



ساخت و مشخصه‌یابی فیزیکوشیمیایی سامانه لیپوزومی حاوی عصاره هیدروالکلی شیرین بیان و بررسی سمیت عصاره آزاد و لیپوزومه بر رده سلولی سالم فیبروبلاست انسانی پوست (HFF) و رده سلولی سرطانی MCF-7 سرطان پستان

لیدا افتخاری‌وش^{۱*}، محمد مجدی‌زاده^۲

۱- استادیار میکروبیولوژی، گروه میکرو بیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مراغه، مراغه، ایران.

۲- کارشناسی ارشد زیست‌شناسی سلولی و مولکولی، گروه زیست فناوری، شرکت ریز زیست فناوران فردانگر، پارک علم و فناوری یزد، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۹/۲۶، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۰/۱۱

چکیده

مقدمه: استفاده از گیاهان به منظور درمان بیماری‌ها، قدمتی طولانی دارد. امروزه نیز با توجه به عوارض جانبی داروهای رایج، روی آوردن به این منابع طبیعی بیش از پیش الزام‌آور است. هدف از پژوهش حاضر ساخت و مشخصه‌یابی نانولیپوزوم‌های حاوی عصاره شیرین بیان و بررسی سمیت آن بر رده سلولی HFF سالم پوست و MCF-7 سرطان پستان است.

مواد و روش‌ها: ابتدا عصاره شیرین بیان بروش سوکسوله استخراج گردید. با استفاده از روش فیلم نازک، سامانه لیپوزومی از SPC و کلسترول تهیه شد و عصاره شیرین بیان درون لیپوزوم‌ها بارگذاری شد. بررسی شاخص‌های فیزیکوشیمیایی آن‌ها با استفاده از دستگاه‌های زتا سایزر و SEM انجام و الگوی رهائش عصاره در دمای ۳۷°C و ۴°C محاسبه گردید. در پایان میزان سمیت این نانو سامانه حاوی عصاره بر رده سلولی MCF-7 سرطان پستان و HFF پوست با روش MTT مورد بررسی قرار گرفته است.

نتایج: میزان بارگذاری عصاره، اندازه ذرات، شاخص پراکندگی و پتانسیل زتا، به ترتیب $64/16 \pm 3/45\%$ ، 131nm ، $131/0$ و $1/19\text{mV}$ می‌باشد. رهائش عصاره در شرایط دمایی مشابه سلول سالم و سرطانی آهسته بود. همچنین عصاره لیپوزومه نسبت به عصاره آزاد سمیت بیشتری بر رده‌ی سلولی MCF-7 داشته و هر دو از سمیت کمی بر رده‌ی سلولی HFF برخوردارند.

نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج، سامانه‌ی لیپوزومی حاوی عصاره با برخورداری از ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و سمیت بالا بر رده‌ی سلولی MCF-7 و سمیت کم بر رده سلولی HFF می‌تواند حامل مناسب برای رسانش ترکیبات گیاهی به سلول‌های هدف باشد.

واژه‌های کلیدی: لیپوزوم، شیرین بیان، سرطان پستان، فیبروبلاست، نانوذرات.

*توبسنده مسئول: کد پستی: ۵۵۱۴۷۴۸۴۳۶، تلفن: ۰۹۱۲۰۵۹۳۷۲۷، شماره: ۰۴۱۳۷۴۵۴۵۰، Email: lidaftekhariwash@yahoo.com

ارجاع: افتخاری‌وش لیدا، مجدی‌زاده محمد. ساخت و مشخصه‌یابی فیزیکوشیمیایی سامانه لیپوزومی حاوی عصاره هیدروالکلی شیرین بیان و بررسی سمیت عصاره آزاد و لیپوزومه بر رده سلولی سالم فیبروبلاست انسانی پوست (HFF) و رده سلولی سرطانی MCF-7 سرطان پستان. مجله دانش و تندرستی در علوم پایه پزشکی ۱۴۰۲؛ ۱۸(۴): ۵۹-۶۹.

مقدمه

سرطان یکی از شایع‌ترین و شدیدترین بیماری‌هایی است که در پزشکی بالینی دیده می‌شود. آمار نشان می‌دهد که بیش از یک سوم جمعیت به یکی از اشکال سرطان مبتلا می‌شود. اکثریت سرطان‌ها در انسان از قرار گرفتن وی در معرض عوامل سرطان‌فیزیکی و شیمیایی ناشی می‌شوند، همچنین در ایجاد سرطان‌ها می‌توان به عوامل ویروسی نیز اشاره کرد (۱). علیرغم سال‌ها تحقیقات بالینی، آمار نشان داد که تعداد موارد تشخیص داده شده همچنان در حال افزایش است و سرطان پستان شایع‌ترین بدخیمی در بین خانم‌ها در سراسر جهان است (۲) به طوری که بیش از ۲۵۰۰۰۰ مورد جدید سرطان سینه در سال ۲۰۱۷ در ایالات متحده تشخیص داده شد (۳). از طرفی به دلیل آن‌که سینه‌ها اهمیت هیجانی و زیبایی بالایی برای خانم‌ها دارد و چون در روند درمان بیماری ممکن است منجر به برداشتن پستان گردد ترس و وحشت زیادی را برای بانوان به همراه دارد (۴). با توجه به مطالعات حاضر، میزان بروز سرطان سینه در ایران ۱۰۰ نمونه در هر ۱۰۰۰۰۰ نفر برآورد شده است. لذا بر اساس جمعیت کشور سرطان سینه در کشور رتبه اول بیماری‌های بدخیم را به خود اختصاص می‌دهد و از طرفی پراکندگی استانی یکسانی داشته و در همه استان‌ها به جز در اردبیل (پس از معده و مری و پوست) در صدر قرار می‌گیرد (۵).

سه زیرگروه اصلی سرطان پستان شامل: گیرنده هورمونی مثبت، ERBB2 منفی و ERBB2 مثبت و سه گانه منفی می‌باشد که مورد سه گانه منفی از روند تشخیص و درمان سخت‌تری برخوردار است (۶). سرطان سینه تمایل به هدف قرار دادن استخوان، مغز، کبد و ریه دارد (۷). بیماران مبتلا به سرطان سینه با متاستاز؛ ۳۰-۶۰٪ ضایعات در استخوان، ۴-۱۰٪ در مغز، ۱۵-۳۲٪ در کبد و ۲۱-۳۲٪ در ریه دارند (۸). متاستازهای ریه به‌ویژه در طی ۵ سال از تشخیص اولیه سرطان پستان رخ می‌دهد و تأثیر قابل توجهی بر عوارض و مرگ و میر بیماران دارد. از نظر فیزیولوژیکی، این متاستازها عملکرد طبیعی ریه را مختل کرده و منجر به سرفه، تنفس سخت، هموپتیژی و در نهایت مرگ می‌شود. درمان متاستاز ریه همچنان دشوار است، به طوری که تخمین زده می‌شود ۶۰ تا ۷۰ درصد از بیماران که به دلیل سرطان سینه می‌میرند، متاستاز ریه دارند (۹). برای بیماران مبتلا به متاستاز محدود به ریه، پیش‌آگهی بسیار ضعیف با میانگین بقای تنها ۲۵ ماه است (۱۰). این نتیجه ضعیف به تعداد محدود گزینه‌های درمانی مرتبط با ضایعات غیرقابل جراحی نسبت داده می‌شود (۱۱).

