زیست فناوری دانشگاه تربیت مدرس

سنتز نانوحامل سرازوم و بررسی پایداری و رهایش ترکیب زیست‌فعال گالیک‌اسید بارگذاری شده در آن

سید محمدرضا مرتضوی[1]، زهرا واعظی[2]، حسین نادری‌منش[1]***

۱-کارشناسی ارشد، گروه نانو بیوتکنولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت‌مدرس، تهران، ایران
۲-استادیار، گروه مواد زیست‌فعال، دانشکده علوم و فناوری‌های بین‌رشته‌ای، دانشگاه تربیت‌مدرس، تهران، ایران
۳-استاد، گروه نانو بیوتکنولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت‌مدرس، تهران، ایران
*صندوق پستی ۱۵٤-۱٤۱۱۵،تهران، ایران
Naderman@modares.ac.ir, Zahra.vaezi@modares.ac.ir

دریافت: ۱٤۰۱/۰۱/۲۹ پذیرش: ۱٤۰۱/۰٤/۰٦

چکیده

بیماری التهاب روده یک بیماری التهابی مزمن در دستگاه گوارش می‌باشد. علی‌رغم تلاش‌های زیاد در چند سال گذشته و همچنین افزایش تعداد بیماران مبتلا، در حال حاضر داروهای محدودی برای مدیریت التهاب روده در دسترس است. طراحی یک روش درمانی بیولوژیکی جدید با استفاده از داروهای زیست‌فعال طبیعی با عوارض جانبی کمتر و انتقال ایمن‌تر نسبت به مواد شیمیایی می‌تواند مفید باشد. در این مطالعه، یک استراتژی جدید برای رهایش کنترل شده گالیک‌اسید به‌عنوان یک پلی فنول زیست‌فعال با اثرات ضدالتهابی ارائه شد. این ترکیب زیست‌فعال در نانوحامل سرازوم سنتزی بارگذاری شده و پایداری آن بررسی شد. بخش لیپید سیلیس دار تشکیل‌دهنده سرازوم (CFL) از طریق یک واکنش شیمیایی دومرحله‌ای سنتز شده و سپس سرازوم‌ها به روش هیدراتاسیون لایه‌نازک با نسبت‌های مختلف DPPC:CFL تهیه شدند. خواص فیزیکوشیمیایی و مشخصه‌یابی نشان می‌دهد که سرازوم‌های حاوی گالیک‌اسید دارای قطر متوسط ۳۳۵ نانومتر و پتانسیل زتای ۲۳- میلی‌ولت به‌صورت تک‌لایه و یکنواخت هستند. سرازوم سنتز شده پایداری ساختاری بیشتری نسبت به لیپوزوم از خود نشان داده و زمان بیشتری در گردش خون می‌توانند حضور داشته باشند. فرمولاسیون بهینه سامانه سرازوم-گالیک‌اسید راندمان بارگذاری ۳٤ درصد و رهایش کنترل شده دارو را در محیط‌های مایع گوارشی از خود نشان می‌دهد. این نتایج نشان می‌دهد که سرازوم‌ها می‌توانند سامانه تحویل داروی بهتری برای ذخیره سازی طولانی مدت و رهایش قابل کنترل گالیک‌اسید باشند و کاربردهای قابل‌توجهی به‌عنوان حامل تحویل داروی التهاب روده داشته باشند.

کلید واژگان: سرازوم، گالیک‌اسید، آهسته رهش، التهاب روده، دارورسانی

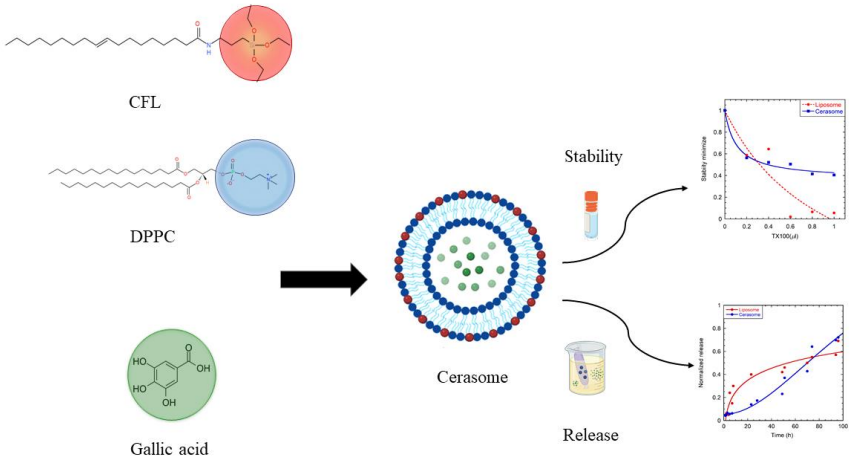
۱- مقدمه

بیماری التهاب روده[1] (IBD) یک التهاب مخاطی مزمن و اپیزودیک دستگاه گوارشی است که عمدتاً روده بزرگ و ایلئوم را تحت تأثیر قرار می‌دهد که به دو نوع کولیت اولسراتیو و کرون تقسیم می شود. تا به امروز هیچ درمان دائمی برای این بیماری وجود ندارد، اما راهکار های درمانی مختلف از جمله داروهای شیاف[2] و عمل جراحی جهت بهبود و کنترل این بیماری استفاده می شوند[۱]. اما دارو های شیاف، مانند مزالازین[3] برای بیماران خوشایند نیست و عوارضی همچون سوءهاضمه و خارج شدن زود هنگام از بدن بدون اثربخشی دارد. علاوه بر این، ترس و فرار از روش تهاجمی جراحی باعث شده است این روش درمانی توسط عده‌ای به تاخیر انداخته شود. بنابراین استفاده از دارو های خوراکی مختلف مانند ۵-آمینو سالیسیلیک اسید[4](5-ASA)، کورتیکواستروئیدها[5]، تیوپورین ها[6] می‌توانند بهترین انتخاب برای درمان التهاب روده باشند[۲]. اما مشکل این داروها عدم انتقال هدفمند آن‌ها به سلول‌های التهابی است. به‌طوری که درصد زیادی از این ترکیبات توسط سیستم ایمنی حذف می‌شوند یا توسط دیگر سلول‌های غیر هدف جذب شده و در قسمت بالایی روده آزاد می‌شوند. بنابراین، برای حل این مشکل استفاده از نانوحامل های پایدار و زیست سازگار همچون لیپوزوم پیشنهاد شده است. لیپوزوم‌ها به دلیل ویژگی‌های منحصر به فردی مانند، رهاسازی کنترل شده یا هدفمند دارو، توجه زیادی را به خود جلب کرده‌اند [۳]. با وجود تمام مطالعات انجام شده در این زمینه، لیپوزوم‌ها هنوز به دلیل ناپایداری مورفولوژیکی به پتانسیل کامل خود نرسیده و ماندگاری کمی دارند[٤]. ناپایداری لیپوزوم‌ها می‌تواند به پاکسازی سریع آن‌ها ازگردش خون پیش از رسیدن به هدف منجر شوند، به همین دلیل بسیاری از محققان تلاش زیادی برای بهبود پایداری لیپوزوم‌ها می‌کنند. یکی از این نوع تلاش‌ها افزودن پلی‌اتیلن گلیکول (PEG) است که می‌تواند به کاهش شدت سیستم فاگوسیت تک هسته‌ای (MPS) و گردش طولانی مدت نانوحامل کمک کند. اما متأسفانه به دلیل وجود پلی‌اتیلن گلیکول، اثرات سمی جدیدی ظاهر می‌شود و خود نانوحامل باعث بروز التهاب می‌شود[٥, ٦]. در سال ۱۹۹۹ برای اولین بار یک نوع نانوهیبرید لیپوزوم آلی- معدنی به نام سرازوم معرفی شد که از طریق ترکیبی از واکنشهای سل-ژل طراحی شده است. این مولکول در محیط‌های آبی با ساختار دو لایه لیپوزومی پوشیده شده و شبکه های غیرآلی پلی ارگانوسیلوکسان در سطح آن ایجاد می‌شود[۷]. سرازوم‌ها به‌عنوان یک سیستم جدید دارورسانی، مزایای زیادی دارند. سطح سیلوکسان سرازوم‌ها سبب افزایش قابل توجه پایداری و مقاومت آنها در برابر گرما نسبت به لیپوزوم‌ها شده است. سطح سیلوکسان می‌تواند به‌طورقابل توجهی منجر به بهبود ثبات سرازوم ها در محیط با pH اندکی قلیایی (خون) شود. وجود ساختار دولایه، استحکام و چگالی کلی سرازوم‌ها را در مقایسه با نانوذرات سیلیس بسیار کاهش می‌دهد که انتظار می‌رود پایداری چنین ذراتی در محلول های آبی افزایش یابد. سرازوم ها را می‌توان با دارو های آب‌دوست، آب‌گریز و همچنین آمفیفیلیک بارگذاری کرد. این خصوصیات ٤ مورد از مزایای سرازوم‌ها به‌عنوان سیستم جدید دارورسانی است.

