

Evaluation of the Anticancer Effect of a Niosomal Suspension of Aripiprazole against the HT-29 Cell Line

Hosein Mahboudi¹,
Mohammad Lotfi²,
Zaynab Sadeghi Ghadi^{3,4}

¹ Assistant Professor, Department of Biotechnology, School of Pharmacy, Alborz University of Medical Sciences, Karaj, Iran

² Student Research Committee, School of Pharmacy, Alborz University of Medical Sciences, Karaj, Iran

³ Assistant Professor, Department of Pharmaceutics, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

⁴ Pharmaceutical Science Research Center, Hemoglobinopathy Institute, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received May 27, 2025; Accepted August 25, 2025)

Abstract

Background and purpose: Cancer is one of the leading causes of death worldwide. One of the emerging approaches in therapeutic studies on various cancers is the use of non-specific drugs in cancer treatment. Aripiprazole is a novel antipsychotic drug whose anti-cancer effects have been demonstrated in previous studies. Due to its low solubility, and in order to enhance the anticancer efficacy of aripiprazole while minimizing drug toxicity, this study developed a niosomal system of aripiprazole and investigated its anticancer efficacy.

Materials and methods: In this experimental study, aripiprazole niosomes were prepared using the thin-film hydration method. The physicochemical properties of the system, including particle size, size distribution, and aripiprazole loading, were measured. Transmission electron microscopy was performed to examine the morphology of the niosomes. Subsequently, the cytotoxic effects of the prepared niosomes on HT-29 cancer cells and normal fibroblast cells were evaluated using the MTT cell viability assay.

Results: The particle size of the niosomes was 973.5 ± 48.8 nm, the particle size dispersion index (PDI) was 0.68 ± 0.11 , and the zeta potential was -67.68 ± 2.47 mV. The aripiprazole loading was 61.64%, and spherical niosomes were observed in the transmission electron microscope images. The results demonstrated that the cytotoxicity of aripiprazole niosomes was higher than that of pure aripiprazole in cancer cells, while they induced minimal toxicity in normal cells.

Conclusion: The results of this study showed that the greatest growth inhibition in HT-29 cells was achieved with aripiprazole niosomes. Moreover, aripiprazole niosomes exhibited lower toxicity toward normal cells compared to pure aripiprazole. Overall, these findings indicate that the anticancer efficacy of aripiprazole is enhanced through niosomal delivery.

Keywords: Aripiprazole, colon cancer, Nanoparticle, Niosom, HT-29

J Mazandaran Univ Med Sci 2025; 35 (248): 5-16 (Persian).

Corresponding Author: Zaynab Sadeghi Ghadi - Faculty of pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran (E-mails: z.sadeghi@mazums.ac.ir- Sadeghi.g.zaynab@gmail.com)

بررسی اثر ضد سرطانی سوسپانسیون نیوزومی آریپپرازول بر روی رده سلولی HT29

حسین مهبودی^۱محمد لطفی^۲زینب صادقی قادی^{۳*}

چکیده

سابقه و هدف: سرطان یکی از مهم‌ترین عوامل مرگ و میر در جهان می‌باشد. یکی از رویکردهای جدید در مطالعات درمانی پیرامون سرطان‌های مختلف استفاده از داروهای غیر اختصاصی در درمان سرطان‌ها می‌باشد. آریپپرازول یک داروی آنتی‌سایکوتیک نوینی است که اثرات ضدسرطانی آن در مطالعات پیشین به اثبات رسیده است. با توجه به حلالیت کم دارو و جهت افزایش اثربخشی ضدسرطانی آریپپرازول و کاهش سمیت دارو، این پژوهش با هدف بررسی اثربخشی ضد سرطانی سوسپانسیون نیوزومی آریپپرازول بر روی رده سلولی HT29، انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، نیوزوم‌های آریپپرازول با استفاده از روش هیدراسیون فیلم تهیه شد. خصوصیات فیزیکوشیمیایی سامانه از جمله اندازه ذره‌ای، پراکندگی اندازه ذرات، میزان بارگیری آریپپرازول سامانه نیوزومی اندازه گیری شد. بررسی‌های میکروسکوپ الکترونی گذاره جهت بررسی شکل نیوزوم‌ها انجام شد و در مرحله بعدی اثرات سایتوتوکسیتی نیوزوم‌های تهیه شده بر روی سلول‌های سرطانی رده HT-29 و سلول‌های نرمال فیروبلاست توسط تکنیک سنجش بقای سلولی MTT مورد بررسی و آنالیز قرار گرفت.

یافته‌ها: اندازه ذره‌ای نیوزوم‌ها $348/8 \pm 9/75$ نانومتر، شاخص پراکندگی اندازه ذرات (PDI) $0/68 \pm 0/11$ و پتانسیل زتا $27/68 \pm 2/47$ میلی ولت اندازه گیری شد. میزان بارگیری آریپپرازول برابر با $61/64$ درصد بود و نیوزوم‌های کروی در تصویر میکروسکوپ الکترونی مشاهده شد. سمیت نیوزوم‌های آریپپرازول، نسبت به آریپپرازول خالص بر روی سلول‌های سرطانی بیش تر بود درحالی که بر روی سلول‌های نرمال کم‌ترین سمیت را ایجاد نمودند.

استنتاج: بیش‌ترین مهار رشد در سلول‌های HT-29، توسط نیوزوم آریپپرازول انجام می‌شود. هم‌چنین، نیوزوم آریپپرازول نسبت به آریپپرازول خالص، دارای سمیت کم‌تری است و اثربخشی ضدسرطانی آریپپرازول با کمک نیوزوم افزایش می‌یابد.

واژه های کلیدی: آریپپرازول، سرطان کولون، نیوزوم، نانوذره، HT-29

Email: z.sadeghi@mazums.ac.ir

مؤلف مسئول: زینب صادقی قادی - ساری: دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۱. گروه بیوتکنولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی البرز، کرج، ایران

۲. کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی البرز، کرج، ایران

۳. گروه فارماسیوتیکس، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۴. مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۳/۶ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۴۰۴/۳/۷ تاریخ تصویب: ۱۴۰۴/۶/۳

مقدمه

سرطان به رشد غیر نرمال سلول‌های بدن گفته می‌شود که باعث تغییر در میزان بیان ژن‌ها شده و منجر به برهم زدن تعادل بین تقسیم سلولی و مرگ سلولی می‌شود که در نهایت می‌تواند به توده‌ای از سلول‌ها تکامل یابد که قابلیت تهاجم به بافت‌ها را دارا است و می‌تواند متاستاز دهد (۱). در بین انواع سرطان‌ها، سرطان کولورکتال به عنوان یکی از مهم‌ترین مشکلات سلامت عمومی در جهان شناخته می‌شود که یک میلیون مبتلای جدید و نیم میلیون نفر مرگ و میر در جهان داشته است (۲). کماکان نرخ بروز این بیماری در کشورهای غربی در حال افزایش است. در حال حاضر سرطان کولون دومین جایگاه از نظر میزان مرگ و میر و شیوع در اروپا را دارا است (۳).

