



ارائه شده توسط:

سایت ترجمه فا

مرجع جدیدترین مقالات ترجمه شده

از نشریات معتبر

سنتز، شناسایی و سمیت کنترل شده یک ماده ترکیبی (هیبریدی) جدید بر

مبنای سیس پلاتین و دوستاکسل

چکیده:

این مقاله به بررسی سنتز و شناسایی یک ماده ترکیبی جدید بر مبنای نانولوله های کربنی عاملی بار گذاری شده با سیس پلاتین و دوستاکسل می پردازد که این نانولوله ها را می توان در درمان سرطان به عنوان یک سیستم دارو رسانی با سمیت کنترل شده مورد استفاده قرار داد. این ماده با تعیین ساختار از طریق طیف سنج مادون قرمز تبدیل فوریر، میکروسکوپ الکترونی عبوری تحت مطالعه فیزیکی و شیمیایی قرار گرفت و پایداری آن با کمک تحلیل ترموگراویمتریک (TGA) مطالعه شد. مقدار یون های پلاتینوم آزاد شده به محلول شبیه سازی شده بدن (SBF) با طیف سنجی جرمی توسط پلاسما جفت شده القایی (ICP-MS) مشخص شد. آزمایشات سم شناسی با سلول های اپیتلیال سرطان سینه MDA-MB 231 انجام شدند. عملکرد ماده ترکیبی دارو رسانی جدید با نانوله های کربنی عاملی سازی شده با عوامل درمانی عاملی سازی شده با یک عامل درمانی مقایسه شدند. کلمات کلیدی: نانولوله های کربنی، TGA، عاملی سازی، دارو، زنده مانی سلول

1-مقدمه

سرطان سینه در طی دهه اخیر، رایج ترین سرطان در زنان در سرتاسر دنیا بوده است (1). تحقیقات در خصوص درمان سرطان سینه هم در خصوص شیوع و هم در خصوص مرگ و میر ناشی از سرطان در دهه گذشته توسعه یافته است (1.2). این تحقیقات عمدتاً بر انواع درمان ها برای اشکال مختلف سرطان نظیر جراحی، رادیو درمانی و شیمی درمانی متمرکز بوده ضمن این که برخی درمان های کم تر رایج را در بر می گیرد نظیر ترمو تراپی، ایمونوتراپی و درمان هدف (3). روش های درمانی مختلف قادرند تا بیماری را تا حدودی تسکین دهند با این حال مطالعات بیشتری در زمینه های مکمل از جمله عوامل درمانی، سیستم های جدید دارو رسانی و غیره بایستی انجام شود (4-5). عوامل درمانی را می توان به مقوله های مختلف تقسیم بندی کرد: عوامل آلكلیه کننده، آنتی بیوتیک هایی که به اسید های نوکلئیک حمله می کنند، عوامل مشتق پلاتینوم نظیر کربوپلاتین یا سیس پلاتین،

مهار کننده های میتوزی، اثر آنتی بیوتیکها، عوامل نوع کامپوتوتسین و اصلاح کننده های پاسخ بیولوژیکی. در این ایده، هدف یابی حامل های ویژه (6) برای دست یابی به کارایی درمانی بالاتر، اهمی زیادی را در زمینه درمانی کسب کرده است و به طور ویژه، ترکیبات نانوهیبریدی با اثرات هم افزایی بالقوه نسبت به شیمی درمانی مزیت بیشتری را دارد (7).

یک بخش مهم از عوامل کارایی نظیر عوامل آلکیله کننده، آنتی بیوتیک های هدف یابی تومور و ترکیبات پلاتینوم این است عملکرد آن ها از طریق آسیب سلولی با شروع تشکیل رادیکال آزاد، تغییر وضعیت ردوکس و حضور گونه های اکسیژن واکنشی به عنوان ابعاد بیوشیمیایی رایج در سلول های سرطانی می باشد (8). تنش اکسایشی تولید شده با پروکسیدان ها و آنتی اکسیدان ها منجر به آسیب سلولی شده و حضور آن در سلول های سرطانی می تواند پیامد ها و اثرات درمانی مهمی داشته باشد (2.9) و این امکان توسعه راهبرد های درمانی جدید را می دهد (10).