از سوی دیگر، با وجود اثر درمانی داروهای شیمیایی بر سلول‌های التهابی، اثرات جانبی ناخواسته‌ای بر روی سلول‌های سالم هم وجود دارد که پس از مدتی بدن نسبت به دارو مقاوم می‌شود. ازاین‌رو ترکیبات زیست‌فعال طبیعی جدید با خاصیت ضدالتهابی می‌توانند جایگزین مناسبی برای داروهای شیمیایی باشند و یا با اثر هم‌افزایی که ایجاد

[1] Inflammatory bowel disease
[2] Suppository
[3] Mesalazine
[4] 5-Aminosalicylic acid
[5] Corticosteroids
[6] Thiopurines

می‌کنند میزان دوز مصـــرفی را کاهش دهند. از جمله ترکیبات زیســـت‌فعال، یک ترکیب پلی‌فنول به نام گالیک‌اســـید[1] (۳،٤،٥- تری هیدروکســـی بنزوئیک‌اســـید) است که در پسته، سماق، گندم، آناناس و سیب یافت می شـــود. این ترکیب زیســـت ســـازگاری بالایی دارد و برای سلول‌های سرطانی و التهابی، سمیت زیادی از خود نشان می‌دهد[۸]. ماده زیســـت‌فعال گالیک اســـید به‌دلیل خواص مطلوب خود در درمان بیماری‌های قلبی عروقی، ســـرطان، عضلانی، التهاب روده نقش دارند[۹]. گالیک اسید به‌عنوان آنتی‌اکســـیدان عمل می‌کنند و می‌تواند از اکســـیداســـیون لیپید ها، DNA، پروتئین ها و آنزیم های درگیر در ایجاد رادیکال آزاد جلوگیری کنند. همچنین، نقش پیشـگیری در برابر آســـیب اکســـیداتیو در بیماری التهاب روده را دارند[۱۰]. در این پژوهش گالیکا سید ا ستخراج شده به روش آبی از پوســـت پســـته در نانوحامل‌های ســـرازوم بارگذاری کرده و ســـپس پایداری نانوحامل و رهایش گالیک‌اسید کپسوله شده در محیط روده شبیه‌سازی شده، مطالعه شـد(شـکل۱ نمای شـماتیک سـرازوم سـنتزی و مطالعات انجام شده را نشان می‌دهد).



شکل ۱ شماتیک سنتز نانوحامل سرازوم، بررسی پایداری و رهایش گالیک‌اسید کپسوله شده

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱ مواد

اســـید اولئیک، ۳- آمینو پروپیل تری اتوکســـی ســـیلان(APTES)، دی پالمیتوئیل فســـفاتید یل کولین (DPPC)، دی ســـیکلو هگز یل کربودی ایمید (DCC)، هیـدروکســـی بنزوتریـازول(HOBt)، تریتون ایکس-۱۰۰(TX-100)، دی کلرومتان، اتانول، متانول، کلروفورم، هیدروکلریک اسـید، اورانیل اسـتات، پتاسـیم برومید، آب مقطر.

۲-۲ سنتز لیپید های تشکیل دهنده سرازوم (Cerasome -forming lipid(CFL))

برای ســـنتز لیپیدهای تشـکیل‌دهنده ســـرازوم (CFL) ابتدا ۳۰۰ ماکرولیتر اسـید اولئیک را به‌وسـیله ۱۰ میلی‌گرم دی ســـیکلو هگز یل کربودی ایمید (DCC) و ۷ میلی‌گرم هیـدروکســـی بنزوتریـازول(HOBt) در ۲ میلی‌لیتر دی

[1] Gallic acid

کلرومتان حل کرده و ۱۵ دقیقه در حالت هم زده قرار داده می‌شود تا ترکیب استر فعال شود. حال ۵۰۰ میکرولیتر ۳-آمینو پروپیل تری اتوکسی سیلان (APTES) را در ۳ میلی‌لیتر دی کلرومتان حل کرده و سپس به ترکیب استر فعال اضافه شده و پس از ۲۴ ساعت CFL تشکیل می‌شود (شکل۲) [۱۱, ۱۲].

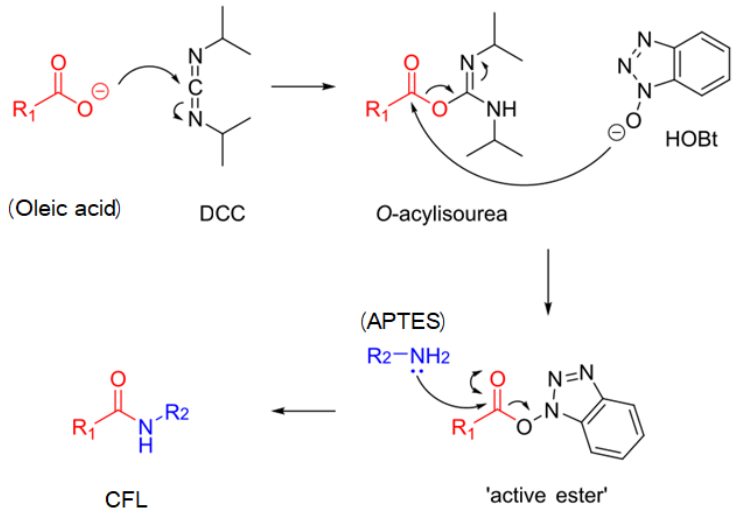
۲-۴ مشخصه‌یابی لیپیدهای سنتز شده سرازوم و نانوحامل سرازوم

توزیع اندازه و پتانسیل زتای نمونه‌های سنتز شده در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و زاویه پراکنش ۱۷۳ درجه جهت تعیین اندازه و بار سطحی و شاخص پراکندگی روش پراکندگی دینامیکی نور[1] (DLS) با دستگاه Nanozeta Sizerبررسی شدند.

آزمون طیف سنجی تبدیل فوریه مادون قرمز با استفاده از دستگاه مادون قرمز تبدیل فوریه[2] (FTIR) با دستگاه FT-JASCO–IR:6300 – Japan در محدوده cm^{-1} ۴۰۰ تا ۴۰۰۰ و با درجه وضوح cm^{-1} ۰/۵ انجام شد. مقدار ۱ میلی‌گرم از لیپید CFL و سرازوم لیوفیلیزه شده و به‌طور کامل خشک شده، با پتاسیم بروماید مخلوط و فشرده شده و قرصی با قطر ۱ سانتی‌متر و ضخامت ۱۰۰ میکرون تهیه شد. آزمون رزونانس مغناطیسی هسته پروتون[3] (HNMR) با دستگاه VARIAN - INOVA 500 MHz، برای مطالعه ترکیب لیپید CFL و اتصال پیوند آمیدی آن به‌کار گرفته شد. برای آماده‌سازی نمونه، ۱۰ میلی‌گرم CFL سنتز شده در حلال $CDCl_3$ حل شد و سپس طیف‌جذبی تهیه شد. مورفولوژی سرازوم‌ها با میکرو سکوپ الکترونی روبشی گسیل میدانی (FE-SEM) بررسی شد. محلول وزیکول روی لام قرار گرفت و سپس روی لام با تقریباً ۱۰ نانومتر طلا پوشانده شده و توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی گسیل میدانی (FE-SEM) (Hitachi S-4160) مشاهده شد.

