghirosadat@gmail.com
1.کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهیدصدوقی، یزد، ایران
2. استاد، گروه ژنتیک، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهیدصدوقی، یزد، ایران
3. استادیار، گروه علوم و فنون، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی، یزد، ایران
تاریخ دریافت : 1400/4/1 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات :1400/4/9 تاریخ تصویب : 1400/6/20

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-13]

درمـان اسـتاندارد استئوسـارکوما شـامل ترکیبـی از جراحی و شیمی‌درمانی است. میزان بهبودی بیماران مبتلا به استئوسارکوما ازطریق جراحی، 15 تا 20 درصد برآورد می‌شود، اما در صورت ترکیب جراحی با شیمی‌درمـانی میـزان بهبـودی مـی‌توانـد تـا تقریبـاً 70 درصـد افـزایش یابد(2). متأسـفانه، شـیمی‌درمـانی مکـرر در40 درصـد از بیماران مبتلا به استئوسارکومای پیشـرفته، اثـرات جـانبی بالایی در بیماران ایجاد می‌کند به طوری که تخمین زده می‌شود که تنهـا کـم تـر از30 درصـد بیمـاران مبـتلا بـه استئوسارکومای عودکننده، در نهایت بهبود می‌یابنـد(3). سلول‌های سرطانی ممکن اسـت در برابـر یـک یـا چنـد عامل شیمی‌درمانی از خود مقاومت نشان دهند که به آن مقاومـت چندگانـه دارویـی یـا multidrug resistance (MDR) گفته مـی‌شـود. مقاومـت چندگانـه دارویـی در شیمی‌درمانی بیماران مبـتلا بـه استئوسـارکوما از عوامـل اصلی است که در میزان موفقیت شـیمی‌درمـانی و همچنـین میـزان بهبـودی بیمـاران مبـتلا بـه استئوسـارکوما تـأثیر می‌گذارد(4). تاکنون مکانیسم‌های مختلفی بـرای MDR گزارش شده است، که از جمله آن‌ها می‌توان به افزایش سم‌زدایـی داروهـا در بـدن از طریـق افـزایش متابولیسـم آن‌ها، کاهش جذب دارو، افزایش پمپ دارو بـه خـارج از سلول، واکنش با نوکلئوفیل‌های افـزایش‌یافتـه داخـل سلول، افزایش ترمیم DNA سـلول‌هـای سـرطانی کـه از طریق اثر دارو دچار آسیب شده، اشاره کرد(5).

به منظور غلبه بـر MDR، تحقیقـات گسـترده‌ای در طی سالیان گذشته بر روی سیستم‌های نـوین دارورسـانی مبتنی بر تکنولوژی نانو، متمرکز شده اسـت. نانوحامـل‌هـای دارویی مزیت‌های متعددی نسبت به تجـویز داروی آزاد دارنـد، از جملـه: محافظـت از تخریـب دارو، طـولانی کردن زمان گردش دارو در بدن، افزایش حلالیت برخی داروهای آبگریز، دارورسانی هدفمند و رهـایش کنتـرل شده داروها توسط اصلاح سطحی نانوذرات برای حفـظ تعادل غلظت دارو در محل تومور و به حـداکثر رسـاندن اثرات درمانی دارو، امکـان تحویـل همزمـان چنـد دارو برای دستیابی به هم‌افزایی در اثر داروها، افزایش جـذب سلولی از طریق اصلاح سطح نانوذرات(6،7). نانوسامانه‌ها با افزایش تجمع دارو به صورت هدفمند در بافت تومور، میزان دوز درمـانی دارو را کـاهش مـی‌دهنـد. مکانیسـم اصلی افزایش تجمع نانوذرات در بافـت تومـور افـزایش نفوذپذیری و ماندگاری است. در حالی که مولکول‌های کوچک می‌توانند آزادانه از عروق هر بافتی عبور کننـد و حرکت نانوذرات محـدودتر اسـت. مکانیسـم دیگـری کـه توسـط آن نـانوذرات مـی تواننـد سـمیت داروهـا را کاهش دهند ، مربوط به حمل داروهای آبگریز و انتقـال به بافت هدف است(8).

نانوسامانه‌های نیوزومی به دلیل زیست‌تخریـب‌پـذیری، عدم ایجاد ایمنی‌زایی، سمیت کـم، توانـایی بارگـذاری همزمان داروهای آبگریز و آبدوست،کارایی بـالا بـرای بارگذاری دارو، توانایی اصلاح سطحی آسان و مقرون-به‌صرفه بودن، در سال‌های اخیر بیش از پیش مورد توجه قرار گرفته‌اند(9). نیوزوم‌ها، وزیکول‌هایی هسـتند کـه از خودتجمعی سورفکتانت‌هـای غیریـونی در محـیط آبـی تشکیل می‌شوند و سـاختار دولایـه محصـوری را ایجـاد می‌کنند، بنابراین می‌توان از فضـای بـین دولایـه جهـت بارگذاری داروهای آبگریز و از فضـای محصـور داخـل نیوزوم جهت بارگذاری داروهای آبدوست بهره برد(10). نانوسامانه‌های نیوزومی به‌طور کلی از دو ترکیب تشکیل مـی‌شـوند: سـورفکتانت‌هـای غیریـونی و افزودنـی‌هـا، کلسترول و فسفولیپیدها از جمله افزودنی‌هایی هستند که در سـاخت نیـوزوم‌هـا مـورد اسـتفاده قـرار مـی‌گیرنـد. کلسترول عمدتاً به عنوان پایدارکننده و استحکام ساختار دولایه، به ترکیب نیوزوم اضافه می‌شود(11).

بربرین یک متابولیت ثانویـه گیـاهی مشـتق شـده از آلکالوئیـد ایزوکوئینـولین اسـت کـه در ریشـه، سـاقه، پوست و ریزوم برخی گیاهان به خصوص گیاهان سـرده زرشک یافت می‌شود(12). بربرین یک آلکالوئیـد قـوی با خواص دارویی قابل توجهی اسـت، از جملـه خـواص ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی، ضـد دیـابتی،

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-13]

محافظت از کبد و خواص ضد سرطانی(13). علی‌رغم خواص قابل توجه بربرین، محدودیت‌هایی در فارماکوکینتیک بربرین وجود دارد، به طوری که جذب آن توسط دیواره روده ضعیف بوده و فراهمی‌زیستی (Bioavailability) آن پس از مصرف خوراکی اندک است(14). همچنین مصرف خوراکی آن ممکن است باعث عوارض جانبی روده از جمله گرفتگی، ناراحتی معده و تغییر میکروبیوتای روده شود(15). با توجه به این ویژگی‌ها، دارورسانی بربرین به محل بافت هدف به طور جدی چالش برانگیز است.