عصاره‌های گیاهی و اجزای فعال آنها کاندیدای امیدوارکننده‌ای برای استراتژی‌های درمانی جدید در برابر انواع بیماری‌ها از جمله بدخیمی‌ها هستند. علاقه به مواد گیاهی شیمیایی (Phytochemical) که قابلیت کاهش میزان بروز تعدادی از تومورها را دارا می‌باشند به‌صورت روز افزون رو به افزایش است، اما شواهد علمی محدودی که در رابطه با مکانیسم عمل این

گیاهان وجود دارد از ورود آنها به مسیر اصلی مراقبت‌ها و درمان‌های پزشکی جلوگیری می‌کند (۴). سازمان بهداشت جهانی به‌عنوان مرکز سیاست‌گذاری و نظارت جهانی در زمینه بهداشت، برای نخستین بار در سال ۱۹۷۸ با صدور اعلامیه آلماتا خاطر نشان نمود که هنوز بخش عمده‌ای از جامعه بشری به داروهای گیاهی اعتقاد دارند و جهت تأمین سلامت عمومی خود از آنها استفاده می‌کنند (۱۲). ارزیابی عصاره‌های خام گیاهی به روش‌های برون‌تنی نتیجه خوبی دربردارند. از جمله اینکه شامل هزینه‌های کمتری می‌شود و حساسیت بیشتری را دارد، آزمایش در زمان کوتاه قابل انجام است و مقدار نمونه موردنیاز برای آزمایش کمتر است. البته ترکیبات آنتی‌تومور زیادی نیز وجود دارند که با آزمون‌های فوق‌شناسایی نمی‌شوند چرا که در رقت‌های بالا به حد کافی قدرت نشان دادن اثراتشان را ندارند (۱۳).

گیاه سرخارگل که به آن اکیناسه نیز می‌گویند، گیاهی چندساله از خانواده Asteraceae است (۱۴). نه گونه از این جنس شناخته شده است و سه گونه *E. angustifolia*، *E. purpurea* و *E. pallida* در حال حاضر خواص دارویی دارند. چندین کلاس از ترکیبات فعال اکیناسه شناسایی شده است، از جمله مشتقات کافئیک اسید، آلکیل آمیدها، پلی‌ساکاریدها و اسید سیکوریک که مسئول فعالیت‌های ضدسرطانی، ضدالتهابی، سیستم‌ایمنی و آنتی‌اکسیدانی این گیاه هستند (۱۵). در برخی مطالعات گزارش شده است که اسید سیکوریک جدا شده از *E. purpurea* دارای خواص دارویی قوی مانند ضدسرطان و فعالیت‌های ضدباکتریایی است (۱۶ و ۱۷). سیکوریک اسید یک فینیل پروپانوید است که در انواع گونه‌های گیاهی وجود دارد و به‌عنوان نشانگر برای تمایز گونه‌های اکیناسه استفاده می‌شود. *E. purpurea* دارای مقادیر قابل توجهی اسید سیکوریک است (۱۸ و ۱۹). برخی از مطالعات نشان داده‌اند که *E. purpurea* دارای اثر ضدسرطانی قوی بر روی رده‌های سلولی سرطانی و سلول‌های کشنده طبیعی MCF-7 و BT-549 است (۲۰-۲۲). قسمت‌های هوایی *E. purpurea* نیز دارای چندین ترکیب فلاونوئیدی مانند نیکوتی فلورین (کمپفرول ۳-O-روتینوزید) و روتین (کوئرستین ۳-O-روتینوزید) با فعالیت ضدسرطانی قوی توصیف شده است (۲۳).

مطالعات متعددی بر روی فعالیت‌های ضدسرطانی گیاه سرخارگل متمرکز شده‌اند، اما اطلاعات کافی در مورد اثرات عصاره این گیاه بر سلول‌های متاستاتیک سرطانی وجود ندارد. در مطالعه حاضر، هدف ما تشریح خواص ضدسرطانی از جمله سمیت سلولی بر روی سلول‌های متاستاتیک ربوی سرطان پستان است.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر نوعی مطالعه آزمایشگاهی بوده که طی ۶ ماه در دانشگاه آزاد واحد مراغه و با همکاری دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد با کد اخلاق IR.SSU.RSI.REC.1398.038 به انجام رسیده است.

مقدار PBS جایگزین کرده و جذب نمونه‌های برداشت شده در فواصل زمانی مشخص با اسپکتروفتومتر بررسی و میزان رهایش عصاره را با استاندارد به داده‌های اسپکتروفتومتر و با استفاده از نمودار استاندارد عصاره در PBS محاسبه و نمودار آن طی ۷۲ ساعت رسم گردید (۲۲ و ۲۳).

ابتدا سامانه لیپوزومی حاوی عصاره را درون کیسه دیالیز و به مدت یک ساعت درون بشری محتوی بافر فسفات سالین (PBS) و در دمای ۴°C قرار داده شد تا عصاره بارگذاری نشده حذف گردد. سپس لیپوزوم‌های حاوی عصاره با نسبت‌های حجمی ۱:۹ با ایزوپروپیل مخلوط کرده تا دیواره لیپیدی اطراف عصاره شکسته شود و عصاره آزاد گردد. در ادامه میزان جذب عصاره بارگذاری شده با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری در طول موج ماکزیمم عصاره (۲۵۱nm) گرفته شد. با توجه به میزان جذب به دست آمده و تطبیق آن با نمودار استاندارد عصاره در ایزوپروپیل میزان غلظت عصاره درون لیپوزوم محاسبه و با استفاده از رابطه (۱)، درصد بارگذاری عصاره شیرین بیان در سامانه محاسبه گردید (۲۴ و ۲۵).

رابطه (۱)

$$\text{Entrapment Efficiency (\%EE)} = \frac{\text{Encapsulated Drug Concentration}}{\text{Primary used Drug Concentration}} \times 100$$

شاخص پراکنندگی، اندازه و پتانسیل زتای نانو ذرات لیپوزومی حاوی عصاره شیرین بیان با استفاده از دستگاه زتا سایزر مدل HORIBA در شرایط دمای ۲۵°C و زاویه ۹۰ درجه و در طول موج ۶۵۷ نانومتر اندازه‌گیری شد. برای بررسی ویژگی‌های ظاهری لیپوزوم‌های حاوی عصاره شیرین بیان از تصویربرداری به وسیله میکروسکوپ الکترونی روبشی (Scanning Electron Microscope) استفاده شد. برای این منظور از نمونه با غلظت ۱/۰ ml/mg یک قطره روی لام ریخته و می‌گذاریم خشک شود سپس روی نمونه، اپراتور، پوشش طلا داده و تصویر تهیه می‌گردد و سپس تصویر آن به وسیله میکروسکوپ روبشی تهیه می‌شود (۱۶).

رده سلولی MCF-7 سرطان پستان و رده سلولی فیبروبلاست HFF سالم پوست از انستیتو پاستور ایران تهیه و پس از کشت و تکثیر در فلاسک‌های استریل با محیط DMEM، حاوی ۱۰٪ FBS و L-گلوتامین به همراه آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین-استرپتومایسین در انکوباتور ۳۷°C و ۵٪ کربن دی‌اکسید، کشت و تکثیر داده شد (۲۲).

در پژوهش حاضر به منظور اندازه‌گیری سمیت سلولی از تست MTT استفاده شده است. ابتدا رده سلولی MCF-7 و HFF به صورت جداگانه با غلظت ۱۰۴ عدد در میکرولیتر، در هرچاهک در پلیت ۹۶ تایی به مدت ۴۸ ساعت کشت داده شدند. سلول‌های MCF-7 به ترتیب با ۱۵/۶، ۳۱/۲۵، ۶۲/۵، ۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، از لیپوزوم بدون عصاره و سلول‌های HFF، به ترتیب با غلظت اولیه (مثلاً X) از لیپوزوم بدون عصاره، ۲/۱، ۴/۱، ۸/۱ و ۱۶/۱ غلظت اولیه، به مدت ۲۴ ساعت تیمار گردیدند تا میزان سمیت لیپوزوم فاقد عصاره بررسی گردد. همچنین رده‌های سلولی یاد شده، به ترتیب با غلظت‌های ۱۵/۶، ۳۱/۲۵، ۶۲/۵، ۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰

فسفاتیدیل کولین سویا متعلق به شرکت lipid-Gmbh آلمان، کلسترول متعلق به شرکت sigma-Aldrich آمریکا، ایزوپروپیل و قرص PBS متعلق به شرکت Mreck آلمان خریداری شد. گیاه شیرین بیان نیز از کوه‌های شهرستان خواف (شهر سده) واقع در خراسان رضوی توسط محققان جمع‌آوری گردید.