۲-۵ بررسی پایداری سرازوم

پایداری ساختار غشای سرازومی در مقایسه با لیپوزوم در حضور سورفاکتانت غیر یونی تریتون ایکس-۱۰۰ (TX-100) بررسی می‌شود.



شکل۲ تصویر شماتیک سنتز لیپیدهای تشکیل‌دهنده سرازوم (CFL)

[1] Dynamic light scattering
[2] Fourier transform infrared spectroscopy
[3] Nuclear magnetic resonance spectroscopy

پس از تهیه سرازوم و لیپوزوم، غلظت‌های مختلف تریتون ایکس-۱۰۰ (۰/۲-۰ ۱ میکرومولار) را به حجم ۱ میلی‌لیتر نانوحامل اضافه کرده و سپس پراکنش ذرات سرازوم و لیپوزوم را در طول موج ٦۰۰ نانومتر به‌وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. همچنین، سنتیک رهایش ترکیب فلورسانسی کپسوله شده در هر دو نانوحامل ارزیابی و پایداری آنها مقایسه شد. ترکیب کورکومین خاصیت آب‌گریزی دارد و با بارگذاری آن در بخش آب‌گریز سرازوم و لیپوزوم، سنتیک رهایش در مدت‌زمان معین با بررسی افزایش شدت نشر فلورسانس در طول موج ۵۲۰ نانومتر توسط دستگاه پلیت ریدر ارزیابی شد. به‌طوری که با اضافه‌کردن تریتون ایکس-۱۰۰ به نقطه پایانی رهایش از نانوحامل‌ها منتهی شد[۱۲].

٦-۲ تعیین میزان بارگذاری و کارایی بارگذاری دارو در نانوحامل سرازوم

منحنی کالیبراسیون گالیک‌اسید با خوانش جذب در طول موج ۲۷۲ نانومتر در ۷ غلظت مختلف رسم شد. پس از سنتز سامانه به نسبت‌های مختلف دارو: لیپید (۱:۲۰،۱:۱۰،۱:۵)، داروی آزاد را از نانوحامل حاوی دارو به روش کیسه دیالیز ۱۲ کیلودالتونی به مدت ۱۲ ساعت و در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد بر روی همزن مغناطیسی با سرعت ۲۵۰ دور در دقیقه از کپسوله شده‌ها جدا سازی شد. سپس، ۱۰۰ ماکرولیتر از سامانه را در ۹۰۰ ماکرولیتر متانول لیز کرده و جذب گالیک‌اسید اندازه‌گیری شده و مقادیر داروی بارگذاری شده و بارگیری شده با استفاده از رابطه ۱ و ۲ محاسبه شد [۱۵]:

رابطه (۱)

$$\text{بازده بارگیری دارو (۱)} = \frac{\text{میزان داروی محبوس شده}}{\text{میزان نانوحامل آزاد}} \times ۱۰۰$$

رابطه (۲)

$$\text{بازده بارگذاری دارو (۲)} = \frac{\text{میزان داروی محبوس شده}}{\text{میزان داروی اولیه}} \times ۱۰۰$$

۷-۲ رهایش دارو

رهایش گالیک‌اسید با استفاده از روش دیالیز بررسی شد. در این سنجش ابتدا سرازوم‌ها با ۵ نسبت مختلف DPPC:CFL تهیه شدند (۰:۱۰،۳:۷،۷:۳،۱۰:۰) و در کیسه دیالیز حاوی بافر PBS (pH=7.4)، قرار داده شد. سپس، در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد تحت حرکت ملایم (۱۲۰ دور در دقیقه) انکوبه شدند و در فواصل زمانی انتخاب شده ۱ میلی‌لیتر محلول بافر برای بررسی شدت جذب گالیک‌اسید در ۲۷۲ نانومتر خارج شدند. این سنجش به مدت ۱٤۰ ساعت و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Uv-vis) مورد تجزیه‌وتحلیل قرار گرفت (هر آزمایش ۳ بار تکرار شد) [١٦].

۸-۲ تست سمیت سلولی

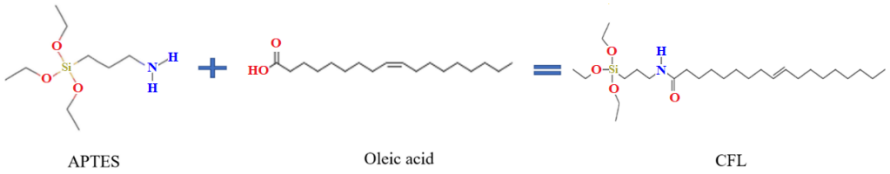
رده سلولی Caco-2 در محیطی متشکل از DMEM به همراه ۱۰ درصد سرم جنین گاو، ۱ درصد پن‌استرپ، در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد تحت ۵ درصد اتمسفر CO2 کشت داده شد که سلول ها به مدت ۲۱ روز رشد کردند. برای ارزیابی سمیت سلولی گالیک‌اسید کپسوله شده در سرازوم از روش MTT استفاده شد. سلول ها در پلیت ۹٦ خانه با تراکم ۵۰۰۰ سلول در هر چاهک کشت داده و به مدت ۲٤ ساعت انکوبه شده‌اند. سپس، در معرض غلظت های مختلف سرازوم، گالیک‌اسید و گالیک‌اسید کپسوله شده در سرازوم در زمان های مشخص (۲٤ و ۷۲ ساعت) قرار گرفتند. سپس، به مدت ٤ ساعت توسط ۲۰ ماکرولیتر محلول MTT با غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر انکوبه شده و در آخر محیط محلول MTT از نمونه خارج شده و ۱۵۰ میکرولیتر DMSO به هر نمونه اضافه شد. شدت جذب هر نمونه در طول موج ٤۹۰ نانومتر که متناسب با تعداد سلول‌های زنده است با استفاده از دستگاه میکروپلیت ریدر اندازه‌گیری شد. .در این روش تغییر رنگ زرد به بنفش اساس تمایز بین سلول‌های زنده و مرده می باشد و مقدار دانسیته نوری هر چاهک

مشخص کننده میزان این تبدیل رنگ ناشی از فعالیت دهیدروژناز میتوکندری سلول‌های زنده است.

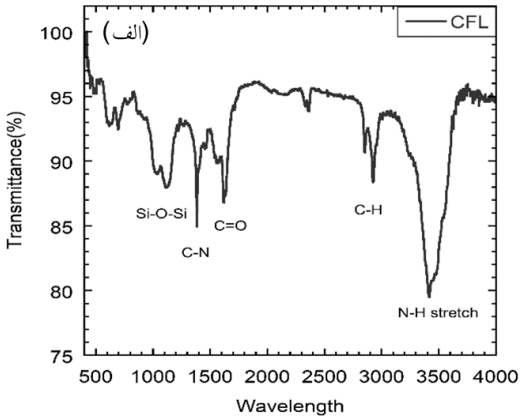
۳- نتایج و بحث

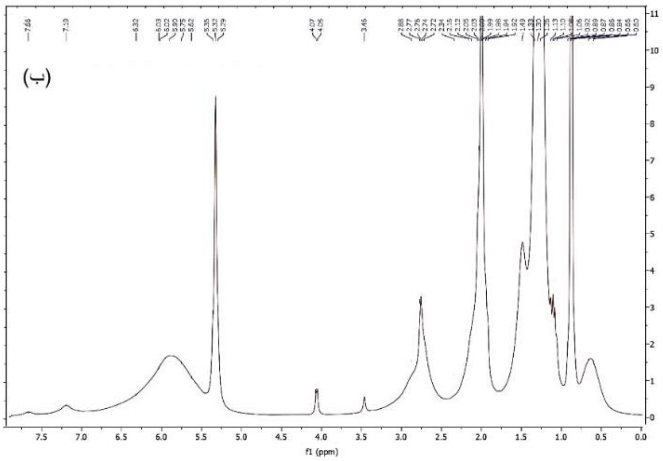
۳-۱ تشکیل سرازوم

دلیل اصلی تشکیل نانوحامل‌های سرازوم ایجاد استحکام مورفولوژی بین زنجیره الکیل آب‌گریز می‌باشد. سرازوم مورد استفاده در این مطالعه از ترکیب فسفولیپید DPPC و لیپید CFL تشکیل شده است (شکل ۳).