پژوهش حاضر با هدف ساخت و مشخصه‌یابی نانوحامل نیوزومی جهت دارورسانی بربرین به رده سلولی Saos-2 به عنوان مدلی از استئوسارکوما انجام گرفت. جهت انجام این موضوع، فرمولاسیون‌های مختلف نیوزومی شامل سورفکتانت‌های غیر یونی مختلف و کلسترول جهت ساخت نانوسامانه نیوزومی مورد ارزیابی قرار گرفت و براساس کارایی بارگذاری و پروفایل رهایش دارو، فرمولاسیون بهینه انتخاب شد. پس از سایر مشخصه‌یابی‌های فیزیکی-شیمیایی آن مانند سایز، شارژ سطحی و مورفولوژی ظاهری میزان سمیت سلولی نانوسامانه نیوزومی بهینه در رده سلولی Saos-2 به عنوان رده سلول سرطانی استئوسارکوما استفاده ارزیابی شد. همچنین برای مقایسه اثر سمیت آن نسبت به بافت‌های سالم از رده سلولی فیبروبلاستی نرمال (HFF) مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی آزمایشگاهی، سورفکتانت‌های غیر یونی (Span40، Span60، Span80، Tween60 و Tween80)، DSPE-mPEG (2000)، کلسترول، نمک MTT[1]، بربرین کلرید و کیسه دیالیز (MWCO 12000 Da) از شرکت (Sigma Aldrich, USA)، کلروفورم، ایزوپروپانول، متانول از شرکت (Merck, Germany)، محیط کشت DMEM high glucose از شرکت (Gibco, USA)، سرم جنین گاوی (FBS)، بافر فسفات سالین (PBS)، آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین-استرپتومایسین (Pen-Strep, 10,000 U/mL-10 mg/mL) و تریپسین EDTA از شرکت زیست‌ایده نوترکیب (ایران) تهیه و استفاده شد. همچنین رده سلولی Saso-2 از بانک سلولی انستیتو پاستور ایران و رده سلولی فیبروبلاست نرمال (HFF) از بانک سلول مرکز تحقیقات بیولوژی سلول‌های بنیادی (یزد، ایران) تهیه گردید.

ترسیم نمودار کالیبراسیون بربرین

غلظت های مختلف از بربرین در ایزوپروپانول و بافر فسفات سالین(PBS) به روش رقت‌سازی سریالی تهیه شد. سپس جذب نوری آن‌ها در طول موج 420 نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (CECIL 7250, Bio Aquarius, UK) اندازه‌گیری شد(16). در نهایت نمودار کالیبراسیون و معادله خط بربرین با استفاده از نرم‌افزار Microsoft Excel 2013 به دست آمد و تعیین شد.

سنتز نانوسامانه نیوزومی حاوی بربرین

آب‌پوشانی لایه نازک یکی از مرسوم‌ترین روش‌های ساخت نیوزوم به شمار می‌رود(17). در پژوهش حاضر نیز از این روش جهت ساخت نانوسامانه نیوزومی حاوی بربرین استفاده شد. به طور خلاصه، ابتدا کلسترول و سورفکتانت‌های غیریونی مختلف (جدول شماره 1) با نسبت کلسترول (25 درصد)- سورفکتانت (75 درصد) در 10 میلی‌لیتر کلروفورم حل شد تا ترکیب کلسترول-سورفکتانت حاصل شود. سپس داروی بربرین با نسبت دارو(1)- لیپید(10) به محلول قبلی اضافه شد. پس از آن جهت همگن شدن، محلول حاوی کلسترول-سورفکتانت-دارو در روتاری (Heidolph, Germany) در دمای 40 درجه سانتی‌گراد به مدت 30 دقیقه قرار گرفت. سپس حلال (کلروفورم) از طریق ایجاد خلأ

1. 3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-13]

حذف و لایه نازک تشکیل شد. لایه نازک تشکیل‌شده به مدت 24 ساعت تحت گاز N2 قرار گرفت تا حلال به طور کامل حذف گردد. سپس لایه نازک تشکیل‌شده با 10 میلی‌لیتر بافر فسفات (PBS, pH=7.4) در دمای 45 درجه سانتی‌گراد به‌مدت 60 دقیقه هیدراته شد تا سوسپانسیون نیوزومی حاوی بربرین به‌دست آید. برای کاهش اندازه نیوزوم‌های چندلایه و تشکیل نیوزوم‌های کوچک تک لایه از اولتراسونیک پروبی (UP200Ht, Hielscher, Germany) با توان 60 وات، به مدت 30 دقیقه (15 ثانیه روشن و 10 ثانیه خاموش) استفاده شد. در نهایت به‌منظور جداسازی ذرات با اندازه بزرگ‌تر از 200 نانومتر و همگن شدن محلول به‌دست آمده، فیلتراسیون با استفاده از فیلتر سرسرنگی 0/2 میکرون صورت گرفت.

جدول شماره 1: درصد نسبت های فرمولاسیون‌های مختلف برای ساخت نانو سامانه‌های حاوی بربرین استفاده شده در مطاله حاضر

فرمولاسیون	نسبت لیپید به دارو	کلسترول (درصد)	Tween 60 (درصد)	Tween 80 (درصد)	Span 40 (درصد)	Span 60 (درصد)	Span 80 (درصد)
F1	10	25	75	0	0	0	0
F2	10	25	0	75	0	0	0
F3	10	25	0	0	75	0	0
F4	10	25	0	0	0	75	0
F5	10	25	0	0	0	0	75