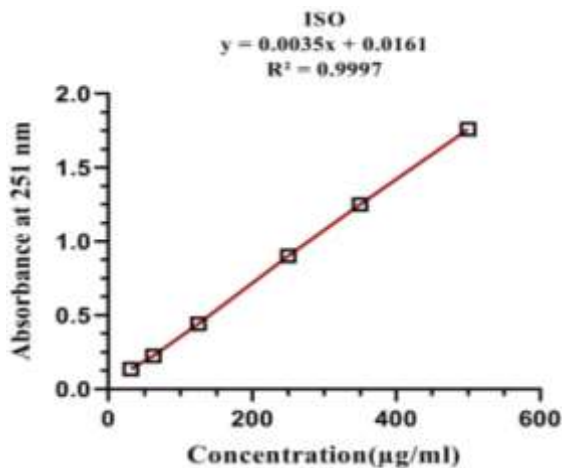
گیاه شیرین بیان پس از جمع‌آوری در اختیار متخصصان گیاه‌شناسی استان آذربایجان شرقی قرار گرفته و صحت گونه آن بررسی و تأیید گردید. برای به دست آوردن عصاره‌ی ریشه شیرین بیان به روش سوکسوله ابتدا ریشه گیاه شیرین بیان را در سایه خشک کرده و بعد از توزین، ۵۰ گرم را وزن و به نسبت ده برابر آن اتانول ۷۰ درصد و به دستگاه سوکسوله منتقل می‌کنیم. پس از طی دو الی سه ساعت از عصاره‌گیری محلول حاصله را از صافی عبور داده و در محیطی بدون نور خورشید، خشک کرده و برای مصارف بعدی آزمایش جمع‌آوری نمودیم (۲۲).

به منظور بررسی میزان بارگذاری و رهایش عصاره، نمودار استاندارد عصاره در ایزوپروپیل و PBS (Phosphate Buffered Saline) رسم گردید. برای رسم نمودار مذکور ابتدا مقدار مشخصی از عصاره را درون حلال موردنظر حل کرده و در غلظت‌های مختلف میزان جذب آن را با استفاده از اسپکتروفتومتری (Carry 100 Bio Co. Varian, Victoria, Australia) با سه بار تکرار بررسی و نمودار استاندارد عصاره را در حلال‌های موردنظر رسم نمودیم (۱۶ و ۲۲).

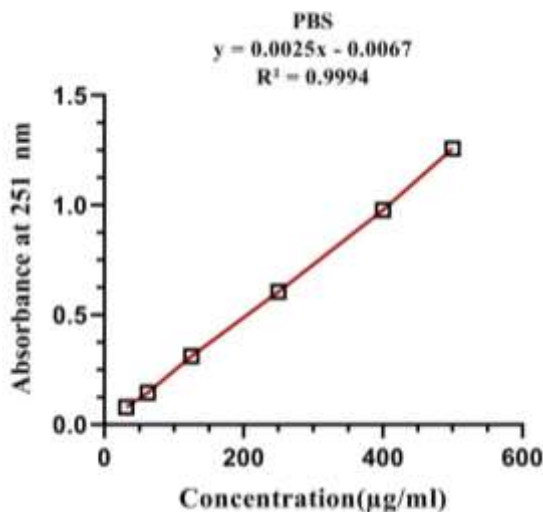
به منظور ساخت سامانه لیپوزومی حاوی عصاره شیرین بیان از روش هیدراتاسیون فیلم نازک استفاده شده است که خلاصه آن به شرح زیر است: ابتدا کلسترول و نوع مشخصی از فسفاتیدیل کولین سویا (۸۰٪ SPC) به ترتیب با درصد مولی ۲۰ و ۸۰ درصد در حلال کلروفرم و در دمای ۴۰°C بر روی روتاری (هایدولف، آلمان) حل شده و تحت شرایط خلأ، فیلم نازک خشک تهیه گردید. سپس با افزودن مقدار مشخصی از حلال PBS به همراه عصاره، عمل هیدراتاسیون در دمای ۴۵°C به مدت ۶۰ دقیقه انجام پذیرفت. در ادامه محلول شیری رنگ سامانه‌ی لیپوزومی حاوی عصاره با فیلترهای ۰/۴ و ۰/۲ نانومتر، فیلتر گردید. در پایان سامانه لیپوزومی حاوی عصاره، به منظور کاهش سایز با استفاده از سونیکیت حمامی (PARSONIC2600s)، بدون دما، طی مدت ۴۰ دقیقه کاهش سایز داده شد (۱۶ و ۲۳).

برای ارزیابی میزان رهایش عصاره بارگذاری شده در سامانه لیپوزومی، شرایط دمایی مشابه با سلول سالم (دمای ۳۷°C و pH= ۷/۴) و سرطانی (دمای ۴۲°C و pH= ۵/۴) فراهم گردید. ۵/۰MI از سامانه‌ی لیپوزومی حاوی عصاره را درون کیسه دیالیز قرار داده و آن را به درون فالكون استریل حاوی PBS با شرایط دمایی و اسیدیته سلول سالم و شرایط دمایی و اسیدیته سلول سرطانی قرار داده و استیرر گردید. سپس در فاصله‌های زمانی مشخصی از محلول PBS درون فالكون ml1 نمونه برداشته و به همان

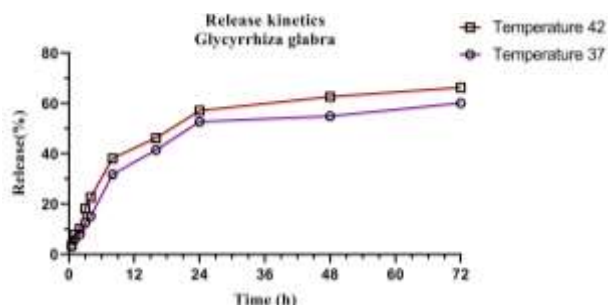
برای سلول‌های سالم رده‌ی HFF پوست ایجاد می‌کند. از سوی دیگر سامانه لیپوزومی حاوی عصاره هیدروالکلی شیرین بیان در تمامی غلظت‌ها و به صورت وابسته به غلظت سمیت قابل توجهی بر رده‌ی سلولی MCF-7 سرطان پستان دارد و درصد زنده‌مانی سلول‌های سرطانی پستان را کاهش داده است (نمودار ۴ و ۵ و ۶).



نمودار ۱- نمودار استاندارد عصاره هیدروالکلی شیرین بیان در حلال ایزوپروپیل



نمودار ۲- نمودار استاندارد عصاره هیدروالکلی شیرین بیان در حلال PBS



نمودار ۳- نمودار ره‌ایش عصاره هیدروالکلی شیرین بیان از سامانه لیپوزومی در شرایط مشابه سلول‌های سالم و سرطانی

میکروگرم بر میلی‌لیتر از عصاره آزاد و و لیپوزوم حاوی عصاره، در پلیت ۹۶ خانه برای ۲۴ ساعت تیمار گردیدند. پس از گذشت زمان تیمارهای موردنظر، ۲۰ میکرولیتر محلول MTT با غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به هر چاهک اضافه شد و به مدت ۴ ساعت انکوبه شدند. بعد از آن مایع‌رویی خارج شد و به منظور حل شدن کریستال‌های فورمازون، ۱۵۰ میکرولیتر DMSO اضافه گردید. جذب در طول موج ۵۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه الیزاریدر ثبت و در نهایت با توجه به رابطه‌ی ۲ درصد زنده‌مانی سلول‌ها محاسبه گردید.

رابطه (۲):

۱۰۰×(آزمون گروه در نوری جذب میانگین-کشت محیط در نوری جذب میانگین)/(کنترل گروه در نوری جذب میانگین-کشت محیط در نوری جذب میانگین)

در پژوهش حاضر به منظور تفسیر داده‌های عددی حاصل از آزمون‌ها، انحراف معیار و انحراف از میانگین داده‌های هریک از آزمون‌ها در محیط نرم افزار Excel محاسبه و نمودارهای مرتبط با ره‌ایش عصاره و استاندارد در محیط Graph Pad رسم گردید. همچنین معناداری داده‌ها با استفاده آنوا دوطرفه محاسبه شد.