شکل ۳ تصویر شماتیک اجزای لیپیدهای تشکیل‌دهنده سرازوم (CFL)





شکل ٤ الف) آنالیز اسپکتروسکوپی FT-IR پیوند آمیدی و شبکه سیلوکسان لیپید CFL. ب) طیف‌بینی رزونانس مغناطیسی هسته (H NMR) لیپید CFL.

CFL از یک زنجیره آلکیل به نام اسید اولئیک و یک شبکه سیلوکسان در سر آب‌دوست خود به نام APTES تشکیل شـده اسـت، که وجود اسـید اولئیک در دم آب‌گریز لیپید باعث انعطاف‌پذیری نانوحامل می شود و APTES در سر آب‌دوست لیپید که گروه سیلانول آن به دلیل ناپایداری در هوا توسط گروه‌های اتوکسی پوشیده شده و وجود سیلیس در سطح آن، باعث افزایش پایداری نانوحامل و جلوگیری از تجزیه زودهنگام نانو حامل می‌شـود. این دو ترکیب به‌وسیله پیوند آمیدی به هم متصل می شوند که این اتصال آمیدی در دسـتگاه طیف‌سـنجی مادون‌قرمز تبدیل فوریه (FTIR) بررسی شد. (شکل ٤)

همانطور که در طیف مادون قرمز تبدیل فوریه (شـکل ٤ الف) مشاهده شد، باند کششی N-H, C-H , C=O , C-N به ترتیب در cm^{-1} ۱٤۰۰، cm^{-1} ۱٦۰۰، cm^{-1} ۲۹۰۰، cm^{-1} ۳٤۰۰ اتصال پیوند آمیدی اسید اولئیک و APTES و باند cm^{-1} ۱۱۰۰ اختصاص یافته به سر آب‌دوست لیپید را نشان داده اسـت که می‌تواند اتصـال اسـید اولئیک و APTES اثبات کند. همچنین، برای تایید این ادعا به بررسـی طیف HNMR پرداختیم. مطابق (شـکل ٤ ب) طیف HNMR اسید اولئیک که برخی سیگنال‌های مشخصه زنجیره‌های اشـباع شـده گروه متیلن CH_2 را نشـان می‌دهند در حدود ۱/۳ پی‌پی‌ام می‌باشـد. همچنین، اسـید اولئیک دارای یک پیوند دوگانه بین کربن‌های ۹ و ۱۰ اسـت که هر کدام به یک هیدروژن آلفینیک منفرد با سـیگنالی در حدود ۵/۳ پی‌پی‌ام به خوبی از بقیه سـیگنال‌ها جدا می‌شـوند. طیف APTES گروه متیلن اتوکسی در حدود ٤/۱ پی‌پی‌ام ظاهر می‌شـود، گروه متیلن از گروه ۳-آمینوپروپیل به ترتیب در ۳/٤ پی‌پی‌ام (CH_2 متصـل به N)، و ۰/٦ پی‌پی‌ام (CH_2 متصل به Si) نشان داده می شوند که در نتیجه اتصال بین این دو ترکیب با پیوند آمیدی (H, NHCO ، ٦ پی‌پی‌ام) نشان داده‌شد.

۳-۲ بررسی ویژگی‌های سرازوم

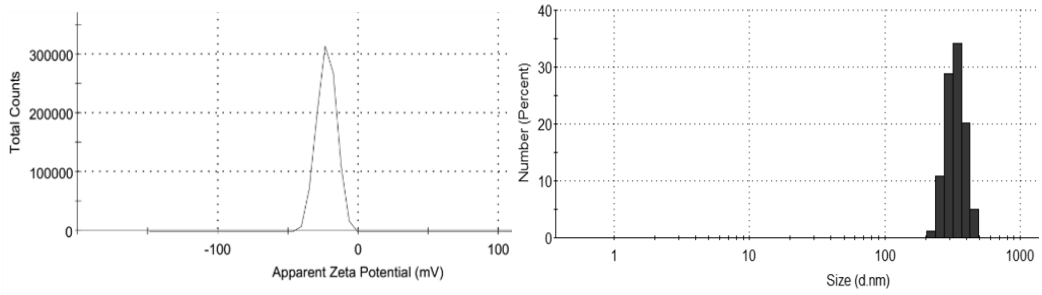
برای بررسی قطر هیدرودینامیکی سرازوم‌های سنتز شده و پتانسـیل زتای آن‌ها از روش پراکندگی دینامیکی نور (DLS) استفاده شد که جدول ۱ و شکل ۵، سایز و زتای سـرازوم‌ها را نشـان می‌دهد. قطر هیدرودینامیکی حدود ۱۵۰-۳۵۰ نانومتر و شاخص پراکندگی آن ۰/۲٦۳ به‌دست آمد.

همان‌طور که در جدول ۱ مشاهده می شود استفاده از لیپید CFL با تشکیل مایسل سرازوم ۱٤۵ نانومتر همراه است، همچنین سـنتز نانوحامل با اسـتفاده از فسـفولیپید DPPC سبب تشکیل لیپوزوم‌های با سایز ۲۵۰ نانومتر شده که با اضافه‌کردن درصدهای مختلف CFL، سرازوم‌هایی با سایز بزرگ‌تری مشاهده می‌شود. این نتایج حاکی از آن است که با افزایش درصد CFL سایز نانوحامل افزایش می‌یابد.

همچنین سرازوم پتانسیل زتای منفی‌تری نسبت به لیپوزوم دارد، زیرا در لیپوزوم بـار الکتریکی خنثی فسـفولیپیـد DPPC بار کمی روی سـطح ایجاد می‌کند. در مقابل سـرازوم‌ها دارای پتانسـیل زتا ۲۳/۱- میلی‌ولت بودند که نشـان می‌دهد قسـمت‌های تری‌اتوکسـی سـیلان CFL، هیدرولیز شده و دارای بار منفی‌تری هستند.

جدول ۱ بررسی پتانسیل زتا و سایز نانوحامل های لیپوزوم و سرازوم با نسبت های ۱۰:۰، ۷:۳، ۵:۵، ۳:۷.