علی‌رغم تداخلات درمانی پیشرفته اعم از برداشتن تومور با جراحی، شیمی درمانی و رادیو درمانی کنترل مرگ و میر ناشی از سرطان بسیار مشکل است. روش‌های درمانی معمول سرطان به دلیل عدم دقت و دارو رسانی کافی به سلول سرطانی (به دلیل ماهیت لیپوفیلیک این داروها و اثر متابولیسم اولیه بالای آن‌ها) در کنترل بیماری ناموفق بودند. با پیشرفت علم نانو تکنولوژی روش‌های پیش‌تری برای دارو رسانی موثر در سرطان ممکن شد. با کمک سیستم‌های نانو می‌توان داروهای ضد سرطان را با غلظت بیش‌تری به سلول‌های سایت توموری رساند و از تجمع زیاد دارو در ارگان‌های سالم جلوگیری نمود که در نهایت منجر به اثر درمانی بهتر با حداقل عوارض جانبی می‌شوند (۴، ۵).

کشف داروی جدید یک پروسه زمان‌بر و پر زحمت و پرهزینه است. معمولاً ۱۰ الی ۱۵ سال طول می‌کشد تا یک داروی جدید توسعه داده شود به همین علت یافتن استراتژی جدید برای پیدا کردن داروهای جدید امری ضروری به نظر می‌رسد. یکی از این استراتژی‌های مناسب drug repositioning است طی این فرآیند اثر بخشی درمانی داروهای موجود در درمان بیماری‌های خاص را روی بیماری‌های دیگر بررسی می‌کنند. برتری

این روش به دیگر روش‌ها مشخص بودن پروفایل سمیت، کینتیک و فارماکودینامیک دارو است که به کاهش هزینه‌های تحقیقاتی کمک قابل توجهی می‌کند (۶، ۷). آریپیرازول یک داروی ضد جنون آتپیک است که برای درمان اختلالات روانی از قبیل اسکیزوفرنی، اپیزودهای جنونی مرتبط با افسردگی، افسردگی دو قطبی، سندرم فاز خواب تاخیری کاربرد دارد (۸). آریپیرازول یک مشتق کینولونی است و اولین دارو از دسته جدید ضد جنون‌های آتپیک است. این دارو اثر پارشیال آگونیستی روی گیرنده‌های 5-HT_{1a} و D₂ دارد و هم‌چنین اثر آنتاگونیستی روی گیرنده 5-HT_{2a} را دارا است (۹، ۱۰). حلالیت در آب آریپیرازول بسیار کم است و دارویی لیپوفیل است که روی سرعت انحلال آن و میزان جذب آن اثر می‌گذارد (۱۱). آریپیرازول دارای خصوصیات فیزیکوشیمیایی نامطلوب زیادی است و دارای مزه تلخی است (۱۲). این دارو در حلال‌هایی مثل استونیتریل، اتانول و به میزان بسیار کم در متانول محلول است به عنوان یک مشتق کینولینی آریپیرازول یک باز ضعیف با انحلال وابسته به PH است (۱۳).

با توجه به اهمیت یافتن رژیم‌های درمانی جدید در درمان سرطان و استفاده از سامانه‌های نوین جهت افزایش کارایی درمانی داروها و با بررسی مطالعات پیشین که اثر داروی آریپیرازول به صورت خالص در برخی از مطالعات ضد سرطانی بررسی شده است و اثرات ضد سرطانی آن به اثبات رسیده است. در این پژوهش جهت افزایش اثر بخشی آریپیرازول و کاهش سمیت آن روی سلول‌های نرمال، سامانه نیوزومی از داروی آریپیرازول تهیه شد و اثر بخشی درمانی آن بر روی رده سلولی HT29 مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی که با کد اخلاق IR.ABZUMS.REC.1400.282 در دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی البرز انجام شد، آنتی‌بیوتیک

پنی سیلین- استرپتومایسین، بافر فسفات سالین (PBS)، کیت MTT300 واکنشی، تریپسین EDTA، محیط کشت DMEM (High-glucose)، دی متیل سولفو کساید (DMSO) و سرم جنین گاوی (FBS) از شرکت DNA biotech تهیه شد. پودر آریپیرازول از کارخانه داروسازی تهران دارو دریافت شد. سلول‌های سرطانی کولون رده سلولی HT-29 و سلول‌های نرمال فیروبلست از انستیتو پاستور تهیه گردید.

تهیه نیوزوم

برای تهیه ۳۰ میلی لیتر محلول سوسپانسیونی از نیوزوم‌های آریپیرازول به روش هیدراته کردن لایه نازک، ابتدا ۰/۰۱ گرم پودر آریپیرازول، ۰/۰۲۵ گرم کلسترویل و ۰/۳ گرم اسپان ۶۰ را با استفاده از ترازو توزین شد و در مخلوطی از ۱۵ میلی لیتر حلال کلروفرم و ۱۵ میلی لیتر حلال اتانول حل شد. محلول حاصل به داخل یک بالن ته گرد با حجم ۱۰۰ میلی لیتر انتقال یافت و با استفاده از روش روتاری تحت شرایط خلأ در دمای ۶۰ درجه‌ی سانتی گراد، با گردش ۱۲۰ دور در دقیقه به مدت ۴۵ دقیقه حلال‌های کلروفرم و اتانول به طور کامل از این محلول حذف شد. در انتهای حذف حلال، فیلمی یکنواخت در دیواره‌ی بالن شکل گرفت. سپس ۳۰ میلی لیتر آب مقطر استریل به همراه چند گوی شیشه‌ای به بالن اضافه شد و با استفاده از روش روتاری در دمای ۶۰ درجه‌ی سانتی گراد و با گردش ۱۲۰ دور در دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه فیلم تشکیل شده هیدراته شد (بدون خلأ). سپس اجازه داده شد تا محلول به دمای اتاق رسیده و خنک شود. در نهایت محلول حاصل به مدت ۱۰ دقیقه به صورت منقطع سونیکه شد تا اندازه وزیکول‌های نیوزومی کوچک‌تر و گستره‌ی اندازه‌ی ذره‌ای یکنواخت‌تر گردد.