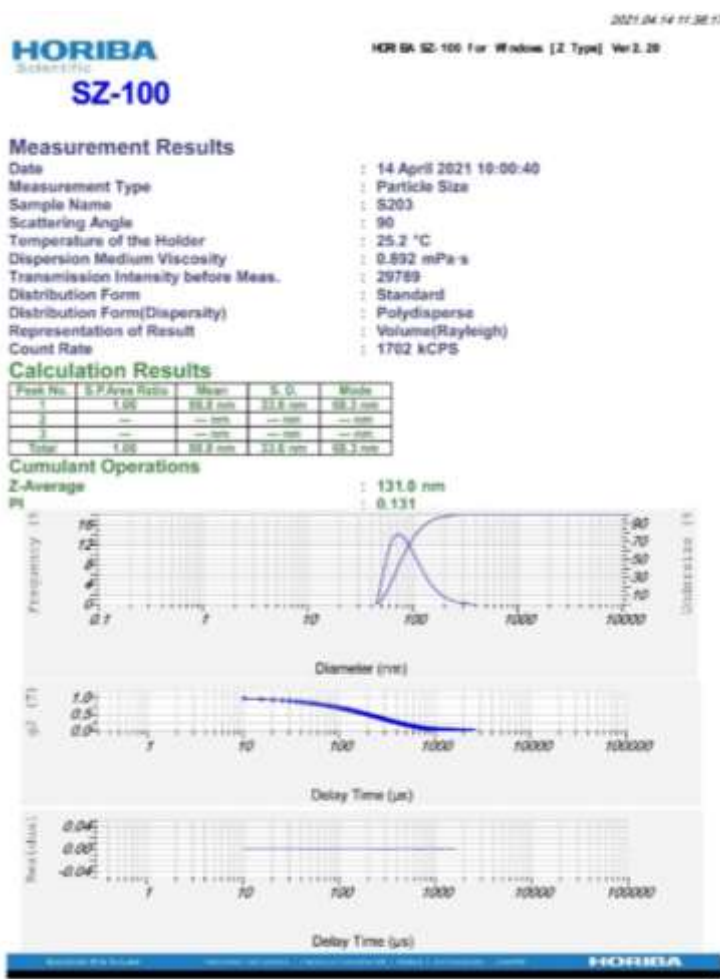
نتایج

نمودار استاندارد عصاره هیدروالکلی شیرین بیان در حلال ایزوپروپیل مطابق نمودار ۱ رسم و معادله خط راست آن تعیین گردید. براساس این نمودار و با استفاده از رابطه ۱، میزان بارگذاری عصاره شیرین بیان در سامانه لیپوزومی $64/16 \pm 3/45$ درصد محاسبه شد.

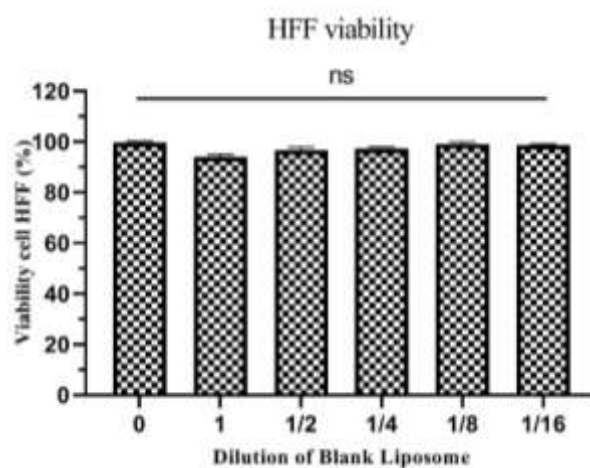
نمودار استاندارد عصاره هیدروالکلی شیرین بیان در حلال PBS رسم گردید (نمودار ۲). با استناد به این نمودار و با توجه به رابطه ۲، میزان ره‌ایش عصاره در هریک از زمان‌های تعیین شده مشخص و بر اساس آن، نمودار ره‌ایش عصاره از سامانه لیپوزومی، در شرایط مشابه سلول سالم و سرطانی طی ۷۲ ساعت رسم گردید. نتایج نشان می‌دهد که سامانه لیپوزومی حاوی عصاره طی ۷۲ ساعت، در شرایط سلول سالم و سرطانی به ترتیب حداکثر $57/5 \pm 2/6$ و $61/33 \pm 2/5$ درصد ره‌ایش داشته است (نمودار ۳).

نتایج حاصل از دستگاه زتاسایزر نشان می‌دهد که ذرات سامانه لیپوزومی حاوی عصاره دارای اندازه ذرات 131 nm ، شاخص پراکندگی $0/131$ و بار سطحی $-19/1 \text{ mV}$ می‌باشد (شکل ۱ و ۲). همچنین تصویر SEM از سامانه لیپوزومی حاوی عصاره نشان می‌دهد که ذرات سازنده سامانه کروی و از سطح صافی برخوردار هستند و تجمعی بهم چسبیدگی قابل مشاهده‌ای دیده نمی‌شود (شکل ۳).

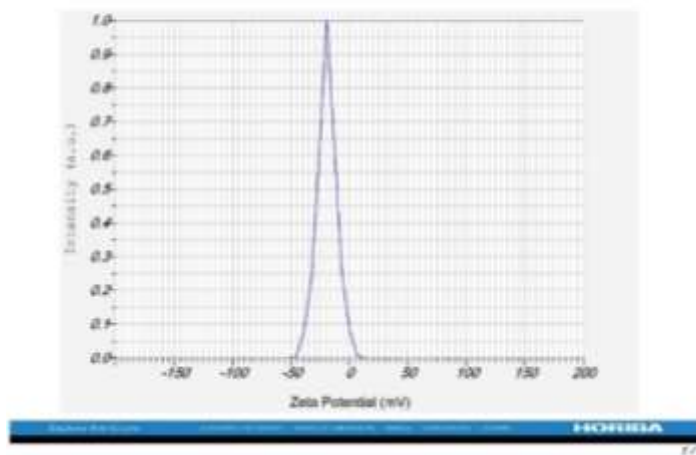
نتایج MTT بر رده‌های سلولی HFF و MCF-7 نشان می‌دهد که، سامانه بدون عصاره از سمیت بسیار کمی در غلظت‌های مختلف طی ۲۴ ساعت بر رده‌های سلولی HFF و MCF-7 برخوردار است. سامانه لیپوزومی حاوی عصاره هیدروالکلی شیرین بیان در غلظت‌های مختلف سمیت ناچیزی



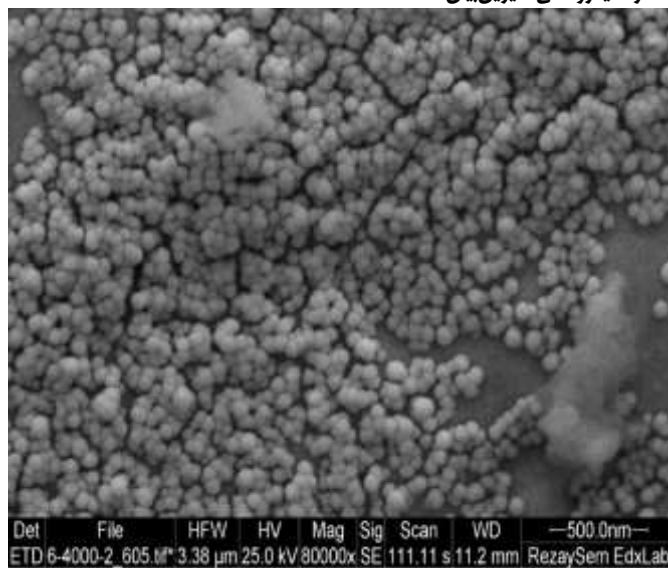
شکل ۱- اندازه و شاخص پراکندگی نانو لیپوزوم‌های حاوی عصاره هیدروالکلی شیرین بیان