DPPC:CFL	۱۰:۰	۷:۳	۵:۵	۳:۷	۰:۱۰
سایز(نانومتر)	۲۵۰/۲ ± ۱۹	۲٦٤/۱۱ ± ۸	۳۱۹/٤ ± ۱۵/۵	۳۳٤/۵ ± ۲۰/٦	۱٤۵/٤ ± ۱٦/۲
پتانسیل زتا(میلی‌ولت)	۳/۱۸- ± ۱/۳	۱۵/۵- ± ٤	۲۳/٤- ± ۱/۲	۲۳/۱- ± ۵/۲	۳۸/٤- ± ۳
شاخص پراکندگی	۰/۳۱۲ ± ۰/۰۲٤	۰/۳۳٤ ± ۰/۰۲	۰/۲٦۳ ± ۰/۰۱٦	۰/۲۱٦ ± ۰/۰۲۹	۰/۱٤۰ ± ۰/۰۱۲

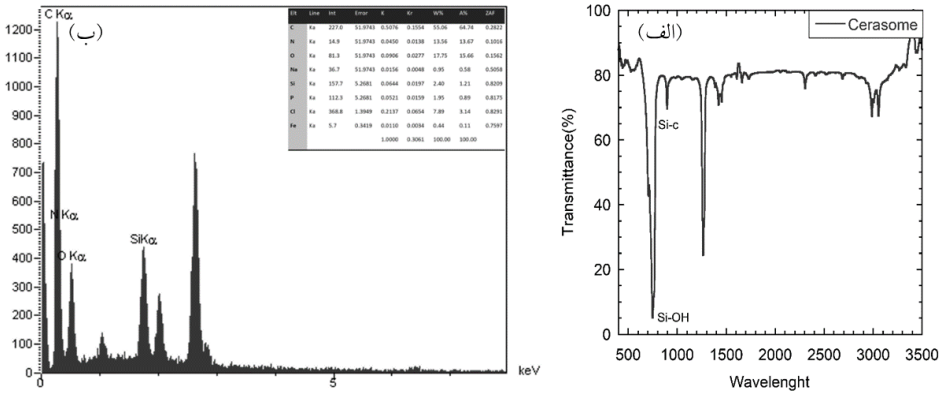


شکل ۵ نمودار سایز و پتانسیل زتا نانوحامل سرازوم نسبت ۵:۵

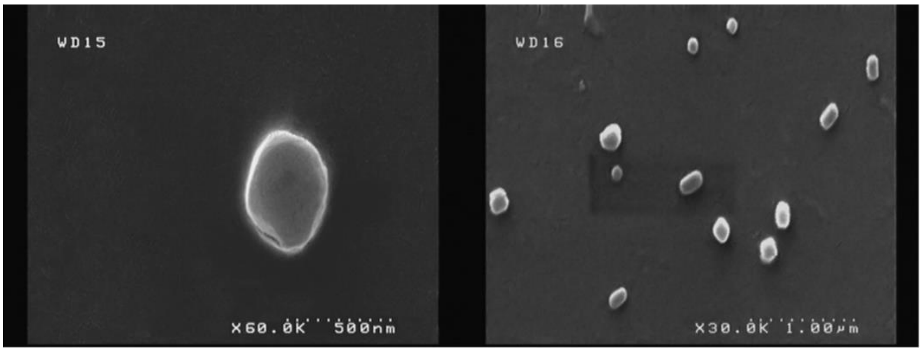
از سوی دیگر، ماهیت و دانسیته بار سطحی سرازوم‌ها به دلیل نیروهای دافعه بیشتر از تجمع وزیکول‌ها جلوگیری کرده و در نتیجه پایداری کلوئیدی بیشتر خواهد بود. همچنین، بار سطحی بالاتر از مهم‌ترین عوامل مؤثر بر مکانیسم و میزان برهم‌کنش‌های سلول با سرازوم است که باعث افزایش بر همکنش و تحویل بهتر ترکیب زیست‌فعال گالیک‌اسید به سلول می شود. شکل ۵ نمودار سایز و پتانسیل زتا نانوحامل سرازوم نسبت ۵:۵ را نشان می‌دهد.

حضور گروه سیلیس در ساختار سرازوم باعث افزایش سایز هیدرودینامیکی نسبت به لیپوزوم می‌شود اما برای بررسی دقیق‌تر تشکیل پیوندهای سیلوکسان در سرازوم از آزمون مادون قرمز تبدیل فوریه استفاده شد. مطابق شکل (٦ الف) باندهای کششی اختصاص داده‌شده به گروه‌های Si-C و Si-OH به ترتیب در $1265\ cm^{-1}$ و $896\ cm^{-1}$ مشاهده شد، که پیک Si-OH بسیار قوی‌تر از پیک Si-C می باشد. وجود این پیک ها می‌تواند دلیلی بر ایجاد پیوندهای سیلوکسان باشد و بیانگر تشکیل نانوحامل سرازوم است[١٤].

ترکیب عنصری نمونه با استفاده از طیف‌سنجی پرتو ایکس پراکنده انرژی (EDX) آنالیز شد. مقادیر انرژی پرتو ایکس به‌دست‌آمده شکل ۵ از نمودار EDX ، با مقادیر انرژی پرتو ایکس استاندارد هر عنصر مقایسه شد و حضور عنصر سیلیس با درصد وزنی ٢/٤ درصد گزارش شد که این گزارش تأییدیه مبنی بر تشکیل سرازوم می‌باشد (شکل ٦ ب).



شکل ٦ الف) آنالیز اسپکتروسکوپی FT-IR پیوند آمیدی و شبکه سیلوکسان سرازوم. ب) توزیع فراوانی اتم‌ها در سرازوم.



شکل۷ تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی گسیل میدان (FE-SEM) سرازوم با نسبت ۵:۵.

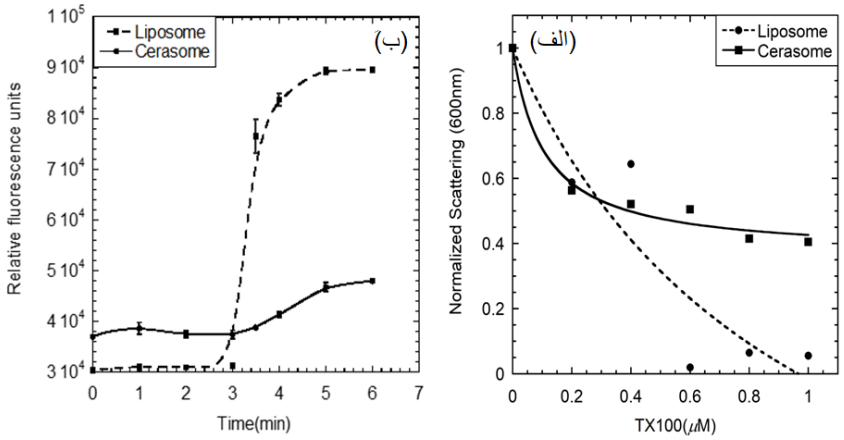
در بررسی میکرو سکوپ الکترونی روبشی گسیل میدان (FE-SEM) مشاهده شد که سرازوم نسبت ۵:۵ می‌تواند مورفولوژی اصلی خود را حتی در ولتاژ نسبتاً بالا حفظ کند. مورفولوژی سرازوم ها تقریباً کروی با سطح صاف بوده که دارای پراکندگی اندک، اندازه یکنواخت و قطر متوسط آن‌ها تقریباً ۳۳۰ نانومتر می‌باشد که مطابق با قطر هیدرودینامیک تعیین شده توسط روش پراکندگی دینامیکی نور (DLS) می باشد (شکل۷).

۳-۳ بررسی پایداری سرازوم

پایداری لیپوزوم‌ها به‌عنوان سیستم‌های انتقال دارو بسیار حائز اهمیت است. حامل‌های دارویی با پایداری بالا نه‌تنها از رهایش زودهنگام دارو جلوگیری می‌کنند، بلکه باعث افزایش اثر درمانی و کاهش عوارض جانبی می‌شوند. بااین‌حال، لیپوزوم‌های معمولی به دلیل سیالیت بالای غشای دولایه آنها، ثبات کلوئیدی ضعیفی در برابر ذخیره‌سازی و رهایش سریع داروهای محلول در آب نشان داده‌اند که این امر نیاز به تهیه نانوحامل های لیپوزومی جدید با افزایش پایداری برای رهایش دارو با کنترل بیشتر است. میزان پایداری سرازوم‌های سنتزی در مقایسه با لیپوزوم به کمک سورفکتانت تریتون ایکس-۱۰۰ که یک سورفکتانت غیر یونی به‌عنوان عامل حل‌کنندهٔ وزیکول‌های دولایه لیپیدی می‌باشد که اندازه‌گیری پراکنش نور آن با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (UV-Vis) بررسی شد. پخش نور توسط ذرات موجود در محیط سوسپانسیون باعث کدورت سیستم حاصل می شود که میزان آن به تعداد و اندازه ذرات کلوئیدی موجود در فاز مایع، تفاوت در ضریب انعکاس ذرات، محیط سوسپانسیون و توزیع اندازه ذرات بستگی دارد. کدورت محلول حاوی سرازوم یا لیپوزوم با افزایش غلظت سورفکتانت در طول موج ۶۰۰ نانومتر اندازه‌گیری و میزان پراکنده‌سازی نور در دو حالت مقایسه شد.