جداسازی نیوزوم

جهت جداسازی سامانه نیوزومی تهیه شده از رسوبات و ذرات درشتی همانند کلسترویل یا

سورفکتانت موجود در محیط که در روند تشکیل سامانه مورد استفاده قرار نگرفتند، سوسپانسیون تهیه شده پس از سونیکاسیون به مدت ۳۰ دقیقه با گردش ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد و محلول رویی که حاوی نیوزوم‌ها است به آرامی برداشت شد و به یک لوله فالتون انتقال داده شد.

بررسی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی

اندازه ذره و پراکندگی اندازه ذره‌ای

اندازه ذره‌ای و پراکندگی اندازه‌ی ذره‌ای نیوزوم‌های تهیه شده با کمک دستگاه DLS (Malvern, Worcestershire, UK) مورد بررسی قرار گرفت. در این روش بر اساس میزان نوسانات ایجاد شده در نور پراکنده شده اندازه ذره‌ای محاسبه می‌شود. این روش با نام Photon Correlation Spectroscopy نیز شناخته می‌شود (۱۴). تکرارها انجام شده و میانگین مقادیر به دست آمده گزارش شدند.

پتانسیل زتا

جهت اندازه‌گیری میزان پتانسیل زتا از دستگاه زتاسایزر (Zetasizer Nano ZPS Instrument, Malvern, Worcestershire, UK) استفاده شد. بدین نحو که مقدار مشخصی از نمونه در سل دستگاه قرار گرفت و پتانسیل زتا نمونه توسط دستگاه اندازه‌گیری شد (۱۵). تکرارها انجام شده و میانگین مقادیر به دست آمده گزارش شدند.

بررسی میزان بارگیری آریپیرازول در سامانه‌های نیوزومی

ابتدا یک شیشه ساعت وزن شد و میزان ۵ میلی لیتر از نیوزوم‌ها داخل میکروتیوب ریخته شد. سپس به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۵۰ درجه در آون قرار داده شد تا حامل آبی به طور کامل از محلول حذف شود. پس از تبخیر کامل حامل مجدداً شیشه ساعت توزین شد و با به دست آوردن اختلاف وزن شیشه ساعت، وزن

نیوزوم‌های خشک را به دست آورده شد. سپس ۸ میلی لیتر حلال اتانول به نیوزوم‌های خشک شده اضافه شد تا نیوزوم‌ها به طور کامل تخریب شوند و دارو از سامانه آزاد گردد. جهت حصول نتیجه بهتر محلول به بشر کوچک انتقال داده شد و به مدت ۵ دقیقه سونیکه شد تا دارو به طور کامل از فرمولاسیون آزاد شود. با اندازه گیری جذب دارو در طول موج ماکسیمم توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر و جایگذاری در منحنی استاندارد، غلظت-داروی بارگیری شده در سامانه به دست آمد.

میزان به دام افتادن دارو در سامانه نیوزومی (Entrapment Efficiency (EE% با کمک معادله زیر محاسبه شد.

$$\%EE = \frac{\text{Amount of loaded drug}}{\text{Total amount of drug}} \times 100$$

جهت تعیین میزان لودینگ دارو در نیوزوم‌ها Drug loading (DL%) از معادله زیر استفاده شد.

$$\%DL = \frac{\text{Amount of entrapped drug in nanoparticles}}{\text{Total weight of nanoparticles}} \times 100$$

بررسی ریخت شناسی نیوزوم‌ها با کمک میکروسکوپ الکترونی گذاره (Transmission Electron Microscopy)

جهت بررسی شکل نیوزوم‌ها، لایه لایه بودن و هم چنین اندازه ذره‌ای آن‌ها از میکروسکوپ الکترونی گذاره استفاده شد.

بررسی اثرات ضد سرطانی بر سرطان کولون (تست MTT) (MTT assay)

ابتدا تعداد بین ۵۰۰۰ تا ۱۰۰۰۰ سلول همراه با ۲۰۰ میکرولیتر محیط کشت DMEM High Glucose حاوی ۱۰ درصد FBS، ۱۰۰ واحد پنی سیلین + استرپتومایسین (۱ درصد) به هر چاهک از دو پلیت ۹۶ خانه‌ای اضافه شد و ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد (CO₂ ۵ درصد) گرم‌گذاری شد. به دلیل نرخ رشد کم‌تر سلول‌های فیروبلاست انسانی و جهت اتصال بهتر سلول‌ها به کف

فلاسک از محیط کشت حاوی ۱۵ درصد سرم استفاده شد. سلول‌ها با سه نمونه‌ی نیوزوم بدون دارو، نیوزوم حاوی آریپیرازول و آریپیرازول خالص با غلظت ۱۰، ۲۰ و ۳۰ میکرومول در لیتر تیمار شدند (علاوه بر سلول‌های تحت تیمار، سلول‌های تیمار نشده برای کنترل منفی و چاهک فاقد سلول هم به عنوان بلانک در نظر گرفته شد) و به مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت درون انکوباتور در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی گراد (۵ CO₂ درصد) انکوبه شدند. کرایو تیوب حاوی نمک MTT درون یک میلی لیتر PBS استریل کاملاً حل شد. پس از تخلیه محیط کشت از چاهک‌ها ۱۰۰ μl از محلول حاصل به هر چاهک اضافه شد و پس از آن ۹۰ μl PBS استریل نیز به هر چاهک اضافه شد و پلیت‌ها به مدت ۴ ساعت در انکوباتور قرار گرفت. پس از گذشت ۴ ساعت، مایع رویی به آرامی و به طور کامل تخلیه شد به صورتی که رسوب‌های ته چاهک‌ها تخلیه نشوند. سپس ۱۰۰ μl از DMSO داخل هر چاهک ریخته شد. پس از بستن درب پلیت درون فویل آلومینیومی پیچیده شد تا نور به آن نرسد و به مدت ۲۰ دقیقه کنار گذاشته شد. پس از بیست دقیقه (اگر ته چاهک‌ها رسوب حل نشده مشاهده شد) پلیت به مدت ۵ دقیقه روی شیکر با دور متوسط قرار داده شد پس از حل شدن رسوب formazan در DMSO، جذب نوری آن‌ها در ۵۷۰ نانومتر تا ۶۳۰ نانومتر در دستگاه ELISA reader خوانده شد. تمامی مراحل برای رده‌ی سلولی نرمال NHDF (به عنوان گروه کنترل) تکرار گردید. درصد زنده‌مانی سلول‌ها بر اساس فرمول زیر به دست آمد.

$$\text{جذب بلانک} - \text{جذب نمونه} \\ \text{جذب بلانک} - \text{جذب کنترل} \times 100 = \text{درصد زنده‌مانی سلول}$$

یافته‌ها

بررسی‌های فیزیکوشیمیایی

اندازه ذره و پراکندگی اندازه ذره‌ای

اندازه‌ی ذره‌ای نیوزوم‌ها با استفاده از روش DLS مقدار ۳۴۸/۸ ± ۹/۷۵ nm محاسبه شد و مقدار

پراکندگی ذره‌ای برابر با 0.68 ± 0.11 به دست آمد که نتایج بیانگر اندازه ذره‌ای مناسب نیوزوم‌ها می‌باشد.