در طی سال های اخیر، تعداد زیادی از نانومواد توسعه یافته اند و این مواد کاربرد زیادی در سرطان در مانی پیدا کرده اند. سیستم های نانومقیاس، حامل های موثر و کارآمدی برای دارو ها برای انتقال این دارو ها به بافت های خاص یا جمعیت های سلولی به دلیل کاهش اثرات جانبی کشنده محسوب می شوند. در این رابطه، نانولوله های کربنی (CNT) اجزای سیستم های دارو رسانی (4-11) به دلیل قابلیت های انتقالی آن ها و خواص فیزیکی شیمیایی آن ها محسوب می شوند. در طی دهه گذشته، این خواص منجر به استفاده از CNT ها در بسیاری از کاربردهای زیستی مهم دیگر نظیر مطالعات آنتی باکتریایی (12) و بیوسنسور ها (13) می شود.

CNT ها از لایه های نازک کربن های حلقه بنزن که به شکل یک ساختار لوله ای یکپارچه در آمده است ساخته شده است. آن ها متعلق به خانواده فلورن ها می باشند که سومین شکل الیوتروپیک کربن همراه با گرافیت و الماس (14) بوده و دارای خواصی نظیر وزن فوق سبک، مقاومت مکانیکی بالا، و نیز رسانش الکتریکی و حرارتی بالا می باشد (15). نانولوله های کربنی بر طبق ساختارشان، می توانند تک دیواره ای (SWCNTs) یا چند دیواره ای (MWCNTs) باشند. عاملی سازی مناسب SWCNTs و MWCNTs امکان سازگاری زیستی و قابلیت انتشار

بهرتر را می دهد(8-16). دو شیوه اصلی برای افزایش ترکیب پذیری آن ها با آب وجود دارد: عاملی سازی کوالان و غیر کوالان. به منظور یافتن دارو های سرطانی جدید، هر دو رویکرد به طور گسترده ای استفاده شده اند و نانولوله های کربنی با مولکول های مختلف بار گذاری می شوند تا تولید مواد ترکیبی جدید نظیر سیستم های دارو رسانی کنند(11-17).

عاملی سازی دوگانه از طریق اکسایش و معرفی یک عامل ضد سرطانی اولین بار در سرطان درمانی نانولوله ای با سیپلاتین تست شد(12)، با این حال اندکی بعد کربوپلاتین و دوکسوروبیسین بررسی و مطالعه شد(13-14). در مقاله قبلی(18)، هدف ما معرفی دوستاکسل در SWCNTs و MWCNTs و برآورد کارایی کپسوله سازی بود که برای MWCNT-COOH اهمیت زیادی داشت. بر طبق داده های شناخته شده، هر دو نوع نانولوله های کربنی اثرات مثبتی بر روی تکثیر سلول و تمایز سلول دارند(21، 3، 19).

نشان داده شده است که دو ترکیب درمانی سیس پلاتین و دوستاکسل حمل شده با MWCNT-COOH اثر مثبتی بر روی تمایز و تکثیر سلول داشتند(2). با این حال، اثرات آن ها بر روی مرگ سلول و کاربرد بالقوه آن ها در سرطان درمانی مطالعه نشده است. هدف این مقاله بررسی سنتز، شناسایی و سمیت کنترل شده این سیستم دارو رسانی دارای سیپلاتین و دستاکسل بار گذاری شده بر روی نانولوله های کربنی عاملی (MWCNTCOOH) می باشد.

هدف اصلی این مقاله بررسی پاسخ درون شیشه ای سلول های سرطان سینه، نوع MDA-MB 231 در مواجهه با CNT های عاملی و CNT های عاملی شده سیتواستاتیک می باشد.

2-روش آزمایش

2-1 سنتز

نانولوله های کربنی چند دیواره ای (MWCNTs) از شرکت سیگما الدریخ با 90 درصد کربن و 10-15 D×L nm × 0.1-10 μ m خریداری شدند که با رسوب بخار شیمیایی کاتالیزوری ساخته شده بودند. عاملی سازی از طریق اکسیداسیون با انتشار آن ها در 8 درصد اسید سولفوریک و التراسونیکاسیون در 50 درجه به مدت 48

ساعت مطابق با MWCNT-COOH (20) صورت گرفت. داروها (سیس پلاتین و دوستاکسل) و محلول 7 درصد NaCl از بازار های دارویی خریداری شد. سیپلاتین (CDDP, 20 mg) در محلول اب نمک حل شده و سپس MWCNT-COOH افزوده شد. دوستاکسل (20 داکس میلی گرم) به محلول افزوده شده و MWCNT-COOH افزوده شد. سپس هر دو سوسپانسیون به مدت 48 ساعت در 50 درجه اولتراسونیکات شده و فیلتر شدند.