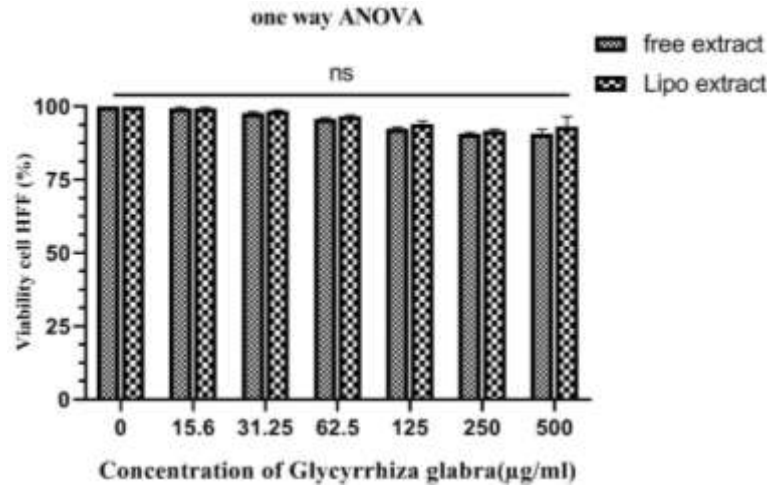
نمودار ۴- سمیت سامانه خالی لیپوزوم بر رده سلولی HFF



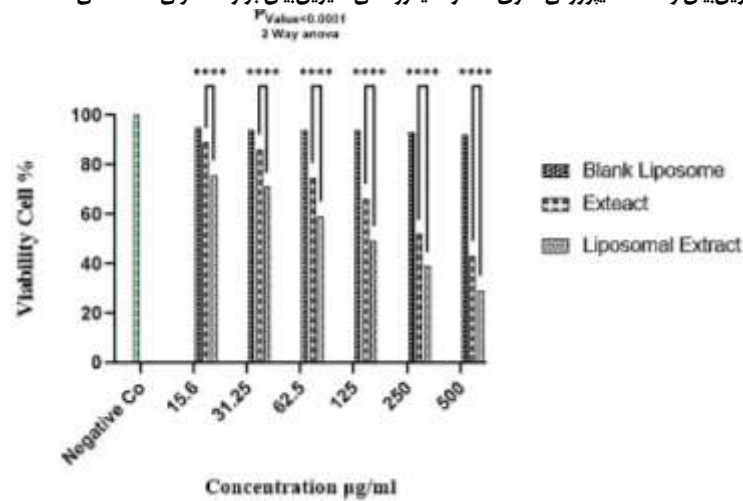
شکل ۲- پتانسیل زتا نانو لیپوزوم‌های حاوی عصاره هیدروالکلی شیرین بیان



شکل ۳- شکل ظاهری نانو لیپوزوم‌های حاوی عصاره هیدروالکلی شیرین بیان زیر میکروسکوپ روبشی



نمودار ۵- سمیت عصاره هیدروالکلی شیرین بیان و سامانه لیپوزومی حاوی عصاره هیدروالکلی شیرین بیان بر رده سلولی HFF طی ۲۴ ساعت، $P < 0.0001$



نمودار ۶- سمیت سامانه خالی لیپوزوم، سامانه حاوی عصاره شیرین بیان و عصاره غیر لیپوزوم شیرین بیان بر رده سلولی MCF-7 طی ۲۴ ساعت، $P < 0.0001$

بحث

از دیگر مشخصه‌های مورد بررسی سامانه لیپوزومی حاضر، میزان بارگذاری عصاره شیرین بیان در سامانه بوده است. این شاخص مهم در رسانش دارو، به عوامل مختلفی نظیر نوع لیپیدهای به کار رفته و درصد مولی هر یک، نوع و ماهیت ماده بارگذاری شده، روش ساخت و غیره بستگی دارد (۲۹). در پژوهش حاضر، میزان بارگذاری عصاره شیرین بیان در سامانه لیپوزومی 64 ± 0.45 درصد گزارش شده است که با نتایج مجدی زاده در با موضوع بارگذاری اسانس نعناع فلفلی در سامانه لیپوزومی و نتایج برکت با موضوع بارگذاری عصاره‌ی پونه سای ایرانی در سامانه لیپوزومی، همخوانی نزدیکی دارد (۲۲ و ۳۰). همچنین ره‌ایش عصاره از سامانه لیپوزومی در پژوهش حاضر، آهسته و پیوسته در شرایط مشابه سلول‌های سرطانی وسالم گزارش گردیده است. هرچند این مشخصه مهم، می‌تواند تحت تأثیر عواملی نظیر دمای ره‌ایش، اسیدیته محیط ره‌ایش، ماهیت ماده بارگذاری شده و نوع مواد به کار رفته در ساختمان سامانه‌ی لیپوزومی تغییر نماید، اما پژوهش‌های دیگر نظیر پژوهش مجدی زاده و همکاران، میرزایی و همکاران،

براساس پژوهش حاضر، سامانه‌ی لیپوزومی عصاره شیرین بیان، ضمن بر خورداری از مشخصه‌های نانویی مناسب نظیر اندازه 131 nm ، شاخص پراکندگی 0.131 ، موفولوژی کروی و پتانسیل زتای منفی، سمیت ناچیزی برای سلول‌های سالم رده HFF پوست داشته در حالی که این سامانه لیپیدی حاوی عصاره شیرین بیان، خواص بالایی در جهت کنترل رشد سلول‌های سرطانی MCF-7 پستان از خود نشان داده است. بار سطحی سامانه لیپیدی از ویژگی‌های مهم این سامانه در رسانش دارو محسوب می‌شود، چرا که این شاخصه در میزان پایداری سامانه طی گذر زمان نقش فراوانی دارد. بالا بودن بار سطحی سامانه لیپوزومی، با ایجاد نیروی دافعه کلونی میان ذرات، از تجمع و رسوب نانو سامانه لیپیدی جلوگیری کرده و در نهایت پایداری سامانه را افزایش می‌دهد. در پژوهش حاضر نیز، سامانه‌ی لیپوزومی حاوی عصاره شیرین بیان با داشتن بار منفی نسبتاً زیاد در سطح خود، به نظر می‌رسد که از پایداری نسبتاً قابل قبولی برخوردار است (۲۸-۲۶).

آزمایشگاهی نشان داد که سامانه دارای عصاره شیرین بیان علی‌رغم سمیت پایین آن برای سلول‌های سالم HFF، از سمیت بالای وابسته به دوز برای رده سرطانی MCF-7 پستان نسبت به عصاره لیپوزوم نشده، برخوردار است. خاصیت ضدتوموری عصاره شیرین بیان و سامانه لیپوزومی حاوی آن، به ترکیبات ضدسرطان عصاره آن بر می‌گردد. مطالعات درون تنی و برون تنی مختلف، نشان می‌دهد که این عصاره گیاهی دارای خواص ضدتوموری علیه سرطان‌هایی نظیر پروستات، روده، پستان، تخمدان و معده است که مسئول اصلی این ویژگی در بسیاری از موارد، اسیدهای گلیسیریزیک و ۱۸-بتا گلیسیرتینیک می‌باشد. این ترکیبات با افزایش نفوذپذیری میتوکندری در سلول‌ها، موجب بروز آپوپتوز می‌شود. تحقیقات نشان می‌دهد که اسید گلیسیریزیک با القای سیگنال‌های AKT/mTOR در سرطان پستان مانع گسترش آن و گلیسیرتینیک با اختلال در مسیرهای سلولی باعث مهار متاستاز و مختل کردن اسکلت اکتینی سلول سرطانی می‌شود. همچنین ترکیبات عصاره شیرین بیان با توقف چرخه سلولی G2/M مانع تکثیر و تقسیم سلول‌های سرطانی می‌شود (۱۱، ۱۲ و ۱۵).