پتانسیل زتا

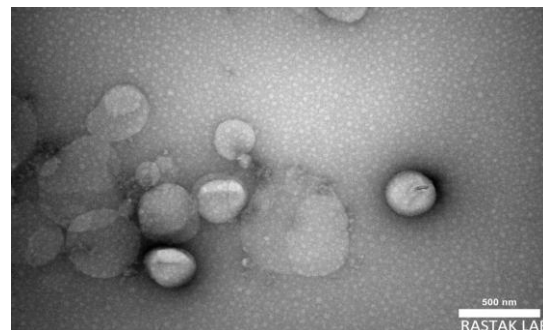
پتانسیل زتا نیوزوم‌ها با استفاده از دستگاه Zeta sizer مقدار $2/47 \pm 67/68$ mV به دست آمد.

بارگیری آریپیرازول در سامانه‌های نیوزومی

میزان EE درصد برای نیوزوم‌های آریپیرازول $61/64 \pm 5/8$ درصد محاسبه گشت و DL برای نیوزوم‌ها معادل $2/57 \pm 0/32$ درصد به دست آمد.

ریخت شناسی نیوزوم‌ها با کمک میکروسکوپ الکترونی گذاره (Transmission Electron Microscopy)

با توجه به تصویر شماره ۱، بررسی میکروسکوپی به کمک میکروسکوپ الکترونی گذاره نشان داد که نانو نیوزوم‌ها دارای اشکال کروی بودند.



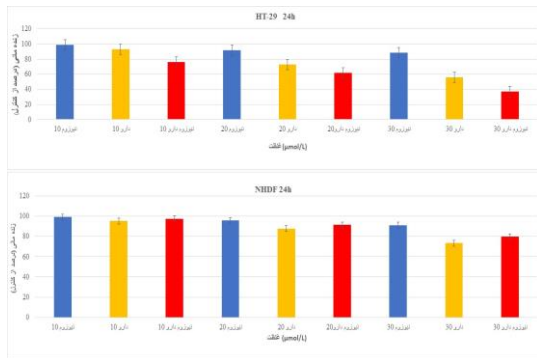
تصویر شماره ۱: عکس میکروسکوپی گذاره از نیوزوم‌های حاوی آریپیرازول که نیوزوم‌ها به صورت کروی قابل مشاهده هستند

تست MTT

اثر بخشی سوسپانسیون نیوزومی آریپیرازول در ۲۴ و ۴۸ ساعت بر سلول‌های سرطانی HT-29 و سلول‌های نرمال NHDF بررسی شد.

پس از گذشت ۲۴ ساعت از تیمار سلول‌های سرطانی HT-29 و سلول‌های نرمال NHDF با آریپیرازول خالص، نیوزوم‌های حاوی آریپیرازول و نیوزوم‌های بدون دارو،

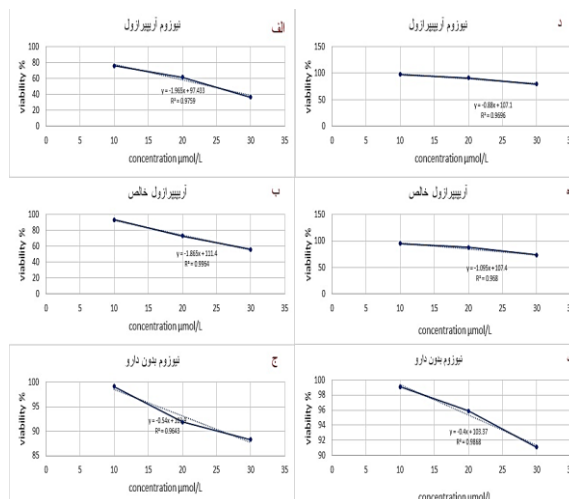
میزان زنده‌مانی سلول‌ها اندازه‌گیری شد. نتایج زنده‌مانی سلول‌ها در هر سه غلظت مورد بررسی بر حسب درصد در تصویر شماره ۲، قابل مشاهده است.



تصویر شماره ۲: الف: میزان زنده‌مانی سلول‌های سرطانی HT-29 بر حسب درصد پس از گذشت ۲۴ ساعت از تیمار با آریپیرازول خالص، نیوزوم‌های حاوی آریپیرازول و نیوزوم‌های بدون دارو، ب: میزان زنده‌مانی سلول‌های نرمال NHDF بر حسب درصد پس از گذشت ۲۴ ساعت از تیمار با آریپیرازول خالص، نیوزوم‌های حاوی آریپیرازول و نیوزوم‌های بدون دارو، سلول‌های سرطانی HT-29 تیمار شده با نیوزوم‌های آریپیرازول، زنده‌مانی کم‌تری را نسبت به سلول‌های تیمار شده با آریپیرازول خالص و نیوزوم‌های بدون دارو داشته‌اند.