حذف داروی بارگذاری نشده و تعیین درصد بارگذاری دارو در نانوسامانه‌های نیوزومی

حذف داروی آزاد و بارگذاری نشده از طریق دیالیز صورت گرفت. به‌طور خلاصه محلول نانوسامانه سنتزشده به درون کیسه دیالیز ریخته و کیسه دیالیز به مدت 6 ساعت درون محلول دیالیز (PBS, pH=7/4) در دمای 4 درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و محلول دیالیز هر یک ساعت تعویض گردید تا داروی بارگذاری نشده و آزاد به‌طورکامل حذف شود. پس از حذف داروی آزاد، میزان بارگذاری دارو از طریق تخریب ساختار نیوزومی با استفاده از ایزوپروپانول انجام پذیرفت. بدین‌منظور سوسپانسیون نیوزومی با نسبت 1 به 10 با ایزوپروپانول مخلوط و به مدت یک ساعت در دمای اتاق انکوبه شد. سپس جذب نوری محلول در طول موج 420 نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری و مقدار داروی آزادشده از نانوسامانه با استفاده معادله خط نمودار استاندارد دارو در ایزوپروپانول تعیین شد. در نهایت بازده بارگذاری دارو در نانوسامانه نیوزومی با استفاده از معادله زیر محاسبه گردید.

$$\text{بازده بارگذاری دارو (٪)} = \frac{\text{میزان داروی درون گیری شده}}{\text{میزان داروی اولیه استفاده شده}}$$

بررسی رهایش داروی بربرین از فرمولاسیون‌های مختلف نانوسامانه‌های نیوزومی

دیالیز در PBS به مدت 72 ساعت در دمای 37 درجه سانتی‌گراد و pH=7/4 مطابق با شرایط فیزیولوژیک بافت نرمال، جهت تعیین میزان رهایش دارو از فرمولاسیون‌های مختلف نانوسامانه‌های نیوزومی استفاده شد. بدین‌منظور، 10 میلی‌لیتر از نیوزوم‌های حاوی دارو، داخل کیسه دیالیز ریخته شد. 1 میلی‌لیتر از محلول دیالیز در زمان‌های مشخص، جمع‌آوری و بلافاصله با همان میزان از PBS تازه جایگزین شد. میزان جذب نوری نمونه‌ها در طول موج 420 نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد و سپس با استفاده از منحنی استاندارد داروی بربرین در PBS، میزان رهایش تجمعی دارو در مدت زمان‌های مختلف، تعیین گردید. لازم به ذکر است که پس از تعیین فرمولاسیون بهینه، رهایش دارو از نانوسامانه بهینه نیوزومی پگیله علاوه بر شرایط فوق، در شرایط شبیه‌سازی‌شده فیزیولوژیک بافت توموری (pH=6/5 و دمای 42 درجه سانتی‌گراد) نیز اندازه‌گیری و تعیین گردید.

تعیین فرمولاسیون بهینه و سنتز نانوسامانه نهایی نیوزومی حاوی بربرین

انتخاب فرمولاسیون بهینه جهت سنتز نانوسامانه نیوزومی حاوی بربرین براساس بیش‌ترین میزان بارگذاری و پروفایل رهایش انتخاب شد. سپس به منظور بهبود

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-13]

ویژگی‌های فیزیکی- شیمیایی فرمولاسیون بهینه نیوزومی حاصل (کارایی بارگذاری، پایداری و رهایش پیوسته دارو)، به فرمولاسیون نیوزومی بهینه، میزان 5 درصد DSPE-mPEG(2000) اضافه و نانوسامانه بهینه نیوزومی پگیله حاوی بربرین ساخته شد.

تعیین اندازه نانو ذرات، ضریب پراکندگی و پتانسیل زتا نانو نیوزوم ها

قطر هیدرودینامیک، شارژ سطحی و شاخص پراکندگی (PDI) نانوسامانه بهینه نیوزومی پگیله از طریق تکنیک پراش دینامیکی نور (DLS) و با استفاده از دستگاه زتاسایزر (Zetasizer Nano ZS, Malvern Panalytical, UK) تعیین گردید. بدین منظور، نمونه رقیق شده با غلظت 0/1 mg/ml تهیه و بلافاصله پس از آماده‌سازی، نور پراکنده در دمای اتاق با زاویه 90 درجه تشخیص داده شد و مورد آنالیز قرار گرفت.

تصویربرداری از نانوسامانه بهینه نیوزومی پگیله

تصویربرداری با میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) جهت بررسی شکل و مورفولوژی ظاهری نانوسامانه نیوزومی مورد استفاده قرار گرفت. بدین منظور، 10 میکرولیتر از سوسپانسیون حاوی نانوسامانه بهینه نیوزومی پگیله حاوی بربرین و نانوسامانه بدون دارو بر روی لام شیشه‌ای ریخته شد. لام شیشه‌ای در دمای محیط قرار داده شد تا نمونه‌ها خشک شده و یک لایه نازک بر روی لام تشکیل گردد. سپس نمونه‌ها با یک لایه طلا به منظور ایجاد رسانایی، پوشش‌دار شد و با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی (FEG-SEM MIRA3 TESCAN, Czech Republic) تصویربرداری شد.

بررسی اثر سمیت سلولی نانوسامانه نیوزومی حاوی بربرین با استفاده از آزمون MTT

از آزمون MTT جهت ارزیابی و مقایسه میزان سمیت فرم آزاد داروی بربرین و نانوسامانه نیوزومی پگیله حاوی بربرین بر روی رده سلولی Saos-2 و همچنین میزان سمیت نانوسامانه نیوزومی پگیله فاقد دارو در رده سلولی Saos-2 و رده سلولی فیبروبلاست نرمال (HFF)، استفاده شد. سلول‌های مذکور در محیط کشت DMEM به همراه 10 درصد FBS و 1 درصد Pen-Strep (در انکوباتور با 37 درجه سانتی‌گراد، 5 درصد CO2 و 95 درصد رطوبت) کشت داده شدند. جهت انجام آزمون MTT، سلول‌ها با تراکم 10^4 سلول در هر چاهک پلیت 96 خانه کشت داده شد و به مدت 24 ساعت انکوبه گردید تا سلول‌ها به کف پلیت بچسبند. سپس سلول‌ها با حجم یکسانی از محیط کشت تازه (گروه کنترل)، محیط کشت تازه به همراه غلظت‌های مختلف نانوسامانه بهینه نیوزمی پگیله بدون دارو (Blank-Nio)، نانوسامانه بهینه نیوزمی پگیله حاوی بربرین (Nio-Ber) و بربرین آزاد (Free-Ber) (گروه تیمار) و در تکرارهای چهارتایی به‌مدت 48 ساعت تیمار شدند. پس از آن، میزان 10 میکرولیتر از محلول MTT با غلظت 5mg/ml به چاهک‌ها اضافه شد و پس از 4 ساعت انکوباسیون، محیط چاهک‌ها کاملاً دور ریخته شد و 100 میکرولیتر DMSO به هرچاهک اضافه شد. در انتها، جذب نوری در طول‌موج 570nm با استفاده از میکروپلیت‌ریدر (ELx800, Biotek, USA) اندازه‌گیری و درصد زنده‌مانی سلول‌ها با استفاده از معادله ذیل محاسبه شد:

$$\text{درصد زنده‌مانی سلول‌ها} = \frac{(\text{میانگین جذب نوری نمونه} - \text{میانگین جذب نوری بلانک})}{(\text{میانگین جذب نوری کنترل} - \text{میانگین جذب نوری بلانک})} \times ۱۰۰$$

تجزیه و تحلیل آماری

به منظور بررسی آماری نتایج از نرم افزار Graphpad Prism ورژن 9/1، آزمون ANOVA دوطرفه و آزمون مقایسه میانگین Tukey استفاده شد و سطوح معناداری نتایج برحسب $P<0/05$ محاسبه و گزارش شد. علاوه‌براین، رگرسیون غیرخطی جهت تعیین میزان IC50 مورد استفاده قرار گرفت.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-13]

ملاحظات اخلاقی

پروپوزال این تحقیق توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات درمانی شهید صدوقی یزد تایید شده است (کد اخلاق IR.SSU.MEDICINE.REC.1400.086).

یافته ها

انتخاب فرمولاسیون نیوزومی مناسب

میزان بارگذاری و پروفایل رهایش دارو، از اساسی‌ترین جنبه‌های کاربردی نانو حامل‌های دارورسانی محسوب می‌شود. در مطالعه حاضر نیز فرمولاسیون‌های مختلف به منظور به‌دست آوردن فرمولاسیون بهینه میزان بازده بارگذاری و رهایش دارو بررسی شدند (جدول شماره 2). براساس نتایج به‌دست آمده، فرمولاسیون F1 حاوی 60 Tween (75درصد) -کلسترول (25درصد) بیش‌ترین میزان بارگذاری و رهایش در مدت 72 ساعت را از خود نشان داد. در این فرمولاسیون میزان بارگیری دارو 74/6 درصد و رهایش تجمعی دارو درمدت زمان 72 ساعت 75/6 درصد تعیین شد.

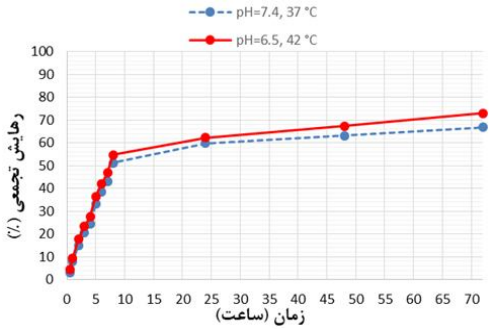
جدول شماره 2: بازده بارگیری دارو (EE٪) و رهایش دارو(R٪) در فرمولاسیون‌های مختلف نیوزومی حاوی داروی بربرین.

فرمولاسیون	بارگیری دارو (٪)	درصد رهایش (8ساعت)	درصد رهایش (24ساعت)	درصد رهایش (48ساعت)	درصد رهایش (72 ساعت)
F1	74/6	31/5	46/9	61/5	75/6
F2	38/4	11/6	26/1	43/8	56/8
F3	65/5	12	25/2	37/7	49/1
F4	68/3	13/2	27/6	42/7	56/1
F5	43/9	15/6	30/9	45/8	60

با توجه به اثر گذاری پلی‌اتیلن گلیکول (PEG) برافزایش نیمه عمر و پایداری نانو حامل‌های دارویی، در پژوهش حاضر نیز به‌منظور بهبود ویژگی‌های فیزیکی-شیمیایی نانوسامانه نیوزومی (اندازه ذرات، کارایی بارگیری، رهایش دارو و بهبود ورود به سلول) به فرمولاسیون بهینه (F1) میزان 5 درصد PEG به فرم DSPE-mPEG(2000) اضافه گردید و فرمولاسیون بهینه نیوزومی پگیله‌شده (F6) حاصل شد. در ادامه، نتایج نشان داد که فرمولاسیون بهینه نیوزومی پگیله دارای کارایی بارگذاری دارو به میزان 79/34 درصد است.

پروفایل رهایش داروی بربرین از نانوسامانه بهینه نیوزومی پگیله در محیط برون‌تن (in vivo)

به‌منظور بررسی پروفایل رهایش داروی بربرین از نانوسامانه بهینه نیوزومی پگیله در هر دو بافت سالم و توموری، شرایط فیزیولوژیک این بافت‌ها شبیه‌سازی شد. بر همین اساس pH=7/4 و دمای 37 درجه سانتی‌گراد برای بافت سالم و pH=6/5 و دمای 42 درجه سانتی‌گراد برای بافت توموری در نظر گرفته شد و الگوی رهایش در هر دو محیط مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج به‌دست آمده نشان دادکه میزان رهایش دارو از نانوسامانه ابتدا به صورت سریع اتفاق می‌افتد به‌طوری که در 8 ساعت اول، در شرایط شبیه‌سازی شده توموری، بیش از نیمی از داروی بارگذاری شده (54/7 درصد) از نانوسامانه آزاد شد. پس از آن رهایش دارو به صورت کند و پیوسته تا 72 ساعت ادامه پیداکرد و بیش‌ترین میزان رهایش دارو در مدت زمان 72 ساعت و میزان 72/98 درصد اندازه‌گیری شد. علاوه بر این، پروفایل رهایش دارو از نانوسامانه در شرایط شبیه‌سازی شده نرمال، اندکی کم‌تر از شرایط توموری بود (51/20 درصد در 8 ساعت و 66/79درصد در 72 ساعت) که حاکی از قابلیت این نانوسامانه جهت استفاده در هر دو شرایط مذکور است (نمودار شماره 1).