تاکنون پژوهش‌های متعددی بر روی نانو حامل‌های لیپیدی حاوی ترکیبات گیاهی انجام گرفته است که به بخشی از آنها در جدول ۱ اشاره می‌شود:

پرنیان و همکاران و طائب‌پور و همکاران طی سال‌های ۲۰۱۸ تا ۲۰۲۱ که در مورد سامانه‌های لیپیدی حاوی اسانس یا عصاره گیاهی پژوهش نموده‌اند، برای سامانه‌های خود همانند پژوهش حاضر رهایش آهسته و پیوسته گزارش نموده‌اند و از آن به شاخصه‌ای مناسب و تأثیرگذار در رسانش دارو به سلول‌های هدف، یاد نموده‌اند (۱۶، ۲۲، ۲۵ و ۳۱)

ذرات سامانه‌ی حاوی عصاره شیرین بیان با توجه به تصویر میکروسکوپ الکترونی، کروی با سطح صاف به نظر می‌رسد که نشانی از تجمع ذرات در کنار هم دیده نمی‌شود، این ویژگی‌های با استناد به پژوهش‌های پیشین که همانند پژوهش حاضر به بررسی شکل ذرات سامانه‌ی لیپیدی پرداخته‌اند، مناسب می‌باشد (۳۲).

از دیگر شاخصه‌های مورد بررسی در پژوهش حاضر، بررسی سمیت سامانه لیپوزومی بدون عصاره و دارای عصاره، بر رده‌ی سلولی سالم HFF پوست و بررسی سمیت سامانه لیپوزومی بدون عصاره و دارای عصاره شیرین بیان بر رده‌ی سلولی MCF-7 سرطان پستان بروش MTT می‌باشد. نتایج این تست آزمایشگاهی نشان داد که سامانه بدون عصاره بر رده‌های سلولی HFF و MCF-7 سمیت چندانی ندارد. این نتیجه می‌تواند ناشی از نوع مواد به کار رفته در ساخت سامانه لیپوزومی باشد، زیرا اجزای به کار رفته در این سامانه به فراوانی در غشای سلول‌های بدن قابل مشاهده است، بنابراین سامانه لیپوزومی بدون عصاره برای سلول‌های مورد آزمایش سمیت ناچیزی را ایجاد نموده است که قابل چشم‌پوشی است. همچنین این تست

جدول ۱- بخشی از پژوهش‌های انجام شده با موضوع بارگذاری اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی در سامانه‌های لیپیدی

منبع	نتایج	موضوع پژوهش	سال	پژوهشگر
۳۳	خواص ضد سرطانی ترنج در حالت لیپوزوم نسبت به اسانس آزاد، بهبود پیدا نمود. پتانسیل زتا -6 میلی‌ولت و اندازه ذرات 186nm گزارش نموده است.	ساخت سامانه لیپوزومی حاوی اسانس ترنج	۲۰۱۳	سلیا و همکاران
۳۴	حناکتر میزان درون‌پوشانی اسانس $68/83\%$ محدوده اندازه ذرات بین 81 تا 94 نانومتر و شاخص پراکندگی ذرات $0/3$ گزارش شده است.	ساخت سامانه لیپوزومی حاوی اسانس گزنه	۲۰۱۵	حقجو و همکاران
۳۵	میزان آنکسولاسیون اسانس $2/5/6$ و اندازه نانوذرات حاوی اسانس $186/1\text{nm}$ بوده است. همچنین پتانسیل زتای نانو ذرات در این پژوهش بین -1 تا $-6/7$ میلی‌ولت گزارش شده است	ساخت سامانه لیپوزومی حاوی اسانس زنیان	۲۰۱۶	حقیرالسادات و همکاران
۳۶	اندازه ذرات و شاخص پراکندگی ذرات به ترتیب در محدوده $82-88$ نانومتر و $0/39 - 0/42$ و میزان درون‌پوشانی اسانس در تمامی فرمول‌ها بالای 70 درصد گزارش شده است.	ساخت سامانه لیپوزومی حاوی اسانس زنیان	۲۰۱۷	قره نقده و همکاران
۱۶	اندازه $112/39 \pm 24/7$ نانومتر، $61/28 \pm 2/7$ درصد میزان درصد بارگذاری، پتانسیل زتا $34/54 \pm 0/74$ میلی‌ولت و شاخص پراکندگی $0/32 \pm 0/1$ گزارش شده است.	ساخت سامانه لیپوزومی حاوی اسانس نعنای فلفلی	۲۰۱۸	مجدی زاده و همکاران
۳۰	و درصد بارگذاری عصاره $67/11$ و اندازه ذرات $116/9\text{nm}$ و پتانسیل زتای $13/24$ میلی‌ولت، همچنین عصاره لیپوزوم شده نسبت به عصاره آزاد دارای سمیت بالاتری بر سلول‌های سرطانی پستان می‌باشد.	ساخت سامانه لیپوزومی حاوی اسانس پونه سای ایرانی	۲۰۱۹	برکت و همکاران
۳۱	درصد بارگذاری عصاره، اندازه و پتانسیل زتا برای فرمولاسیون منتخب به ترتیب $95/43 \pm 2/43$ درصد، $132/5\text{nm}$ و $41/47 \pm 2/69\text{mV}$ می‌باشد. شکل ظاهری نانو ذرات صاف و کروی بوده و عصاره نیوزوم در مقایسه با عصاره آزاد سمیت بیشتری بر روی رده سلولی HT29 سرطان کولون داشته است.	ساخت سامانه نیوزومی حاوی عصاره عشقه	۲۰۱۹	پرنیان و همکاران
۳۷	اندازه، پتانسیل زتا، درصد بارگذاری و الگوی رهایش دارو را در شرایط سلول سالم به ترتیب 170nm ، $1/6$ میلی‌ولت، $64/49\%$ و آهسته گزارش نموده‌اند.	ساخت سامانه نیوزومی حاوی کوئرستین	۲۰۲۰	طالعی اردکانی و همکاران
۲۵	وزیکول‌های لیپوزومی حاوی اسانس زنیان با اندازه $110/8\text{nm}$ ، $40/12 \pm 2/71$ درصد میزان بارگذاری اسانس، پتانسیل زتا -9 میلی‌ولت می‌باشد. سامانه لیپوزومی دارای رهایش کنترل شده بوده و طی 24 ساعت همه اسانس را آزاد نموده است. میکروسکوپ نیروی اتمی نیز تشکیل لیپوزوم و مورفولوژی مناسب ذرات را تأیید نموده است.	ساخت سامانه لیپوزومی حاوی اسانس زنیان	۲۰۲۱	میرزایی و همکاران
۳۸	میزان بارگذاری عصاره در فرمولاسیون منتخب، اندازه ذرات، شاخص پراکندگی و پتانسیل زتا برای فرمولاسیون منتخب، به ترتیب $115/0 \pm 16/16$ ، 98nm ، $17/2\text{mV}$ و $0/286$ می‌باشد. عصاره لیپوزوم نسبت به عصاره آزاد سمیت بیشتری بر رده‌ی سلولی SAOS-2 داشته و لیپوزوم فاقد عصاره و عصاره آزاد سمیت کمی بر رده‌ی سلولی HFF داشته‌اند.	ساخت سامانه لیپوزومی حاوی عصاره <i>Silybum marianum</i>	۲۰۲۱	طائب‌پور و همکاران

میزان بارگذاری عصاره، اندازه ذرات، شاخص پراکندگی، و پتانسیل زتا برای فرمولاسیون منتخب، به ترتیب ۲۲	ساخت سامانه لیپوزومی حاوی عصاره Artemisia Absinthium	۲۰۲۱	طاب‌پور و همکاران
بر رده‌ی سلولی MCF-7 داشت. و لیپوزوم‌های فاقد عصاره از سمیت ناچیزی بر رده‌ی سلولی MCF-7 برخوردار است. ۳۹	ساخت سامانه نیوزومی حاوی عصاره شیرین بیان	۲۰۲۱	اخلاقی و همکاران