همان‌طور که در تصویر شماره ۲، قابل مشاهده است سلول‌های سرطانی HT-29 تیمار شده با نیوزوم‌های آریپیرازول، زنده‌مانی کم‌تری را نسبت به سلول‌های تیمار شده با آریپیرازول خالص و نیوزوم‌های بدون دارو داشته‌اند. با توجه به نتایج به دست آمده و بررسی‌های آماری (آزمون توکی)، پس از گذشت ۲۴ ساعت از تیمار تفاوت معنی‌داری بین زنده‌مانی سلول‌های سرطانی تیمار شده با نیوزوم‌های آریپیرازول با سلول‌های سرطانی تیمار شده با آریپیرازول خالص وجود دارد. هم‌چنین تفاوت معنی‌دار بین میزان زنده‌مانی گروه تیمار شده با نیوزوم‌های بدون دارو و گروه تیمار شده با نیوزوم‌های حاوی آریپیرازول وجود دارد. هم‌چنین سلول‌های نرمال تیمار شده با نیوزوم‌های آریپیرازول، درصد زنده‌مانی بیش‌تری نسبت به سلول‌های تیمار شده با آریپیرازول خالص داشتند که این نشان‌دهنده‌ی کاهش سمیت

آرپیپرازول طی فرمولاسیون به صورت نیوزوم بوده است. هم چنین اجزای فرمولاسیون زیست سازگاری بالایی با سلول‌های نرمال داشته است. با توجه به نتایج آماری آزمون توکی، بین میزان زنده‌مانی گروه تیمار شده با آرپیپرازول خالص و گروه تیمار شده با نیوزوم‌های آرپیپرازول تفاوت معنی‌دار وجود دارد. هم چنین بین میزان زنده‌مانی گروه تیمار شده با نیوزوم‌های بدون دارو و گروه تیمار شده با نیوزوم‌های آرپیپرازول نیز تفاوت معنی‌دار مشاهده می‌شود ($P < 0.05$). نمودار نقطه و خط غلظت-درصد زنده‌مانی هر سه فرمولاسیون بر روی رده‌های سلولی HT29 و نرمال در تصویر شماره ۳ نشان داده شده است.

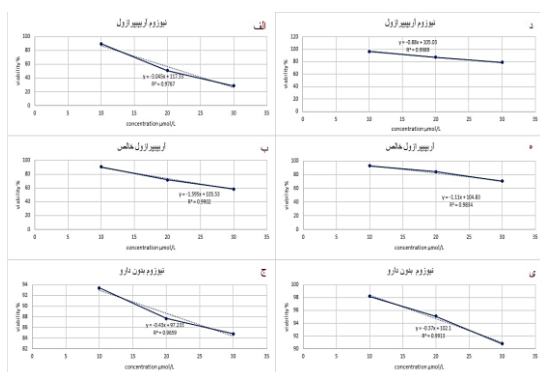


تصویر شماره ۳: الف: نمودار نقطه و خط غلظت-درصد زنده‌مانی سلول‌های HT-29 تیمار شده با آرپیپرازول خالص، ب: نمودار نقطه و خط غلظت-درصد زنده‌مانی سلول‌های HT-29 تیمار شده با نیوزوم آرپیپرازول، ج: نمودار نقطه و خط غلظت-درصد زنده‌مانی سلول‌های HT-29 تیمار شده با نیوزوم بدون دارو، د: نمودار نقطه و خط غلظت-درصد زنده‌مانی سلول‌های NHDF تیمار شده با نیوزوم آرپیپرازول، ه: نمودار نقطه و خط غلظت-درصد زنده‌مانی سلول‌های NHDF تیمار شده با نیوزوم بدون دارو، میزان Ic_{50} آرپیپرازول برابر با $24/13 \mu\text{mol/L}$ و میزان Ic_{50} نیوزوم برابر با $99/81 \mu\text{mol/L}$ می‌باشد، د: نمودار نقطه و خط غلظت-درصد زنده‌مانی سلول‌های NHDF تیمار شده با نیوزوم آرپیپرازول، ه: نمودار نقطه و خط غلظت-درصد زنده‌مانی سلول‌های NHDF تیمار شده با نیوزوم بدون دارو، میزان Ic_{50} آرپیپرازول خالص در رده سلولی نرمال برابر با $52/42 \mu\text{mol/L}$ برای نیوزوم آرپیپرازول برابر با $64/88 \mu\text{mol/L}$ و نیوزوم بدون دارو برابر با $133/42 \mu\text{mol/L}$

میزان Ic_{50} در فرمولاسیون‌های مختلف متفاوت بود و با یکدیگر تفاوت معنی‌داری داشت. Ic_{50} آرپیپرازول خالص در رده سلولی HT29 برابر با $32.92 \mu\text{mol/L}$ محاسبه شد در حالی که میزان Ic_{50} نیوزوم آرپیپرازول در رده سلولی HT29 برابر با $24/13 \mu\text{mol/L}$ محاسبه شد و میزان Ic_{50} نیوزوم بدون دارو برابر با $99.81 \mu\text{mol/L}$ بود. میزان Ic_{50} آرپیپرازول خالص در رده سلولی نرمال برابر با $52/42 \mu\text{mol/L}$ محاسبه شد. در حالی که این میزان برای نیوزوم آرپیپرازول برابر با $64/88 \mu\text{mol/L}$ بود. هم چنین میزان Ic_{50} نیوزوم بدون دارو برابر با $133/42 \mu\text{mol/L}$ محاسبه شد.

پس از گذشت 48 ساعت از تیمار سلول‌های سرطانی HT-29 و سلول‌های نرمال با آرپیپرازول خالص، نیوزوم‌های حاوی آرپیپرازول و نیوزوم‌های بدون دارو، میزان زنده‌مانی سلول‌ها اندازه‌گیری شد. نتایج زنده‌مانی سلول‌ها در هر سه غلظت مورد بررسی بر حسب درصد در تصویر شماره ۴، قابل مشاهده است. سلول‌های سرطانی HT-29 تیمار شده با نیوزوم‌های آرپیپرازول، زنده‌مانی کم‌تری را نسبت به سلول‌های تیمار شده با آرپیپرازول خالص و نیوزوم‌های بدون دارو داشته‌اند. با توجه به نتایج آماری آزمون توکی، پس از گذشت 48 ساعت از تیمار تفاوت معنی‌داری بین زنده‌مانی سلول‌های سرطانی تیمار شده با نیوزوم‌های آرپیپرازول با سلول‌های سرطانی تیمار شده با آرپیپرازول خالص وجود دارد. هم چنین تفاوت معنی‌دار بین میزان زنده‌مانی گروه تیمار شده با نیوزوم‌های بدون دارو و گروه تیمار شده با نیوزوم‌های حاوی آرپیپرازول وجود دارد. سلول‌های نرمال تیمار شده با نیوزوم‌های آرپیپرازول، درصد زنده‌مانی بیش‌تری نسبت به سلول‌های تیمار شده با آرپیپرازول خالص داشتند که این نشان‌دهنده‌ی کاهش سمیت آرپیپرازول طی فرمولاسیون به صورت نیوزوم بوده است. هم چنین اجزای فرمولاسیون زیست سازگاری بالایی با سلول‌های نرمال داشته است. با توجه به نتایج آماری آزمون توکی، بین

محاسبه شد. و در نیوزوم بدون دارو برابر با 140.81 $\mu\text{mol/L}$ بود ($P < 0.05$).