2-2 روش های شناسایی

برای شناسایی ساختاری طیف های MWCNT FT-IR های عاملی با سیس پلاتین و دوستاکسل با یک پرکین المر، طیف 100 در دامنه 400 تا 4500 سانتی متر با 32 اسکن و وضوح 4 سانتی متر بدست آمد. ذرات اندازه نانو با استفاده از تحلیل میکروسکوپی الکترونیکی عبوری با میکروسکوپ بررسی شد (Philips EM-410, 60 Kv).

طیف سنج وزنی جفت شده القایی (ICP-MS)، (ELAN DRC-e Perkin Elmer SCIEX U.S.A.) با محدوده تشخیص 0.001 میکروگرم) برای تعیین ازاد سازی پلاتینوم در آزمایش استفاده شد. پایداری مواد ترکیبی با استفاده از منحنی های تحلیل ترموگراویمتری (بازار Q500 TA)، تحت اتمسفر نیتروژن با نرخ گرمایش 10 درجه بر دقیقه از دمای اتاق تا 850 درجه ارزیابی شد.

2-3 کشت و تیمار سلولی

سلول های MDA-MB 231 (یک لاین سلولی گرفته شده از سرطان پستان انسان (ATCC، کاتالوگ HTB-26) (راکویل، MD)) با سرم گاوی 10 درصد (INVITROGEN، کارلسبد، کالیفرنیا، ایالات متحده) و محلول ضد قارچ 1٪ (سیگما، سنت لوئیس، میسوری، ایالات متحده) مکمل سازی شده و هر سه روز یک بار عوض شد. مواجهه در برابر دوز های 0.5، 2.5، 5 و 10 میکرو گرم بر میلی لیتر MWCNT، MWCNT-COOH، COOH، MWCNT-COOH و این سلول ها برای 23 و 72 ساعت در دمای 37 درجه در حضور 5 درصد دی اکسید کربن انجام شد. مواجهه در برابر اشعه فرابنفش به مدت 30 دقیقه به عنوان روش

استریلیزاسیون برای سوسپانسیون های MWCNT استفاده شد. سلول های MDAMB231 نیز به عنوان سلول های شاهد استفاده شد.

4-2 زنده مانی سلول

زنده مانی سلول با روش کالریمتری 3-4-5 دی میتلیتازول-2- ایل-2-5- دی فنیل تترازولیوم برومید (23-27) در پلیت 96 چاهکی ارزیابی شد. بعد از تیمار، محیط حاصل از هر چاهک حذف شده و سلول ها یک بار با 100 میکرو لیتر محلول بافر فسفات شست و شو داده شد. 50 میکرو لیتر از 1 میلی گرم بر میلی لیتر محلول MTT در هر چاهک افزوده شده و محلول حاصله به مدت 2 ساعت در دمای 37 درجه انکوبات شد. بعد از حذف محلول MTT از هر چاهک، حجم 50 میکرو لیتر ایزوپرانول برای محلول سازی بلور های فورمازان افزوده شده و چگالی نوری هر چاهک در 595 نانومتر با استفاده از دستگاه خواننده چند پلیتی تعیین شد. کمیت یا مقدار فورمازان با تعداد سلول های زنده در محیط کشت متناسب است. جذب برای سلول های MDA-MB231 در مواجهه با MWCNT حاکی از زنده مانی 100 درصد بود.

5-2 تحلیل آماری

برای تحلیل آماری تست MTT، تجزیه واریانس یک سویه و تست مقایسه چند گانه بنفرونی انجام شد. همه مقادیر به صورت انحراف معیار + مقدار میانگین سه آزمایش مستقل بیان شد.