کد اخلاق

IR.SSU.RSI.REC.1398.038

References

- Hasan MK, Ara I, Mondal MS, Kabir Y. Phytochemistry, pharmacological activity, and potential health benefits of *Glycyrrhiza glabra*. *Heliyon* 2021;7:1-10. doi: 10.1016/j.heliyon.2021.e07240
- Mahmoodally MF. Traditional medicines in Africa: an appraisal of ten potent African medicinal plants. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2013;2013:1-14. doi: 10.1155/2013/617459
- Moosavizadeh SM, Baghiani M, Majdzadeh M, Haghirsadat F, Moosavizadeh SM. Experimental study: experimental evaluation of phospholipid system containing doxorubicin HCL for use in chemotherapy. *SSU Journals* 2019;10;26:945-56. doi: 10.18502/ssu.v26i11.548
- Yadav AR, Mohite SK. Cancer-A silent killer: An overview. *Asian Journal of Pharmaceutical Research* 2020;10:213-6.
- ung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, Bray F. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin* 2021;71:209-249. doi: 10.3322/caac.21660
- Tao Z, Shi A, Lu C, Song T, Zhang Z, Zhao J. Breast cancer: epidemiology and etiology. *Cell Biochemistry and Biophysics* 2015;72:333-8. doi: 10.1007/s12013-014-0459-6
- Salehiniya H, Haghigat S, Parsaeian M, Majdzadeh R, Mansournia M, Nedjat S. Iranian breast cancer risk assessment study (IRBCRAS): a case control study protocol. *WCRJ* 2018;5:1-5. doi: 10.32113/wcrj_2018_1016
- Nafissi N, Khayamzadeh M, Zeinali Z, Pazooki D, Hosseini M, Akbari ME. Epidemiology and histopathology of breast cancer in Iran versus other Middle Eastern countries. *Middle East Journal of Cancer* 2018;9:243-51. doi: 10.30476/mejc.2018.42130
- Baldo BA, Pham NH. Non-targeted drugs for cancer therapy bt - drug allergy: clinical aspects, diagnosis, mechanisms, structure-activity relationships. *Cham Springer International Publishing* 2021;645-82. doi: 10.1007/978-3-030-51740-3_15
- Garcia-Oliveira P, Otero P, Pereira AG, Chamorro F, Carpena M, Echave J, Fraga-Corral M, Simal-Gandara J, Prieto MA. Status and challenges of plant-anticancer compounds in cancer treatment. *Pharmaceuticals*. 2021;14:157. doi: 10.3390/ph14020157
- Ahmed SF, Sajid M, Ahmad W, Zeenat F, Shakir M. A comprehensive review on an important Unani drug mulethi (Root of *Glycyrrhiza glabra* Linn). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 2021;10:488-93.
- Loveneet Kaur, Rajandeep Kaur, Ajaypal Singh, Navjeet Kaur. A brief review on ethnobotanical, pharmaceutical and therapeutical uses of *Glycyrrhiza glabra*. *Pharma Innovation* 2021;10:997-1006.
- Khoshnam S E, Farzaneh M, Valipour M, Bahaoddini A, Valipour A. Review of the phytochemical, pharmacological and physiological properties of Licorice (*Glycyrrhiza glabra*). *Clin Exc* 2015;4:71-56.
- Battha GE, Beshbishy AM, El-Mleeh A, Abdel-Daim MM, Devkota HP. Traditional uses, bioactive chemical constituents, and pharmacological and toxicological activities of *Glycyrrhiza glabra* L. (Fabaceae). *Biomolecules* 2020;10:352. doi: 10.3390/biom10030352

همان‌گونه که در جدول مشخص شده است، نتایج بسیاری از پژوهش‌های صورت گرفته از منظر مشخصه‌های فیزیکی و شیمیایی به پژوهش حاضر نزدیک بوده و همانند پژوهش حاضر تأییدی بر سمیت بالاتر سامانه‌ی حاوی اسانس یا عصاره نسبت به اسانس و عصاره آزاد بر رده‌های مختلفی از سلول‌های سرطانی دارد. در موارد اختلافی نیز می‌توان عواملی مثل نوع سامانه از نقطه نظر ترکیبات و درصد مواد به کار رفته در ساختار آن، ماهیت ماده بارگذاری شده (نوع اسانس و عصاره) و رده‌های سلولی مورد آزمایش را از جمله دلایل این اختلافات در نتایج ذکر نمود.

نتایج حاصل از پژوهش حاضر با توجه به پژوهش‌های پیشین از منظر مشخصه‌های نانویی برای سامانه لیپوزومی مناسب می‌باشد و از سوی دیگر از سمیت نسبتاً بالایی بر رده سلولی MCF-7 و از سمیت کمی بر رده سلولی HFF برخوردار بود که می‌تواند بیانگر این موضوع باشد که نانوذرات لیپوزومال حاوی عصاره‌های گیاهی شاید بتواند به‌عنوان حامل مناسبی جهت مقابله با سلول‌های سرطانی در حین ایمن ماندن سلول‌های سالم باشد. اما با همه‌ی مزایایی یاد شده برای مطالعه حاضر، این پژوهش مانند بسیاری از پژوهش‌ها، دارای کاستی‌هایی است. عدم استفاده از پلاسماي خون به جای بافر PBS در فرآیند رهایش، عدم بررسی فرآیند رهایش در pHهای متفاوت و عدم بررسی پایداری سامانه‌های لیپوزومی با گذشت زمان از جمله کاستی‌های پژوهش حاضر است، بنابراین انجام و برطرف نمودن این کاستی‌ها به پژوهشگران بعدی در این حوزه پیشنهاد می‌شود.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از تمام کسانی که در انجام این پژوهش همکاری نموده‌اند سپاسگزاری می‌شود.

تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض در منافع از سوی نویسندگان گزارش نشده است.

حمایت مالی

حامی مالی ندارد.

ملاحظات اخلاقی

این طرح دارای کد اخلاق IR.SSU.RSI.REC.1398.038 می‌باشد.

مشارکت نویسندگان

نویسنده اول و مسئول: هدایت کل فرآیند مقاله و تجزیه و تحلیل تحلیل داده‌ها.

نویسنده دوم: جمع‌آوری داده‌ها، تجزیه و تحلیل داده‌ها، نوشتن و نگارش مقاله، ویرایش مقاله.