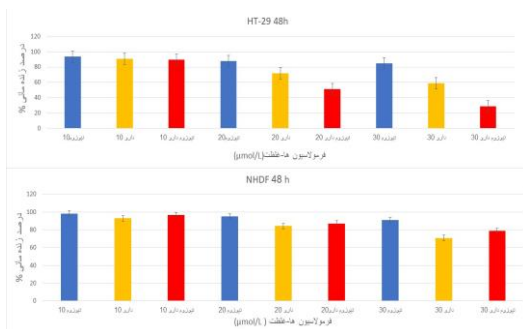


تصویر شماره ۵: نمودار نقطه و خط غلظت- درصد زنده مانی هر سه فرمولاسیون در رده سلولی HT29 و رده سلولی نرمال، Ic_{50} آریپیپرازول خالص در رده سلولی HT-29 برابر با $34/81 \mu\text{mol/L}$ و در نیوزوم آریپیپرازول برابر با $22.11 \mu\text{mol/L}$ و در نیوزوم بدون دارو برابر با $109/83 \mu\text{mol/L}$ بود. میزان Ic_{50} آریپیپرازول خالص در سلول‌های نرمال برابر با $49/39 \mu\text{mol/L}$ و در نیوزوم آریپیپرازول برابر با $62/53 \mu\text{mol/L}$ و در نیوزوم بدون دارو برابر با $140/81 \mu\text{mol/L}$ بود.

با توجه به نتایج آماری آزمون T-تست مستقل، بین میزان زنده مانی گروه تیمار شده با آریپیپرازول خالص پس از گذشت ۲۴ ساعت و گروه تیمار شده با آریپیپرازول خالص پس از گذشت ۴۸ ساعت، تفاوت معنی دار وجود ندارد. علاوه بر این با توجه به نتایج آماری آزمون T-تست مستقل، بین میزان زنده مانی گروه تیمار شده با آریپیپرازول خالص پس از گذشت ۲۴ ساعت و گروه تیمار شده با آریپیپرازول خالص پس از گذشت ۴۸ ساعت، تفاوت معنی دار وجود ندارد. همچنین با توجه به نتایج آماری آزمون T-تست مستقل، بین میزان زنده مانی گروه تیمار شده با نیوزوم های آریپیپرازول پس از گذشت ۲۴ ساعت و گروه تیمار شده با نیوزوم های آریپیپرازول پس از گذشت ۴۸ ساعت، تفاوت معنی دار وجود دارد ($P = 0.171$).

با توجه به نتایج آماری آزمون T-تست مستقل، بین میزان زنده مانی گروه تیمار شده با نیوزوم های آریپیپرازول پس از گذشت ۲۴ ساعت و گروه تیمار شده

میزان زنده مانی گروه تیمار شده با آریپیپرازول خالص و گروه تیمار شده با نیوزوم های آریپیپرازول تفاوت معنی دار وجود دارد. همچنین بین میزان زنده مانی گروه تیمار شده با نیوزوم های بدون دارو و گروه تیمار شده با نیوزوم های آریپیپرازول نیز تفاوت معنی دار مشاهده می شود ($P < 0.05$).



تصویر شماره ۶: الف: میزان زنده مانی سلول های سرطانی HT-29 بر حسب درصد پس از گذشت ۴۸ ساعت از تیمار با آریپیپرازول خالص، نیوزوم های حاوی آریپیپرازول و نیوزوم های بدون دارو، سلول های سرطانی HT-29 تیمار شده با نیوزوم های آریپیپرازول، زنده مانی کمتری را نسبت به سلول های تیمار شده با آریپیپرازول خالص و نیوزوم های بدون دارو داشته اند، ب: میزان زنده مانی سلول های نرمال NHDF بر حسب درصد پس از گذشت ۴۸ ساعت از تیمار با آریپیپرازول خالص، نیوزوم های حاوی آریپیپرازول و نیوزوم های بدون دارو سلول های نرمال تیمار شده با نیوزوم های آریپیپرازول، درصد زنده مانی بیشتری نسبت به سلول های تیمار شده با آریپیپرازول خالص داشتند.

نمودار نقطه و خط غلظت-درصد زنده مانی هر سه فرمولاسیون در رده سلولی HT29 و رده سلولی نرمال در تصویر شماره ۵، قابل مشاهده است. Ic_{50} آریپیپرازول خالص در رده سلولی HT-29 برابر با $34/81 \mu\text{mol/L}$ محاسبه شد. در حالی که این میزان در نیوزوم آریپیپرازول برابر با $22/11 \mu\text{mol/L}$ محاسبه شد و در نیوزوم بدون دارو برابر با $109/83 \mu\text{mol/L}$ بود ($P < 0.05$).

میزان Ic_{50} آریپیپرازول خالص در سلول های نرمال برابر با $49/39 \mu\text{mol/L}$ محاسبه شد. در حالی که این میزان در نیوزوم آریپیپرازول برابر با $62.53 \mu\text{mol/L}$

با نیوزوم‌های آریپیرازول پس از گذشت ۴۸ ساعت، تفاوت معنی‌دار وجود ندارد ($P=0/35$). با توجه به نتایج آماری آزمون T-تست مستقل، بین میزان زنده‌مانی گروه تیمار شده با نیوزوم‌های بدون دارو پس از گذشت ۲۴ ساعت و گروه تیمار شده با نیوزوم‌های بدون دارو پس از گذشت ۴۸ ساعت، تفاوت معنی‌دار وجود دارد ($P=0/36$). با توجه به نتایج آماری آزمون T-تست مستقل، بین میزان زنده‌مانی گروه تیمار شده با نیوزوم‌های بدون دارو پس از گذشت ۲۴ ساعت و گروه تیمار شده با نیوزوم‌های بدون دارو پس از گذشت ۴۸ ساعت، تفاوت معنی‌دار وجود ندارد ($P=0/47$).