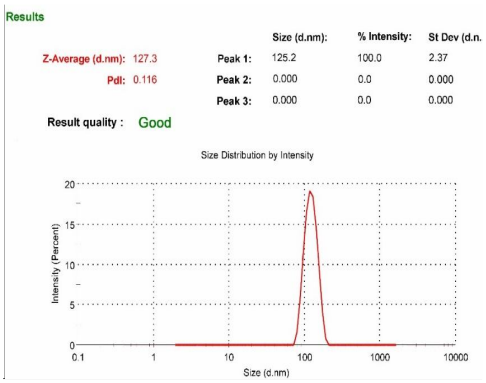


نمودار شماره 1: رهایش بربرین از نانوسامانه بهینه نیوزومی پگیله (فرمولاسیون F6)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-13]

اندازه شاخص پراکندگی ذرات و پتانسیل زتا

براساس نتایج، نانوسامانه بهینه نیوزومی پگیله حاوی داروی بربرین میانگین سایز 127/3 نانومتر و شارژ سطحی 9/31- میلی ولت داشت و میزان شاخص پراکندگی آن (PDI) 0/116 بود. این نتایج در نمودار شماره 2 (به ترتیب سایز، PDI و شارژ سطحی) قابل مشاهده است.



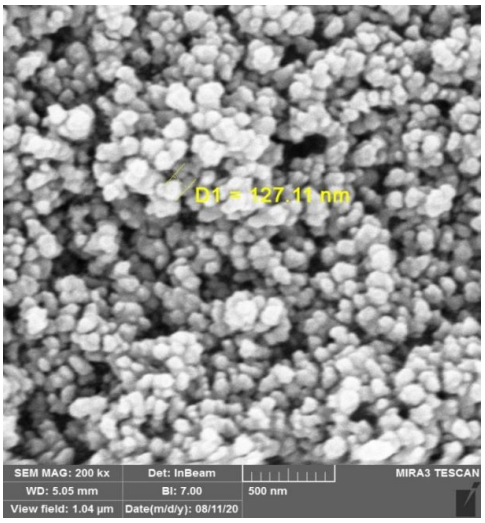
نمودار شماره1 : نتایج دستگاه زتاسایزر: سایز، شاخص پراکندگی(PDI) و شارژ سطحی نانوسامانه بهینه نیوزومی پگیله حاوی بربرین.

بررسی شکل ظاهری نانوسامانه بهینه نیوزومی پگیله حاوی بربرین با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)

با توجه به تصویر نانوسامانه بهینه نیوزومی پگیله حاوی داروی بربرین حاصل از میکروسکوپ الکترونی روبشی (تصویر شماره 1)، فرم نانوسامانه‌ها وزیکولی و کروی بوده و سطح وزیکول‌ها صاف و هموار هستند. علاوه براین، این تصویر نشان می‌دهد نانوسامانه‌های تولید شده از نظر اندازه وشکل، توزیع همگنی دارند.

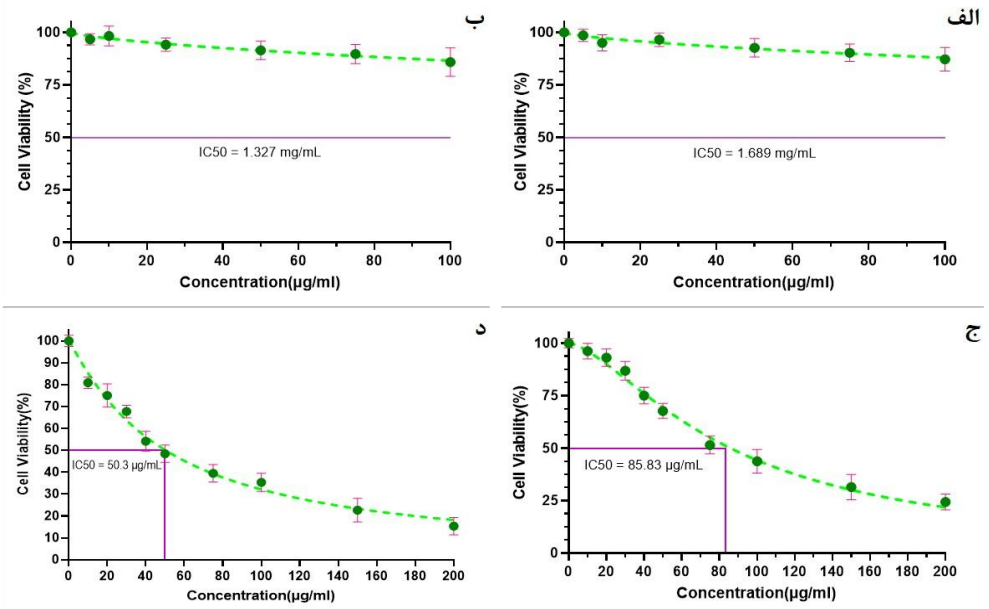
آزمایش سمیت سلولی به روش MTT

نتایج حاصل از بررسی سمت سلولی با استفاده از آزمون MTT نشان داد که نانوسامانه بهینه نیوزومی پگیله فاقد دارو، چه در رده سلولی فیبروبلاست نرمال (HFF) و چه در رده سلولی Saos-2، اثر سمیت قابل توجهی نداشت، به‌طوری که IC50 نانوسامانه نیوزومی فاقد دارو در رده سلولی Saos-2 و HFF به ترتیب 1/689 و 1/327 میلی‌گرم در میلی‌لیتر تعیین شد و حداکثر غلظتی که از این نانوسامانه در مطالعه حاضر مورد استفاده قرار گرفت، مقدار 100 میکروگرم در میلی‌لیتر بوده که بیش از 10 برابر کم‌تر از میزان IC50 آن بوده است (نمودار شماره 3- الف و 3- ب). علاوه بر این، نتایج نشان داد هم فرم آزاد داروی بربرین و هم نانوسامانه بهینه نیوزومی پگیله حاوی بربرین در رده سلولی Saos-2 اثر سمیت دارند، با این تفاوت که نانوسامانه نیوزومی حاوی بربرین در حدود 1/7 برابر اثر سمیت بیش‌تری نسبت به فرم آزاد بربرین داشت (IC50=85.83 µg/ml برای فرم آزاد بربرین در برابر IC50=50.3 µg/ml برای فرم نیوزومی) (نمودار شماره 3- ج و 3- د). مقایسه آماری غلظت‌های مختلف فرم آزاد بربرین و نانوسامانه نیوزومی حاوی آن نشان داد در تمامی غلظت‌های مورد استفاده، نانوسامانه‌های نیوزومی حاوی بربرین به‌طور معنی‌داری اثر سمیت بیش‌تری نسبت به فرم آزاد دارو داشتند ($P > 0/05$) نمودار شماره 4).