3-نتایج و بحث

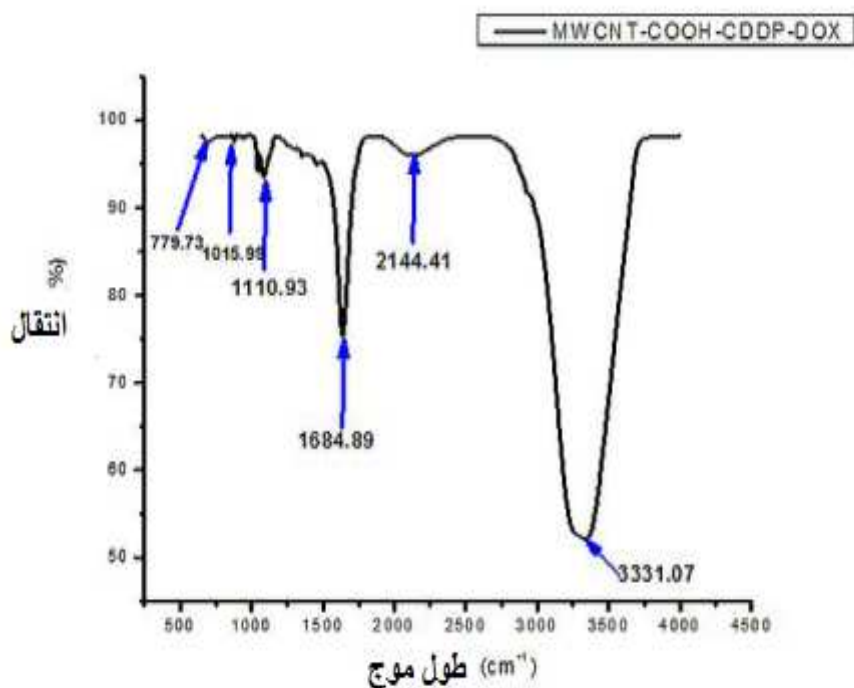
3-1 اندازه گیری FT-IR

طیف سنجی FT-IR ابزاری مفید برای نشان دادن حضور گروه های عاملی در سطح MWCNT بوده و باند ها به گروه ها اختصاص داده می شوند: باند های $-CH$ ، $-C=C$ ، $-C=O$ ، DOX و CDDP برای کنترل تغییرات نمونه ها بین 23.3317-1 779 CM-1 (برای محدوده نانولوله- $-COOH$: 1098.86-597.43 CM-1 برای محدوده CDDP: 925.99-825.98 CM-1 برای DOX) استفاده شدند. این موارد در شکل 1 و جدول 1 نشان داده شده است که در آن مقایسه نانولوله های کربنی عاملی با عوامل

درمانی سیس پلاتین و دوستاکسل ارایه شده است. لازم به ذکر است که باند در 1.745 سانتی متر به ارتعاش کربونیل در گروه های کربونیل نسبت داده می شود. باند جذب گسترده در 1300 سانتی متر ناشی از دفورماسیون خمشی O-H در COOH- است در حالی که پیک وسیع در 3.131 سانتی متر به ارتعاش O-H در گروه های کربوکسیل نسبت داده می شود.

2-3 اندازه گیری های TEM

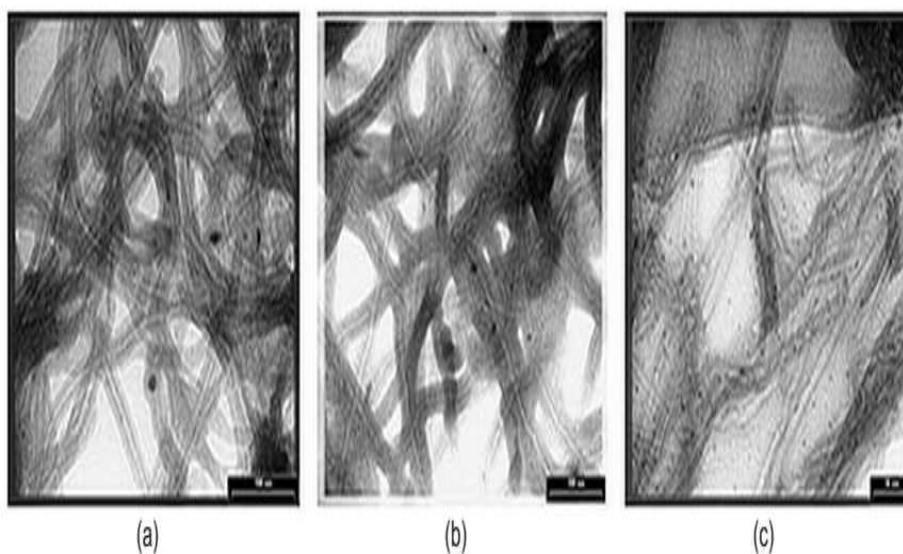
در شکل 2، تصاویر TEM از ریخت شناسی ذرات اندازه نانو برای MWCNT عاملی سازی شده یعنی MWCNT-COOH-CDDP (شکل a2)، MWCNT-COOH-DOX (شکل b2)، MWCNT COOH - CDDP-DOX (شکل c2) ارائه شده و کپسوله سازی اجزای ترکیبی جدید نشان داده شده است.