بحث

نتایج به دست آمده از اندازه، اندازه ذره ای و پتانسیل زتا نشان می‌دهد نیوزوم‌های تهیه شده دارای اندازه ذره ای مناسب در محدوده نانو می‌باشند که با نتایج به دست آمده از مطالعات پیشین در زمینه نیوزوم‌ها مطابقت می‌کند (۱۷-۱۴). هم‌چنین مقدار میانگین پتانسیل زتا نیوزوم تهیه شده در این پژوهش برابر $2/47 \pm 67/68$ بود که نشان می‌دهد فرمولاسیون‌های تهیه شده از پتانسیل زتا و پایداری مناسبی برخوردار بود به عبارت دیگر میزان پتانسیل زتا به اندازه‌ای بود که نشان می‌دهد نیروی دافعه الکتروستاتیک برای پایدار نگه داشتن فرمولاسیون‌ها کافی باشد. پژوهش‌های انجام شده پیشین نیز نتایج مشابه‌ای را نشان دادند (۱۶، ۲۰-۱۸). نتایج تصویر برداری میکروسکوپی نشان داد نیوزوم‌های تهیه شده دارای شکل کروی بودند که با نتایج حاصل از مطالعات پیشین مطابقت می‌کند (۱۶-۱۴). نتایج به دست آمده از بررسی MTT نشان داد که اثر بخشی نیوزوم‌های آریپیرازول در از بین بردن سلول‌های سرطانی نسبت به آریپیرازول خالص به طور معنی‌داری بیش‌تر بوده است. هم‌چنین سمیت نیوزوم‌های آریپیرازول بر رده‌ی سلولی نرمال فیروبلست نسبت به آریپیرازول خالص کاهش چشم‌گیری داشته است. هم‌چنین با توجه به اثرگذاری

بیش‌تر نیوزوم‌های آریپیرازول، دوز مورد نیاز مطلوب کاهش پیدا کرده و این مسئله نیز خود باعث کاهش عوارض جانبی می‌گردد. در بررسی اثر نیوزوم‌های بدون دارو مشاهده شد که نقش اجزای فرمولاسیون در از بین بردن سلول‌های سرطانی ناچیز بوده است. این نتایج به دست آمده از اثربخشی موثر سامانه نیوزومی در دارو رسانی آریپیرازول با نتایج به دست آمده از مطالعات پیشین مطابقت می‌نماید. این نتایج هم‌چنین با نتایج به دست آمده از پژوهشی بر روی آریپیرازول که طی آن نانوذرات آریپیرازول جهت درمان سرطان سینه تهیه شده بود مطابقت می‌نماید (۱۸، ۲۱). در بررسی زنده‌مانی سلول‌های سرطانی در زمان‌های ۲۴، ۴۸ ساعت مشاهده می‌شود با گذر زمان زنده‌مانی سلول‌های سرطانی کاهش پیدا کرده و این کاهش در نیوزوم آریپیرازول به طور معنی‌داری بود یعنی میزان تیمار ۴۸ ساعته برای سلول‌های سرطانی موثرتر بوده است. از طرفی بین زنده‌مانی سلول‌های سرطانی تیمار شده با آریپیرازول خالص در زمان‌های ۴۸ و ۲۴ ساعت تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد و این بدین معناست که فرمولاسیون نیوزومی سبب آهسته رهش شدن دارو و طولانی‌تر شدن مدت اثر بخشی آن شده است که با نتایج به دست آمده از مطالعات پیشین در ارتباط با اثر بخشی سامانه نیوزومی در دارو رسانی داروها مطابقت می‌نماید. این نتایج هم‌چنین با نتایج به دست آمده از پژوهشی بر روی آریپیرازول که طی آن نانوذرات آریپیرازول جهت درمان سرطان سینه تهیه شده بود، مطابقت می‌نماید (۱۴، ۱۵، ۱۸، ۲۱). هم‌چنین میزان IC_{50} نیوزوم آریپیرازول برای سلول HT-29 در ۲۴ ساعت برابر با $24.13 \mu\text{mol/L}$ و در ۴۸ ساعت برابر با $11/22 \mu\text{mol/L}$ محاسبه شد. IC_{50} نیوزوم آریپیرازول برای سلول NHDF در ۲۴ ساعت برابر با $67/88 \mu\text{mol/L}$ و در ۴۸ ساعت برابر با $53/62 \mu\text{mol/L}$ محاسبه شد که این مقادیر نسبت به رده HT-29 تقریباً سه برابر است و باعث می‌شود فرمولاسیون نیوزومی آریپیرازول از خود پنجره درمانی مناسبی نشان دهد. هم‌چنین IC_{50}

داروها نسبت به داروی خالص گشته است که نتایج به دست آمده در این پژوهش نیز با این مطالعات مطابقت دارد (۲۲، ۲۳).

با در نظر گرفتن نتایج تست MTT در سلول‌های سرطانی HT-29، بیش‌ترین مهار رشد در سلول‌های HT-29 تیمار شده با نیوزوم‌های آریپیرازول دیده شد. همچنین، نیوزوم‌های آریپیرازول نسبت به آریپیرازول خالص، سمیت کم‌تری را از خود نشان دادند. در نتیجه نیوزوم می‌تواند حامل مناسبی برای بهبود اثربخشی و کاهش سمیت آریپیرازول باشد. همچنین نیوزوم‌های بدون دارو سمیت بسیاری ناچیزی روی سلول‌های نرمال از خود نشان دادند که نشان دهنده زیست سازگاری فرمولاسیون نیوزومی است.

سپاسگزاری

از همکاری معاونت محترم تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی البرز طی انجام این پروژه سپاسگزاری می‌شود همچنین از شرکت داروسازی تهران دارو جهت همکاری و دریافت آریپیرازول به صورت هدیه سپاسگزاریم.

نیوزوم‌های بدون دارو برای سلول NHDF در ۴۸ ساعت برابر با $140/81 \mu\text{mol/L}$ و در ۲۴ ساعت برابر با ۱۳۳.۴۲ $\mu\text{mol/L}$ محاسبه شد که تقریباً دو برابر ic_{50} نیوزوم‌های آریپیرازول برای سلول NHDF است و این نشان دهنده زیست سازگاری بالای این فرمولاسیون است. در پژوهش‌هایی که توسط Adnan Badran و همکاران در سال ۲۰۲۰ و Mi Seon Kim و همکاران در سال ۲۰۱۸ انجام شد اثر ضد سرطانی آریپیرازول بر روی سلول‌های سرطانی سینه MCF-7، سلول‌های سرطان روده CT26 و سلول‌های سرطان معده MKN-1 تایید شده است و نتیجه‌ای که در این پژوهش به دست آمد نیز اثر ضد سرطانی آریپیرازول بر روی رده سلولی HT-29 را تایید می‌کند (۷، ۸). در پژوهش‌هایی که توسط el-far و همکاران در سال ۲۰۲۲ (۳۴) و Karamallah و همکاران در سال ۲۰۱۸ انجام شد، با تهیه فرمولاسیون نیوزومی از داروهای ضد سرطان موجود در بازار به مقایسه اثر سایتوتوکسیسته و ضد سرطانی آن‌ها با داروی خالص روی رده‌های سرطان کولون HT-29 و رده سرطان لوکمی لنفوبلاستیک Nalm-6 پرداختند که مشخص شد فرمولاسیون نیوزومی سبب اثربخشی چند برابری این