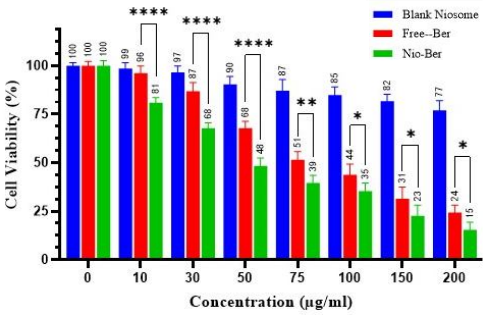


تصویر شماره 1: تصویرمیکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) از نانوسامانه بهینه نیوزومی پگیله حاوی بربرین

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-13]



نمودار شماره 4 : نتایج حاصل از آزمون MTT. الف: اثر سمیت و میزان IC50 نانوسامانه نیوزومی فاقد دارو بر رده سلولی Saos-2 ، ب: اثر سمیت و میزان IC50 نانوسامانه نیوزومی فاقد دارو در رده سلولی HFF ، ج: اثر سمیت و میزان IC50 بربرین آزاد بر رده سلولی Saos-2 ، د: اثر سمیت و میزان IC50 نانوسامانه نیوزومی حاوی بربرین بر رده سلولی Saos-2.



نمودار شماره 5: نمودارمقایسه اثر سمیت فرم آزاد داروی بربرین، فرم نیوزومی آن و نانوسامانه نیوزومی پگیله فاقد دارو در رده سلولی Saos-2. نتایج حاصل از آزمون ANOVA دو طرفه و مقایسه میانگین Tukey نشان داد که در تمامی غلظت‌ها، اثر سمیت در فرم نیوزومی داروی بربرین به‌طور معنی‌داری بیش از فرم آزاد آن بوده است. (*: P <0/05، ** : P <0/01، *** : P <0/0001).

بحث

در میان روش‌های درمانی جدید، درمان‌های ضدسرطان مبتنی بر فناوری نانو، راه را برای استراتژی‌های هدفمند جدید در درمان سرطان و به‌ویژه استئوسارکوما هموار کرده است(18). از طرف دیگر متابولیت‌های ثانویه گیاهی، با تنوع شیمیایی قابل توجهی که دارند، بیش از نیم‌قرن است که به‌طور گسترده از نظر خواص ضد سرطانی مورد بررسی قرار گرفته‌اند(19). بربرین به عنوان یک آلکالوئید یکی از این مواد است که امروزه خواص ضدسرطانی آن به‌خوبی به اثبات رسیده است(20). بر همین اساس در پژوهش حاضر، از نانوسامانه‌های نیوزومی جهت دارورسانی بربرین به رده سلولی Saos-2 به عنوان مدلی از استئوسارکوما استفاده شد. تاکنون مطالعات گسترده‌ای در زمینه دارورسانی به سلول‌های سرطانی با استفاده از نانوسامانه‌های نیوزومی به دلیل ویژگی‌های منحصربه‌فردی که دارند، صورت گرفته است اما برای اولین بار در این پژوهش به مقایسه انواع سورفکتانت‌ها در میزان لود و رهایش بربرین پرداخته و فرمولاسیون بهینه از میان انواع فرمولاسیون‌ها انتخاب گردید(19–16).

در سال Awate 2000 و همکارانش به بررسی و ارزیابی فرمولاسیون نیوزومی بربرین پرداختند. در این

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-13]

تحقیق با روش فیلم نازک فرمولاسیون‌هایی با نسبت‌های مختلف از Span60 و کلسترول را ساخته و میزان لود و رهایش آن‌ها را بررسی کرده‌اند. فرمولاسیون نسبت Span60 (75 درصد)و کلسترول (25 درصد) دارای بیش‌ترین میزان لود و رهایش بوده که به عنوان فرمول بهینه انتخاب شد(21).