در شکل ۸ الف، حضور سرازوم یا لیپوزوم تنها باعث کدورت یا پراکندگی بالای نور تابیده شده می‌شود و با تیتر سورفکتانت به محلول‌ها میزان پایداری نانوحامل در برابر متلاشی شدن و ترکیدن کاهش می‌یابد. لیپوزوم در برابر افزایش غلظت سورفکتانت به سرعت از هم پا شیده شد و شدت پراکنش آن‌ها (جذب ظاهری) کاهش یافت، اما همین عمل در سرازوم با مقاومت بیشتری مشاهده شد. این آزمایش با بررسی سنتیک رهایش رنگ هیدروفوب فلورسانسی کورکومین بارگذاری شده در بخش آب‌گریز نانوحامل مجدداً انجام شد.

همان‌طور که در شکل (۸ ب) قابل‌مشاهده است، در دو دقیقه ابتدای آزمایش شدت فلورسانس رنگ از هر دو نانوحامل یکسان است.

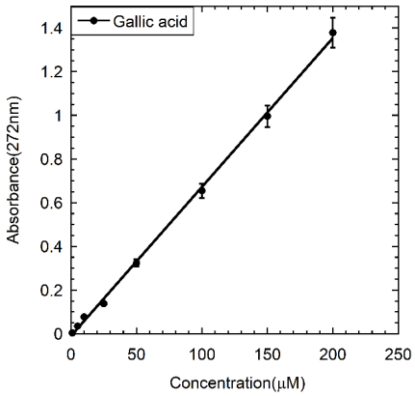


شکل۸ نمودار مقایسه پایداری سرازوم و لیپوزوم توسط الف) طیف پراکندگی نانوحامل‌ها (٦٠٠ نانومتر)؛ ب)نشر فلورسانس کورکومین کپسوله شده در نانوحامل‌ها (٥٢٠ نانومتر).

اما با اضافه‌کردن غلظت مشخصی از سورفکتانت در دقیقه سوم آزمایش، تفاوت فاحشی در شدت فلورسانس ایجاد می شود. نانوحامل سرازوم نشر کمتری نسبت به لیپوزوم از خود نشان داده است که ناشی از رهایش کمتر ترکیب فلورسانس بارگذاری شده می‌باشد و به همین جهت در مواجه با سورفکتانت پایداری بیشتری دارد. نتایج بیانگر این است که تشکیل شبکه سیلوکسان بر روی سطح سرازوم باعث القا یک بی‌نظمی در لیپیدهای غشاء سرازوم می شود، که این تغییر کاهش انتقال فاز لیپیدی را به همراه دارد. در حضور تریتون ایکس-۱۰۰ برای سرازوم، فاز پارامترهای انتقال در مقایسه با پارامترهای بدون تریتون ایکس-۱۰۰ تغییر چندانی نداشتند که نشان می‌دهد مولکول‌های تریتون به‌ندرت به سرازوم نفوذ می‌کنند تا وزیکول‌های حاوی زنجیره‌های آلکیل را مختل کنند، از این‌جهت می‌تواند یک نانوحامل مناسب جهت دارورسانی باشد.

٤-۳ محاسبه بارگذاری و کارایی بارگذاری گالیک‌اسید از نانو حامل

برای تعیین میزان بارگذاری و کارایی بارگذاری دارو در سرازوم، ابتدا نمودار استاندار گالیک‌اسید برای تعیین غلظت‌های مجهول آن تهیه و معادله خط رگرسیون y = 0.0068277X+0.010196 و ضریب تعیین (R^2=۰/۹۹۹۳٦) برای برازش خط عبوری تعیین شد (شکل ۹). سپس، سرازوم حاوی گالیک‌اسید در نسبت‌های مختلف دارو به سرازوم (۱:۲۰،۱:۱۰،۱:۵) سنتز کرده و گالیک‌اسید آزاد و کپسوله نشده به روش کیسه دیالیز (۱۲ کیلودالتونی) به مدت ۱۲ ساعت و در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد جداسازی شد.



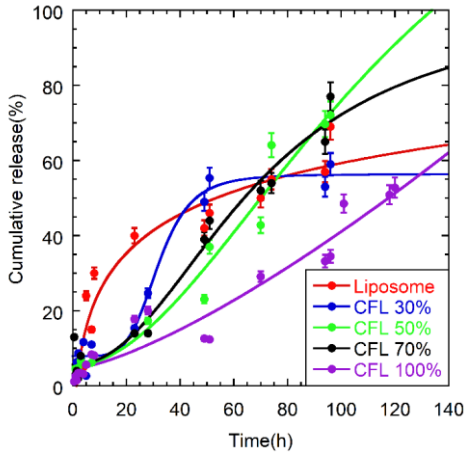
شکل۹ نمودار کالیبراسیون گالیک‌اسید

سپس، حجم مشخصی از سرازوم حاوی گالیک‌اسید با متانول به مدت ۵ دقیقه ورتکس شد. غلظت داروهای موجود با احتساب فاکتور رقت به‌کاررفته و با کمک

نمودار استاندارد تعیین شد. جدول ۲ نتایج حاصل از میزان بارگذاری و کارایی بارگذاری را با استفاده از رابطه ۱ و ۲ نشان می‌دهد که در نتیجه نسبت ۱:۱۰ بازده بالاتری از خود نمایش داده و برای انجام آزمایش های بعدی انتخاب شد.

۳-۵ سینتیک رها سازی گالیکا سید کپسوله شده در سرازوم

رها سازی گالیکا سید از نانوحامل تهیه شده در فواصل زمانی مشخص و در مدت‌زمان ۱٤۰ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد بررسی شد. درصد تجمعی گالیکا سید رها شده مطابق شکل ۱۰ تعیین شد. همان‌طور که مشاهده می‌شود در نانوحامل لیپوزوم در ساعات اولیه رهایش انفجاری را نشان داد و حدود ٤۰ درصد از گالیکاسید بارگذاری شده در ۲٤ ساعت اول رها می‌شود و نمودار آن به پلاتو می‌رسد که به دلیل ناپایداری و سیالیت بیشتر غشا نانوحامل لیپوزومی در مقایسه با نانوحامل سرازومی بسیار سریع‌تر انجام می‌شود. اما نانوحامل سرازوم با ۱۰۰ درصد CFL پس از ۲٤ ساعت حدود ۵ درصد داروی خود را رها کرده است و پس از گذشت ۱٤۰ ساعت به پلاتو نرسید. همچنین، سرازوم با ۳۰ درصد CFL ، رفتاری شبیه لیپوزوم از خود نشان داد و پس از ۲٤ ساعت حدود ۵۰ درصد گالیکاسید خود را آزادکرده و پس از ٤۸ ساعت به پلاتو رسید. در خصوص سرازوم ۵۰ درصد و ۷۰ درصد که رفتاری شبیه هم از خود نشان داده و حدود ۱۰ درصد دارو خود را در ۲٤ ساعت اول و ۵۰ درصد دارو بارگذاری خود را پس از ۷۲ ساعت آزاد می‌کند که کند بودن روند آزادسازی در این نانوحامل در مقایسه با لیپوزوم به‌دلیل حضور شبکه سیلوکسان در سطح و سیالیت کمتر غشا سرازوم می‌باشد. وجود چنین شبکه‌های پلی سیلوکسان هیدرولیزشده سرازوم می‌تواند نفوذپذیری غشا را کاهش دهد و کانال‌های انتشار دارو را مسدود کند و تا حدی مسئول آزادسازی پایدارتر گالیک‌اسید از سرازوم باشد.