References

1. Ruddon RW. Preface. In: Ruddon RW, editor. Cancer Biology. Oxford: Oxford University Press; 2007. p. v-vi.
2. Chau I, Cunningham D. Adjuvant therapy in colon cancer--what, when and how? Ann Oncol 2006;17(9):1347-1359. PMID: 16524974.
3. Stein U, Schlag PM. Clinical, biological, and molecular aspects of metastasis in colorectal cancer. Recent Results Cancer Res 2007; 176:61-80. PMID: 17607917.
4. Sharma P, Mehta M, Dhanjal DS, Kaur S, Gupta G, Singh H, et al. Emerging trends in the novel drug delivery approaches for the treatment of lung cancer. Chem Biol Interact 2019; 309: 108720. PMID: 31226287.
5. Utreja P, Jain S, Tiwary AK. Novel drug delivery systems for sustained and targeted delivery of anti-cancer drugs: current status and future prospects. Curr Drug Deliv 2010; 7(2): 152-161. PMID: 20158482.
6. Xue H, Li J, Xie H, Wang Y. Review of Drug Repositioning Approaches and Resources. Int J Biol Sci 2018; 14(10):1232-1244. PMID: 30123072.
7. Badran A, Mady M, Ghoneim M, Abou-Taleb H. Antipsychotics drug aripiprazole as a lead against breast cancer cell line

- (MCF-7) in vitro. PLoS One 2020; 15(8): e0235676.
8. Kim MS, Lee S, Lee JK, Jung JW, Park JS, Kim HS, et al. Src is the primary target of aripiprazole, an atypical antipsychotic drug, in its anti-tumor action. *Oncotarget* 2018;9(5):5979-5992. PMID: 29464048.
 9. Mace S, Taylor D. Aripiprazole. *CNS Drugs* 2009; 23(9): 773-780. PMID: 19689167.
 10. DeLeon A, Patel NC, Crismon ML. Aripiprazole: A comprehensive review of its pharmacology, clinical efficacy, and tolerability. *Clin Ther* 2004;26(5):649-666. PMID: 15220010.
 11. Tănase IM, Popa M, Pânzariu A, Profire L, Sunel V, Lupusoru CE, et al. Physicochemical characterization and molecular modeling study of host-guest systems of aripiprazole and functionalized cyclodextrins. *J Therm Anal Calorim* 2020; 141(3):1027-1039.
 12. Afroz H, Mohammed AR, Perumal D. Salt Engineering of Aripiprazole with Polycarboxylic Acids to Improve Physicochemical Properties. *AAPS PharmSciTech* 2021;22(1):31. PMID: 33405012.
 13. Xu Y, Liu X, Lian R, Zheng S, Yin Z, Lu Y, et al. Enhanced dissolution and oral bioavailability of aripiprazole nanosuspensions prepared by nanoprecipitation/homogenization based on acid-base neutralization. *Int J Pharm* 2012;438(1-2):287-295. PMID: 22989976.
 14. Sadeghi Ghadi Z, Ebrahimnejad P. Curcumin entrapped hyaluronan containing niosomes: preparation, characterisation and in vitro/in vivo evaluation. *J Microencapsul* 2019; 36(2): 169-179. PMID: 31104531.
 15. Sadeghi Ghadi Z, Dahanzadeh K, Ebrahimnejad P. Preparation, characterization and in vivo evaluation of novel hyaluronan containing niosomes tailored by Box-Behnken design to co-encapsulate curcumin and quercetin. *Eur J Pharm Sci* 2019; 130: 234-246. PMID: 30711688.
 16. Sadeghi-Ghadi Z, Ebrahimnejad P, Talebpour Amiri F, Nokhodchi A. Improving antibacterial efficiency of curcumin in magnetic polymeric nanocomposites. *J Pharm Innov* 2023; 18(1): 13-28.
 17. Sadeghi-Ghadi Z, Ebrahimnejad P, Badali H, Afsarian MH, Lotfali E, Fakhim H, et al. Potent in vitro activity of curcumin and quercetin co-encapsulated in nanovesicles without hyaluronan against *Aspergillus* and *Candida* isolates. *J Mycol Med* 2020; 30(4):101014.
 18. Abasi M, Sadeghi-Ghadi Z, Ebrahimnejad P, Nokhodchi A. Curcumin loaded hyaluronan modified niosomes: Preparation, characterization and anti-cancer activity on triple-negative breast cancer cells. *J Drug Deliv Sci Technol* 2025; 108:106869.
 19. Hezarjaribi HZ, Sadeghi Ghadi Z, Ebrahimnejad P, Taghizadeh S, Niaraki S, Ryan H, et al. Promising potent in vitro activity of curcumin and quercetin nano-niosomes against *Trichomonas vaginalis*. *Ann Parasitol* 2022; 68(2): 263-273. PMID: 35809560.
 20. Mahjoub MA, Sadeghi Ghadi Z, Ebrahimnejad P. Preparation and Optimization of Controlled Release

- Nanoparticles Containing Cefixime Using Central Composite Design: An Attempt to Enrich Its Antimicrobial Activity. *Curr Drug Deliv* 2022;19(3):369-378. PMID: 34315365.
21. Alimohammadvand S, Sadeghi-Ghadi Z, Ebrahimnejad P, Nokhodchi A. Aripiprazole-loaded niosome/chitosan-gold nanoparticles for breast cancer chemo-photo therapy. *BMC Biotechnol* 2024;24(1):108. PMID: 39719556.
 22. El-Far SW, Hadel A Abo El-Enin, Ebtsam M Abdou, Ola Elsayed Nafea, Rehab Abdelmonem. Targeting Colorectal Cancer Cells with Niosomes Systems Loaded with Two Anticancer Drugs Models; Comparative In Vitro and Anticancer Studies. *Pharmaceuticals (Basel)* 2022; 15(7): e00000. PMID: 35890115.
 23. Karamallah M H, Alemi A, Majid Farrokhifar, Hadi Zare-Zardini, Mojtaba Haghi Karamallah. A Comparison between the Anticancer Activities of Free Paclitaxel and Paclitaxel-Loaded Niosome Nanoparticles on Human Acute Lymphoblastic Leukemia Cell Line Nalm-6. *Iran J Pediatr Hematol Oncol* 2018;8(3):153-160.