در مطالعه‌ای که توسط Manosroi و همکارانش انجام شد اثر وجود کلسترول در فرمولاسیون نیوزومی حاوی Tween 60 بررسی کردند. نتایج نشان داد که کارایی بارگذاری دارو تحت تاثیر طول زنجیره الکیل سورفکتانت غیر یونی و مقدار کلسترول به کار برده شده در تهیه وزیکول‌ها است. Tween 60 بدون حضور کلسترول امکان تشکیل نیوزوم را ندارد و با اضافه کردن کلسترول، نیوزوم با حداکثر بارگذاری دارو تشکیل می‌شود. به علاوه مشخص شد که سورفکتانت غیر یونی با زنجیره آلکیل 18 کربنه مانند Tween 60 کارایی بارگذاری بالاتری نسبت به سورفکتانت غیر یونی با زنجیره آلکیل 12 کربنه مانند Tween20 دارد. سورفکتانت غیریونی Tween 60 با کلسترول با نسبت مولی (30:70) بیش‌ترین میزان کارایی بارگذاری دارو را داشتند(22). بدین‌منظور، فرمولاسیون‌های مختلفی جهت ساخت نانوسامانه‌های نیوزومی با نسبت کلسترول (25 درصد)- سورفکتانت (75 درصد) مورد ارزیابی قرارگفت. در همین راستا سورفکتانت‌های Tween 60 (فرمول1)، Tween 80 (فرمول2)، Span 40 (فرمول 3)، Span 60 (فرمول 4)، Span 80 (فرمول 5) مورد استفاده قرار گرفت. نتایج نشان داد میزان بارگذاری دارو در نانوسامانه‌های ساخته شده با فرمولاسیون 4 (Span 60، C18) از میزان باگذاری دارو در فرمولاسیون 3 (Span 40، C16) بیش تر بوده است. این نتیجه همراستا با سایر مطالعات است که نشان داده‌اند در سورفکتانت‌های غیریونی، با افزایش زنجیره آلکیلی، میزان بارگذاری دارو نیز افزایش می‌یابد(23). به‌طور کلی چندعامل در خصوصیات فیزیکی شیمیایی نیوزوم‌ها تأثیر دارند که مهم‌ترین آن‌ها عبارتند از اندازه سر هیدروفیل سورفکتانت‌ها، طول و نوع زنجیره جانبی سورفکتانت‌ها و تعادل لیپوفیلی- هیدروفیلی (HLB[2]) (10). معمولاً افزایش طول زنجیره جانبی با افزایش میزان بارگذاری دارو در ارتباط است. به طور مثال، سورفکتانت‌های غیریونی با زنجیره‌های استریل (C18) نسبت به سورفکتانت‌های غیریونی که دارای زنجیره‌های استریل (C12) هستند، بازده بارگذاری داروی بیش‌تری نشان می‌دهند(24). با این وجود نتایج مطالعه حاضر نشان داد نانوسامانه نیوزومی حاصل از Span 80 (فرمول 5) با وجود دارا بودن زنجیره جانبی طویل‌تر، میزان بارگذاری کم‌تری نسبت به Span 60 و Span 40، نشان داد (Span60>Span40>Span80). این امر می‌تواند به این دلیل باشد که Span 80 گروه اشباع نشده در ساختار خود دارد(25). از طرف دیگر، نانوسامانه ساخته‌شده با Tween 60، با وجود طول زنجیره جانبی یکسان (C18)، میزان بارگذاری بیش‌تری نسبت به Tween 80 داشت (Tween60>Tween80)، به‌نظر می‌رسد علت این موضوع وجود گروه غیراشباع در ساختار زنجیره جانبی Tween 80 باشد که موجب خمیدگی در آن و کاهش پایداری نیوزوم ساخته شده می‌شود(11). به‌طور کلی میزان بارگذاری دارو در فرمولاسیون‌های مختلف نشان داد بیش‌ترین میزان بارگذاری در بین تمام فرمولاسیون مربوط به نانوسامانه‌های حاصل از Tween 60 (فرمول1) و کم‌ترین میزان آن مربوط به نانوسامانه‌های حاصل از Tween 80 (فرمول2) بود (Tween60>Span60>Span40>Span80>Tween80) بنابراین نتایج، فرمولاسیون F1 (Tween60:Chol) به عنوان فرمولاسیون بهینه انتخاب شد و جهت پگیله‌کردن آن، 5 درصد فسفولیپید پگیله (DSPE-mPEG(2000 اضافه شد. اضافه کردن PEG به نانوسامانه‌ها به طور کلی، موجب مخفی‌شدن نانوسامانه از سیستم ایمنی میزبان شده و پاکسازی کلیوی آن‌ها را کاهش می‌دهد،

1. Hydrophilic–Lipophilic Balance

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-13]

بنـابراین نیمـه‌عمر بـیش‌تـری را در شـرایط درون‌تـن (in vivo) به همراه خواهد داشت(26). علاوه‌براین پگیله شدن همچنین موجب کاهش شاخص پراکندگی نیوزوم می‌شود و احتمال رسـوب و تجمع نانوسـامانه به‌صـورت توده را کاهش می‌دهد(27).

اندازه ذرات و شارژ سطحی آن‌ها، دو مشخصه مهم در سیستم‌های وزیکولی هستند و اثر ایـن دو پـارامتر در افـزایش پایـداری، تـراوش‌پـذیری از رگ‌هـا و جـذب سلولی به خوبی شناخته شده است(28).

در مطالعه حاضر، نانوسـامانه بهینـه نیـوزومی پگیلـه حـاوی داروی بربـرین میـانگین سـایز 127/3نـانومتر و شارژ سطحی 9/31- میلی ولت داشت و میـزان شـاخص پراکنـدگی آن (PDI) 0/116 بـود، کـه همراسـتا بـا مطالعات پیشین است و همچنین اندازه مطلوبی محسـوب مـی‌شـود(17،29،30) بـه‌طور خلاصـه در مطالعـه حاضـر فرمولاسـیون بهینـه نیـوزومی پگیلـه (فرمـول6) حـاوی Tween 60 (71/25درصد) - کلسترول (23/75 درصد) - فسـفولیپید پگیلـه DSPE-mPEG(2000) (5 درصـد) دارای ویژگـی‌هـای مطلـوبی ازجملـه سـایز کوچـک، رهـایش کنتـرل شـده دارو و بـازده درون‌گیـری بـالا بود. علاوه بـر آن‌چـه ذکـر شـد، نتـایج بررسـی سـمیت سـلولی بـا اسـتفاده از آزمـون MTT نشـان داد کـه نانوسامانه بهینه نیوزومی پگیله حاوی بربرین به‌طور قابـل توجهی در افزایش سمیت داروی بربرین در عین کاهش غلظـت داروی مـورد اسـتفاده، مـؤثر عمـل کـرده اسـت به‌طوری که IC50 نانوسامانه حـاوی دارو در حـدود 1/7 برابـر بـیش‌تـر از مقـدار IC50 دارو بـود، در حـالی کـه نانوسـامانه فاقـد دارو سـمیت قابـل‌تـوجهی چـه در رده سلولی سرطانی Saos-2 و چه در رده سلولی نرمال HFF نداشـت. بـه‌عبارت‌دیگر، بـا اسـتناد بـه نتـایج حاصـل از آزمون‌هـای سـمیت سـلولی بـه‌نظـر مـی‌رسـد نانوسـامانه ساخته شده در این پژوهش توانسته دوز مؤثر دارو را کم کند و در عـین حـال، خـواص دارویـی و درمـانی آن را بهبود ببخشد.

سپاسگزاری

از مرکز تحقیقات زیست فناوری پردیس بین الملل دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یـزد و از اسـاتید و مسئولین محترم این مرکز در خصوص تسهیل بهره‌مندی از فضای آزمایشگاهی و دستگاهی تشکر می‌گردد.