شکل ۱۰ نمودار رهایش گالیک‌اسید در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و pH برابر با ۷/٤.

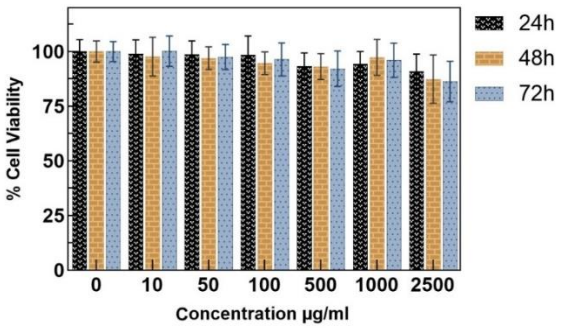
جدول ۲ درصد بازده بارگذاری و بارگیری سرازوم در نسبت‌های مختلف دارو: لیپید.

دارو: لیپید	۱:۵	۱:۱۰	۱:۲۰
بازده بارگذاری%	۳۱±۳/۵	۳٤±۵/۵	۳۹/۵±۳/۲
بازده بارگیری%	٦/۸۸±۰/۷	۳/۷۸±۰/٦	۲/۱۹±۰/۲

۳-٦ بررسی سمیت سلول‌ها در محیط برون تنی

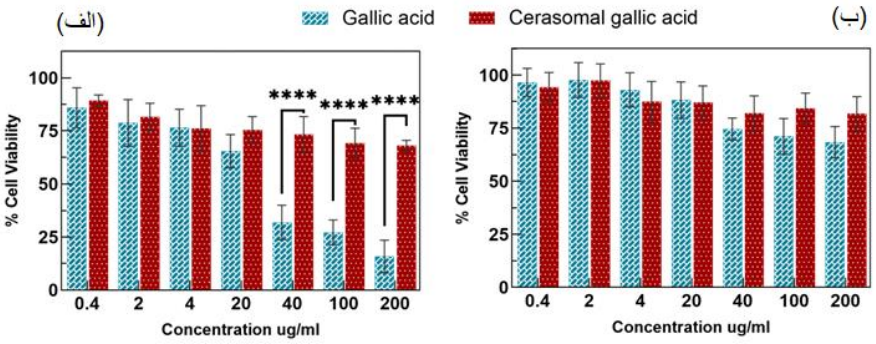
یکی از پارامترهای نشان دهنده سمیت سلولی، میزان فعالیت متابولیسمی ناشی از فعالیت میتوکندریایی، سیتوکرومی سلول‌های زنده یا آنزیم‌های سلولی می‌باشد. تغییر فعالیت میتوکندریایی با استفاده از مشتقات نمک تترازولیوم مشخص می‌شود. نانوحامل‌های سرازوم در هیچ یک از غلظت‌های مورد بررسی بر روی رده‌سلولی Caco-2 سمیت نشان نداده است. به عبارت دیگر، سرازوم‌ها بر

فعالیت متابولیسمی میتوکندری و متابولیسمی کلی سلول بی‌تأثیر می‌باشند (شکل ۱۱).



شکل ۱۱ بررسی سمیت نانوحامل سرازوم بر روی رده‌ی سلول Caco-2.

پس از اطمینان از عدم سمیت سرازوم فاقد دارو، سمیت گالیک‌اسید کپسوله شده در سرازوم و همچنین گالیک‌اسید آزاد در زمان‌های مشخص بررسی شد. نتایج حاکی از آن است که گالیک‌اسید آزاد پس از گذشت ۷۲ ساعت، غلظت مهاری (IC50) برابر ۳۵/۶۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر را نشان می‌دهد. بنابراین، گالیک‌اسید در زمان طولانی می‌تواند بر روی سلول‌های غیرالتهابی روده سمیت داشته باشد. اما سلول‌ها در همان غلظت از گالیک‌اسید کپسوله شده پس از ۷۲ ساعت، ۶۸ درصد زنده‌مانی داشتند که نشان می‌دهد گالیک‌اسید کپسوله شده می‌تواند عوارض جانبی روی سلول‌های غیرالتهابی روده را تا حد بسیارزیادی کاهش دهد. همچنین، اختلاف معنا داری میان زنده‌مانی سلولی در نمونه‌های گالیک‌اسید و گالیک‌اسید کپسوله شده با غلظت های ۴۰، ۱۰۰، ۲۰۰ در ۷۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر ساعت مشاهده شد(شکل ۱۲).



شکل ۱۲ مقایسه سمیت سلولی گالیک‌اسید آزاد و گالیک‌اسید کپسوله شده در سرازوم با استفاده از آزمون MTT برای رده سلولی Caco2 در (الف)۷۲، (ب) ۲۴ ساعت (غلظت گالیک‌اسید آزاد = غلظت گالیک‌اسید کپسوله شده).

لیپید سنتز شده سرازوم (CFL) مورد استفاده در پژوهش های سایر محققین بر پایه ترکیبات شیمیایی مانند دی هگزادسیل آمین، سوکسینات دی هیدرات، بروموهگزادکان، برمودودکان می‌باشد[۱۰, ۱۴, ۱۷]. اما در این پژوهش از ترکیب طبیعی اسید اولئیک استفاده شد که علاوه بر سنتز آسان‌تر نسبت به سایر روش‌ها، سبب بهبود زیست سازگاری و افزایش انعطاف پذیری حامل شده است. همچنین، در مطالعات گذشته از نانوذره سیلیکا برای انتقال داروهای کورتیکواستروئید مانند بودزونا ید[1] به سلول‌های التهابی روده استفاده شده است. اما سیلیس به دلیل چگالی و سمیت بالا می‌تواند برای مخاط روده اثرات جانبی داشته باشد. بنابراین، نانوحامل سرازوم سنتز شده در این مطالعه علاوه‌بر سازگاری بالا، چگالی پایین و رهایش آهسته دارو برای سلول‌های هدف التهابی روده،

[1] Budesonide

سمیتی بر روی سلول‌های مخاط روده نشان نداده و تا حد زیادی از عوارض جانبی گالیک‌اسید بر روی سلول‌های غیرالتهابی روده جلوگیری می‌کند. ترکیبات مغناطیسی، آمونیوم بی‌کربنات، داروهای سرطانی مانند دوکسوروبین، پاکلی تاکسل در نانوحامل سرازوم بارگذاری و برای اهداف مختلف استفاده شده است[۱۳, ۱۸،۱۹]. در پژوهش حاضر، ترکیب زیست‌فعال گالیک‌اسید برای اولین بار در نانوحامل سرازوم بارگذاری شده تا تاثیراتی مانند سازگاری بیشتر، کاهش عوارض جانبی و مقاومت دارویی در روده مشاهده شود. در مطالعه دیگری Karatas، از این ترکیب بر روی نانوحامل‌های مختلف مانند لیپوزوم برای بررسی کاهش التهاب استفاده کرد [۲۰]. در مطالعه دیگری که توسط کلپ و همکاران انجام گرفت، از گالیکا سید با حامل سدیم آلژینات برای درمان سرطان کلون استفاده شده است[۲۱]. همچنین، از نانوحامل‌های مختلفی از جمله، پلیمر، طلا، نقره، روی ومواردی دیگر برای انتقال گالیکاسید استفاده شده است. اما این حامل‌ها مشکلات متعددی از جمله بارگذاری کم، سمیت بالا،عدم زیست تخریب پذیری و عدم پایداری را از خود نشان دادند. در حالی‌که در پژوهش حاضر با استفاده از سرازوم، توانستیم به اهدافی چون بارگذاری مناسب گالیک‌اسید، رهایش آهسته و هدفمند و پایداری بالا به همراه سازگاری بالا دست یابیم.