15. Mukim M, Sharma P, Mohsina FP, Faheem IP, Kukkar R, Patel R, et al. Multiple used medicinal plant: glycyrrhiza glabra – review. *SunText Rev Pharm Sci* 2021;2:113. doi: 10.51737/2766-5232.2021.013
16. Majdizadeh M, Rezaei Zarchi S, Movahedpour A A, Shahi Malmir H, Sasani E, Haghirsadat B F. A new strategy in improving therapeutic indexes of medicinal herbs: preparation and characterization of nano-liposomes containing Mentha piperita essential oil. *JSSU* 2018;25:853-64.
17. Tenchov R, Bird R, Curtze AE, Zhou Q. Lipid nanoparticles-from liposomes to mRNA vaccine delivery, a landscape of research diversity and advancement. *ACS Nano* 2021;15:16982-7015 doi: 10.1021/acsnano.1c04996
18. Mohanraj VJ, Chen Y. Nanoparticles-a review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* 2006;5:561-73.
19. Hoseinzadeh MJ. An overview of the most important mechanisms and systems of targeted drug delivery. *Scientific Research Applied Biology* 2016;6:17-28.
20. Rabani E, Behzadi R, Majdizadeh M, Haghirsadat BF. Fabrication of liposomal formulation containing paclitaxel and comparison of its toxicity with non-liposomal paclitaxel on MCF-7 breast cancer cell line. *JMJ* 2020;18:26-40 .
21. Rommasi F, Esfandiari N. Liposomal nanomedicine: applications for drug delivery in cancer therapy. *Nanoscale Research Letters* 2021;16:1-20. doi: 10.1186/s11671-021-03553-8
22. Taebpour M, Majdizadeh M, Haghirsadat BF. Fabrication and characterization of liposomal nanoparticles containing hydroalcoholic extract of Artemisia absintium and its toxicity on MCF-7 breast cancer cell line. *IJBD* 2021;14:64-77. doi: 10.30699/ijbd.14.1.64
23. Shahi Malmir H, Kalantar SM, Sasani E, Asgari M, Majdizadeh M, Haghirsadat BF. Synthesis and optimization of niosomal carriers containing doxorubicin in order to achieve a final formulation with high potential in cancer cells temperature and acidity. *JSSU* 2019; 26:879-894. doi: 10.18502/ssu.v26i10.479
24. Sasani E, Shahi Malmir H, Daneshmand F, Majdizadeh M, Haghirsadat BF. A new study on synthesise and optimization of PEGylated LipoNiosomal nanocarriers containing curcumin for use in cancer chemotherapy. *JSSU* 2018;26:528-541.
25. Mirzaei F, Majdizadeh M, Fatahi-Bafghi A, Ehsani R, Haghirsadat BF. Fabrication and characterization of liposomal nano-carriers containing essential oils of Trachyspermum ammi to counteract Trichomonas vaginalis. *Koomesh* 2021;23:283-290. doi: 10.52547/koomesh.23.2.283
26. Honary S, Zahir F. Effect of zeta potential on the properties of nano-drug delivery systems-a review (Part 2). *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* 2013;12:265-73. doi: 10.4314/tjpr.v12i2.19
27. Zhao W, Song Zhuang X-RQ. Comparative study of the in vitro and in vivo characteristics of cationic and neutral liposomes. *International journal of nanomedicine*. Dove Press;2011;6:3087. doi: 10.2147/IJN.S25399
28. Danhier F, Feron O, Préat V. To exploit the tumor microenvironment: passive and active tumor targeting of nanocarriers for anti-cancer drug delivery. *Journal of Controlled Release* 2010;148:135-46. doi: 10.1016/j.jconrel.2010.08.027
29. Kulkarni SB, Betageri GV, Singh M. Factors affecting microencapsulation of drugs in liposomes. *Journal of Microencapsulation* 1995;12:229-46.
30. Barakat F, Aboee-Mehrizi F, Haghirsadat BF, Dehghani Ashkezari M. Designing and optimization of liposomal nano-carriers containing Nepeta persica extract and study of its cytotoxicity on the breast cancer cell line (MCF-7). *JSSU* 2019;27:1202-15. doi: 10.18502/ssu.v27i2.1041
31. Parnian F, Hekmati-Moghadam SH, Majdizadeh M, Jebali A, Haghirsadat BF. Fabrication of niosomal nano-carriers containing aqueous extract of hedera helix and comparison of toxicity of free extract and niosome extract on HT29 colorectal cancer cell line. *Journal of Knowledge & Health in Basic Medical Sciences* 2020;15:31-45. doi:10.22100/jkh.v15i3.2405
32. Hemati M, Haghirsadat F, Jafari 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. *International Journal of Nanomedicine* 2019;14:6575. doi: 10.2147%2FIJN.S211844
33. Celia C, Trapasso E, Locatelli M, Navarra M, Ventura CA, Wolfram J, Carafa M, Morittu VM, Britti D, Di Marzio L PD. Anticancer activity of liposomal bergamot essential oil (BEO) on human neuroblastoma cells. *Colloids Surf B Biointerfaces* 2013;112:548-53. doi: 10.1016/j.colsurfb.2013.09.017
34. Haghjoo S, Ghanbarzadeh B, Hamishekar H, Asnaashari S, Dehghannia J. Evaluation of colloidal and antioxidant properties of nano liposomes containing nettle extract. *Innov Food Technol* 2015;2:11-23.[Persian].
35. Haghirsadat F, Azhdari M, Kalantar SM, Nadernezhad S, Teymorizadeh K, Yazdani M, et al. Strategy of Improvements in the reapeutic index of medicinal herbs of Iranianin digenous: Synthesis and characterization of phospholipid lipid-based vesicles in corporated Trachyspermum copticum. *J Shahid Sadoughi Univ Med Sci*. 2016;24:468-78.
36. Gharenaghadeh S, Samadlouie HR, Sowti M, Hamisekar H, Mokaram RR. Evaluation of the antimicrobial and antioxidant properties of Salvia essential oil nano liposome (Salvia multicaulis). *JFST* 2017;14:271-82.[Persian].
37. Talei-Ardakani N, Daneshmand F, Mirhoseini M, Ebrahimpour M, Majdizadeh M. Haghirsadat BF, Fabrication and characterization of physicochemical niosomal nano-carriers containing quercetin flavonoids for therapeutic purposes, *Journal of Knowledge & Health in Basic Medical Sciences* 2020;15:32-40.[Persian]. doi: 10.22100/jkh.v15i1.2329
38. Taebpour M, Majdizadeh M, Haghirsadat BF. Fabrication and evaluation of liposomal nanoparticles containing Silybum marianum extract and its toxicity on osteosarcoma cancer cell line (SAOS-2) and healthy fibroblast cell (HFF). *Knowledge and Health in Basic Medical Sciences* 2021;16:61-73. doi:10.22100/jkh.v16i1.2483
39. Akhlaghi M, Ebrahimpour M, Ansari K, Parnian F, Zarezadeh Mehrizi M, Taebpour M et al . Synthesis, study and characterization of nano niosomal system containing Glycrrizha glabra extract in order to improve its therapeutic effects. *NCMBJ* 2021;11:65-82. doi: 20.1001.1.22285458.1400.11.42.7.7



Fabrication and Physicochemical Characterization of Liposome System Containing Glycyrrhiza Glabra Hydroalcoholic Extract and Evaluation Of Toxicity of Free and Liposomal Extract On Healthy Human Fibroblast Cell Line (HFF) and MCF-7 Breast Cancer Cell Line

Lida Eftekhari-Vash (Ph.D.)^{1*}, Mohammad Majdizadeh (M.Sc.)²

1- Dept. of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Maragheh Branch, Islamic, Azad University, Maragheh, Iran.

2- M.Sc. Nano-Biotech Foresight Company Biotechnology Campus, Science & Technology Park of Yazd, Yazd, Iran.

Received: 17 December 2021, Accepted: 1 January 2022

Abstract:

Introduction: The use of plants to treat diseases has a long history. Today, due to the side effects of common drugs, turning to these natural resources is more mandatory than before. This study aimed to construct and characterize nanoliposomes containing Glycyrrhiza glabra extract and to evaluate its toxicity on healthy HFF cell lines and MCF-7 breast cancer cell lines.

Methods: Initially, licorice extract was obtained using a succulent extraction method. Subsequently, a liposomal system was prepared from SPC and cholesterol using the thin film method, and Glycyrrhiza glabra extract was loaded into the liposomes. Their physicochemical parameters were investigated using zeta-sizer and SEM devices, and the release pattern of the extract was calculated at 37°C and 42°C. Finally, the toxicity of this nanosystem containing the extract on the MCF-7 breast cancer cell line and HFF skin was investigated by the MTT method.

Results: Encapsulation, particle size, polydispersity index, and zeta potential are 64.16±3.45%, 131 nm, 0.131, and -19.1 mV, respectively. Release of the extract was slow at similar temperatures to healthy and cancer cells. Also, liposome extract was more toxic to the MCF-7 cell line than free extract, and both were less toxic to the HFF cell line.

Conclusion: The findings showed that the liposomal system incorporating the extract had advantageous physical and chemical characteristics. It also displayed high toxicity on the MCF-7 cell line but low toxicity on the HFF cell line. This indicates that the liposomal system may be a promising method for delivering plant compounds to specific cells.

Keywords: Liposome, Glycyrrhiza glabra, Breast cancer, Fibroblasts, Nanoparticle.

Conflict of Interest: No

*Corresponding author: L. Eftekhari-Vash, Email: lidaeftekhariavash@yahoo.com

Citation: Eftekhari-Vash L, Majdizadeh M. Fabrication and physicochemical characterization of liposome system containing Glycyrrhiza glabra hydroalcoholic extract and evaluation of toxicity of free and liposomal extract on healthy human fibroblast cell line (HFF) and MCF-7 breast cancer cell line. Journal of Knowledge & Health in Basic Medical Sciences 2024;18(4):59-69.