References

1. Lin PP, Patel S. Osteosarcoma. In: Bone Sarcoma. New York: Springer; 2013. p. 75-97.
2. Schwartz CL, Gorlick R, Teot L, Krailo M, Chen Z, Goorin A, et al. Multiple drug resistance in osteogenic sarcoma: INT0133 from the Children's Oncology Group. J Clin Oncol 2007; 25(15): 2057-2062.
3. Chou AJ, Gorlick R. Chemotherapy resistance in osteosarcoma: current challenges and future directions. Expert Rev Anticancer Ther 2006; 6(7): 1075-1085.
4. Wang J, Seebacher N, Shi H, Kan Q, Duan Z. Novel strategies to prevent the development of multidrug resistance (MDR) in cancer. Oncotarget 2017; 8(48): 84559.
5. Mimeault M, Hauke R, Batra SK. Recent advances on the molecular mechanisms involved in the drug resistance of cancer cells and novel targeting therapies. Clin Pharmacol Ther 2008; 83(5): 673-691.
6. Chindamo G, Sapino S, Peira E, Chirio D, Gonzalez MC, Gallarate M. Bone diseases: current approach and future perspectives in drug delivery systems for bone targeted therapeutics. Nanomaterials 2020; 10(5): 875.
7. Cheng H, Chawla A, Yang Y, Li Y, Zhang J, Jang HL, et al. Development of nanomaterials for bone-targeted drug delivery. Drug Discov

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-13]

Today 2017; 22(9): 1336-1350.

8. Wolfram J, Zhu M, Yang Y, Shen J, Gentile E, Paolino D, et al. Safety of nanoparticles in medicine. Curr Drug Targets 2015; 16(14): 1671-1681.
9. Gharbavi M, Amani J, Kheiri-Manjili H, Danafar H, Sharafi A. Niosome: a promising nanocarrier for natural drug delivery through blood-brain barrier. Adv Pharmacol Sci 2018; 2018: 6847971.
10. Ag Seleci D, Seleci M, Walter JG, Stahl F, Scheper T. Niosomes as nanoparticular drug carriers: Fundamentals and recent applications. J Nanomater 2016; 2016: 7372306.
11. Bartelds R, Nematollahi MH, Pols T, Stuart MCA, Pardakhty A, Asadikaram G, et al. Niosomes, an alternative for liposomal delivery. PLoS One 2018; 13(4): e0194179.
12. Imenshahidi M, Hosseinzadeh H. Berberis vulgaris and berberine: an update review. Phyther Res 2016; 30(11): 1745-1764.
13. Gaba S, Saini A, Singh G, Monga V. An insight into the medicinal attributes of berberine derivatives: A review. Bioorg Med Chem 2021; 38: 116143.
14. Ye M, Fu S, Pi R, He F. Neuropharmacological and pharmacokinetic properties of berberine: a review of recent research. J Pharm Pharmacol 2010; 61(7): 831-837.
15. Alolga RN, Fan Y, Chen Z, Liu L-W, Zhao Y-J, Li J, et al. Significant pharmacokinetic differences of berberine are attributable to variations in gut microbiota between Africans and Chinese. Sci Rep 2016; 6: 27671.
16. Koide T, Iwata M, Maekawa K, Saito H, Tanimoto T, Okada S. Berberine Hydrochloride Reference Standard (Control 001) of National Institute of Health Sciences. Kokuritsu Iyakuhin Shokuhin Eisei Kenkyujo Hokoku 2001; (119): 97-100.
17. Alemi A, Reza JZ, Haghiralsadat F, Jaliani HZ, Karamallah MH, Hosseini SA, et al. Paclitaxel and curcumin coadministration in novel cationic PEGylated niosomal formulations exhibit enhanced synergistic antitumor efficacy. J Nanobiotechnology 2018; 16(1): 28.
18. Wang S-Y, Hu H-Z, Qing X-C, Zhang Z-C, Shao Z-W. Recent advances of drug delivery nanocarriers in osteosarcoma treatment. J Cancer 2020; 11(1): 69-82.
19. Yuan H, Ma Q, Ye L, Piao G. The Traditional Medicine and Modern Medicine from Natural Products. Molecules 2016; 21(5): 559.
20. Och A, Podgórski R, Nowak R. Biological Activity of Berberine—A Summary Update. Toxins (Basel) 2020; 12(11): 713.
21. Awate PS, Pimple TP, Pananchery JF, Jain AS. Formulation and evaluation of berberine hcl as niosomal drug delivery system. Asian J Pharm Res 2020; 10(3): 149-159.
22. Manosroi A, Wongtrakul P, Manosroi J, Sakai H, Sugawara F, Yuasa M, et al. Characterization of vesicles prepared with various non-ionic surfactants mixed with cholesterol. Colloids Surfaces B Biointerfaces 2003; 30(1–2): 129-138.
23. Yoshioka T, Sternberg B, Florence AT. Preparation and properties of vesicles (niosomes) of sorbitan monoesters (Span 20, 40, 60 and 80) and a sorbitan triester (Span 85). Int J Pharm 1994; 105(1): 1-6.
24. Kazi KM, Mandal AS, Biswas N, Guha A, Chatterjee S, Behera M, et al. Niosome: a future of targeted drug delivery systems. J Adv Pharm Technol Res 2010; 1(4): 374-380.
25. Roque L, Fernández M, Benito JM, Escudero I. Stability and characterization studies of Span 80 niosomes modified with CTAB in the presence of NaCl. Colloids Surfaces A

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-13]

Physicochem Eng Asp 2020; 601: 124999.

26. Garbuzenko O, Barenholz Y, Priev A. Effect of grafted PEG on liposome size and on compressibility and packing of lipid bilayer. Chem Phys Lipids 2005; 135(2): 117-129.
27. Mohamed M, Abu Lila AS, Shimizu T, Alaaeldin E, Hussein A, Sarhan HA, et al. PEGylated liposomes:immunological responses. Sci Technol Adv Mater 2019; 20(1): 710-724.
28. Li-bin Y, Rong H. The size of liposomes:a factor which affects their targeting efficiency to tumors. [J]. (Section Pharmacy). 2007; 3.
29. Haghiralsadat F, Amoabediny G, Naderinezhad S, Forouzanfar T, Helder MN, Zandieh-Doulabi B. Preparation of PEGylated cationic nanoliposome-siRNA complexes for cancer therapy. Artif cells, nanomedicine, Biotechnol 2018; 46(sup1): 684-692.
30. Hemati M, Haghiralsadat F, Jafary F, Moosavizadeh S, Moradi A. Targeting cell cycle protein in gastric cancer with CDC20siRNA and anticancer drugs (doxorubicin and quercetin) co-loaded cationic PEGylated nanoniosomes. Int J Nanomedicine 2019; 14: 6575-6585.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-13]