٤- نتیجه‌گیری

نانوحامل هیبریدی آلی-معدنی به نام سرازوم از یک ساختار دولایه لیپوزومی و یک پوشش سیلیکات در سطح برخوردار است. این نانو حامل پایداری فیزیکی و شیمیایی بیشتری نسبت به لیپوزوم نشان می‌دهد که رهایش داروی آهسته‌تر و جلوگیری از تجزیه دارو را شامل می‌شود. همچنین، سرازوم می‌تواند مدت‌زمان بیشتری در گردش خون باقی بماند و دارو خود را به‌صورت پایدارتر و آهسته تر از لیپوزوم آزاد کند. در نتیجه سرازوم می‌تواند کاندید مناسبی جهت دارورسانی به سلول‌های التهابی روده باشد. با این‌حال، پیشنهاد می شود که مشاهده جذب سلولی در شرایط آزمایشگاهی و سنجش توزیع بافت در داخل بدن مورد بررسی قرار گیرد.

٥- منابع

[1] Z. Vaezi et al.2022."Hemoglobin bio-adhesive nanoparticles as a colon-specific delivery system for sustained release of 5-aminosalicylic acid in the effective treatment of inflammatory bowel disease," Int. J. Pharm., vol. 616, no. January, p. 121531.

[2] F. Magro, G. Cordeiro, A. M. Dias, and M. M. Estevinho. 2020."Inflammatory Bowel Disease – Non-biological treatment," Pharmacol. Res., vol. 160.

[3] S. Sadeghi Mohammadi, Z. Vaezi, B. Shojaedin-Givi, and H. Naderi-Manesh. 2019. "Chemiluminescent liposomes as a theranostic carrier for detection of tumor cells under oxidative stress," Anal. Chim. Acta, vol. 1059, pp. 113–123.

[4] X. Wang, F. Li, S. Liu, and M. T. Pope. 2005."New liposome-encapsulated-polyoxometalates: Synthesis and antitumoral activity," J. Inorg. Biochem., vol. 99, no. 2, pp. 452–457.

[5] C. Allen et al .2002."Controlling the physical behavior and biological performance of liposome formulations through use of surface grafted poly(ethylene glycol)," Biosci. Rep., vol. 22, no. 2, pp. 225–250.

[6] X. Yue and Z. Dai, 2014."Recent advances in liposomal nanohybrid cerasomes as promising drug nanocarriers," Adv. Colloid Interface Sci., vol. 207, no. 1, pp. 32–42.

[7] K. Katagiri, "1999_chemistry letters_1st.pdf," Chem. Lett.

[8] K. A. B. B. S. H. Lone, Shakeel-U-Rehman. 2016."Methyl Esters as Effective Antioxidants," Drug res, no. 2194–9379, pp. 4–10.

[9] N. Nayeem and A. SMB. 2016."Gallic Acid: A Promising Lead Molecule for Drug Development," J. Appl. Pharm., vol. 08, no. 02, pp. 8–11.

[10] J. S. Wright, E. R. Johnson, and G. A. DiLabio, 2001."Predicting the activity of phenolic antioxidants: Theoretical method, analysis of substituent effects, and application to major families of antioxidants," J. Am. Chem. Soc., vol. 123, no. 6, pp. 1173–1183.

[11] K. Katagiri, M. Hashizume, K. Ariga, T. Terashima, and J. I. Kikuchi. 2007."Preparation and characterization of a novel organic-inorganic nanohybrid 'cerasome' formed with a liposomal membrane and silicate surface," Chem. - A Eur. J., vol. 13, no. 18, pp. 5272–5281.

[12] M. Hashizume, S. I. Kawanami, S. Iwamoto, T. Isomoto, and J. I. Kikuchi. 2003."Stable vesicular nanoparticle 'Cerasome' as an organic-inorganic hybrid formed with organoalkoxysilane lipids having a hydrogen-bonding unit," Thin Solid Films, vol. 438–439, no. 03, pp. 20–26.
[13] Z. Cao, Y. Ma, X. Yue, S. Li, Z. Dai, and J. Kikuchi .2010."Stabilized liposomal nanohybrid cerasomes for drug delivery applications," Chem. Commun., vol. 46, no. 29, pp. 5265–5267.
[14] X. Liang et al. 2013."Design and synthesis of lipidic organoalkoxysilanes for the self-assembly of liposomal nanohybrid cerasomes with controlled drug release properties," Chem. - A Eur. J., vol. 19, no. 47, pp. 16113–16121.
[15] Y. Jin, X. Yue, Q. Zhang, X. Wu, Z. Cao, and Z. Dai. 2012."Cerasomal doxorubicin with long-term storage stability and controllable sustained release," Acta Biomater., vol. 8, no. 9, pp. 3372–3380.
[16] Z. Cao, X. Yue, Y. Jin, X. Wu, and Z. Dai. 2012"Modulation of release of paclitaxel from composite cerasomes," Colloids Surfaces B Biointerfaces, vol. 98, pp. 97–104.
[17] D. Zhang, H. R. Culver, and C. N. Bowman. 2019."Hybrid Cerasomes Composed of Phosphatidylcholines and Silica Networks for the Construction of Vesicular Materials with Functionalized Shells," ACS Appl. Nano Mater., vol. 2, no. 12, pp. 7549–7558.
[18] S. Sun et al. 2019."Bubble-manipulated local drug release from a smart thermosensitive cerasome for dual-mode imaging guided tumor chemo-photothermal therapy," Theranostics, vol. 9, no. 26, pp. 8138–8154.
[19] D. V. Pryazhnikov, O. O. Efanova, and I. V. Kubrakova. 2019."Cerasomes containing magnetic nanoparticles: synthesis and gel-filtration chromatographic characterization," Mendeleev Commun., vol. 29, no. 2, pp. 226–228.
[20] O. Karatas and F. Gevrek. 2019"Gallic acid liposome and powder gels improved wound healing in wistar rats," Ann. Med. Res., vol. 26, no. 12, p. 2720.
[21] A. G. Sagdicoglu Celep, A. Demirkaya, and E. K. Solak. 2020."Antioxidant and anticancer activities of gallic acid loaded sodium alginate microspheres on colon cancer," Curr. Appl. Phys.

Synthesis of Cerosome nanoparticles and investigation of the stability and the release of loaded-Gallic acid as bioactive compound

Seyed Mohammad Reza Mortazavi[1], Zahra Vaezi[2*], Hossein Naderi-Manesh[1*]

1. Department of Nanobiotechnology, Faculty of Biological Science, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
2. Department of Bioactive compounds, Faculty of Interdisciplinary Science and Technologies, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

naderman@modares.ac.ir, Zahra.vaezi@modares.ac.ir

Receipt: 2022/04/18 Accepted: 2022/06/27

Abstract

Inflammatory bowel disease is a chronic inflammatory disease of the gastrointestinal tract. Despite numerous endeavors over the past few years, as well as an increase within the number of patients with the disease, there are currently limited medications available to manage intestinal inflammation. Designing a new biological treatment using natural bioactive medications with fewer side effects and more secure transmission than chemical compounds could be advantageous. In this study, a new strategy for the controlled release of Gallic acid as a bioactive polyphenol with anti-inflammatory impacts was proposed. This bioactive compound was loaded on a Cerosome nanocarrier and its stability was investigated. Cerosome-forming lipid (CFL) was synthesized through a two-step chemical reaction and then the Cerosomes were prepared by thin layer hydration by distinctive proportions of DPPC: CFL mole ratio. Cerosome with a mean diameter of 335 nm and zeta potential of -23 mV were homogeneous. The optimal formulation of the Cerosomal gallic acid system shows 34% loading and controlled release of the medication in gastrointestinal fluid environments. Structural stability was systematically evaluated by physicochemical characterization methods, and Cerasomes showed greater stability than liposomes and could be present longer in the bloodstream. These results indicate that Cerasomes can be a better medication delivery system for long-term storage and controllable release of gallic acid and have remarkable applications as carriers of intestinal inflammation drug delivery.

Key words: Cerasome, Gallic acid, Sustained release, Inflammatory Bowel Disease, Drug delivery