شکل 1: طیف های مادون قرمز از مواد ترکیبی جدید MWCNT-CDDP DOX

جدول 1: مقایسه ساختار نانولوله های کربنی عاملی با عوامل درمانی مختلف

مطابقت	MWCNTs-COOH-CDDP	MWCNTs-COOH-DOX	MWCNTs-COOH-CDDP-DOX
	عدد موج cm^{-1}	عدد موج cm^{-1}	عدد موج cm^{-1}
-OH	3340.97	3325.47	3331.07
-CH ₂	2142.17	2869.99	2144.41
C=O	1644.93	1697.67	1684.89
O-C	1125	1072	1110.93
CDDP	723	-	779.73
DOX	730.99	-	-



شکل 2: ریخت شناسی TEM، برای الف، م: MWCNT-COOH-CDDP، ب: MWCNT-COOH-DOX، پ:

MWCNT-COOH-CDDP-DOX

ذرات سیسپلاتین دارای عرض 4-6 نانومتر و طول 100 نانومتر بوده و ذرات دسوتاکسل دارای عرض 4-6 نانومتر و طول 50 نانومتر است. این سطح کاملاً همگن است.

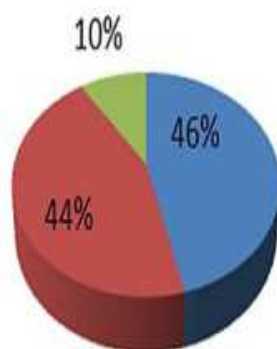
3-3 اندازه گیر یهای ICP-MS

نمونه ها وارد SBF (محلول شبیه سازی شده بدن) شده و سوسپانسیون ها با استفاده از سیستم معرفی نمونه ژنراتور بخار. نبولایزر تحلیل شد. شرایط به منظور بیشینه سازی سیگنال یون پلاتینوم انتخاب شد. بخار تولیدی به ICP-MS برای تعیین پلاتینوم انتقال داده شد.

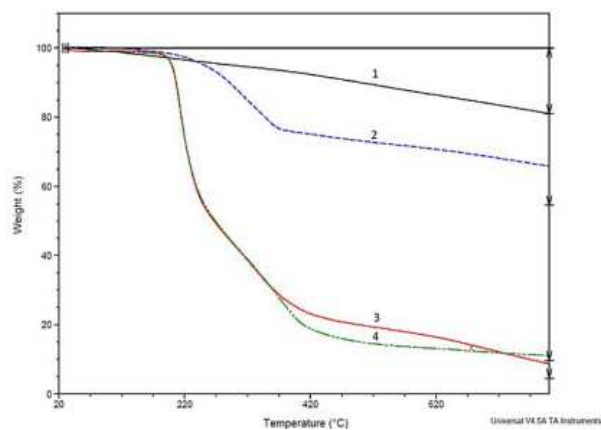
بر طبق شکل 3، یک طیف از انتشار یون پلاتینوم تثبیت شد و بیشترین مقدار برای آزاد سازی یون های پلاتینوم برای نمونه CDDP و کم ترین مقدار برای نمونه MWCNTs-COOH-CDDP-DOX مشاهده شد. مقادیر انتشار یون های پلاتینوم بین 26.16 و 153.2 میکروگرم به ازای هر 100 میکروگرم MWCNT بر طبق ویژگی های ICP-MS برای همه مواد ترکیبی متغیر بود.

4-3 اندازه گیری های TGA

حضور مولکول های دارو (DOX, CDDP) درون نانولوله های کربن میزبان با تحلیل ترموگراویمتری اثبات شد. شکل 4 منحنی های TGA از MWCNT اکسید شده و MWCNT اکسید شده با دارو را نشان می دهد. بدیهی است که کاهش وزن برای MWCNT اکسید شده و اصلاح شده متفاوت هستند. در مقایسه با MWCNT-COOH، اصلاح شده با مولکول های دارو، افزایش کاهش وزن (27٪ برای MWCNT-COOH-CDDP، 71 درصد برای MWCNT COOH-CDDP-DOX و 76٪ برای MWCNT-COOH-DOX) را نشان دادند. و این را می توان به تجزیه مولکول های آلی متصل به سطح MWCNT نسبت داد. نتایج TGA نشان داد که پایداری حرارتی MWCNT اصلاح شده بستگی به نوع دارو دارد. به این ترتیب، پایداری حرارتی سیستم بر اساس MWCNT-COOH-CDDP در مقایسه با MWCNT-COOH-DOX و MWCNT-COOH-CDDP-DOX بالاتر است.



شکل 3: آزاد سازی یون های پلاتینوم از CDDP, MWCNT-COOH-CDDP, MWCNT-COOH-CDDP-DOX.

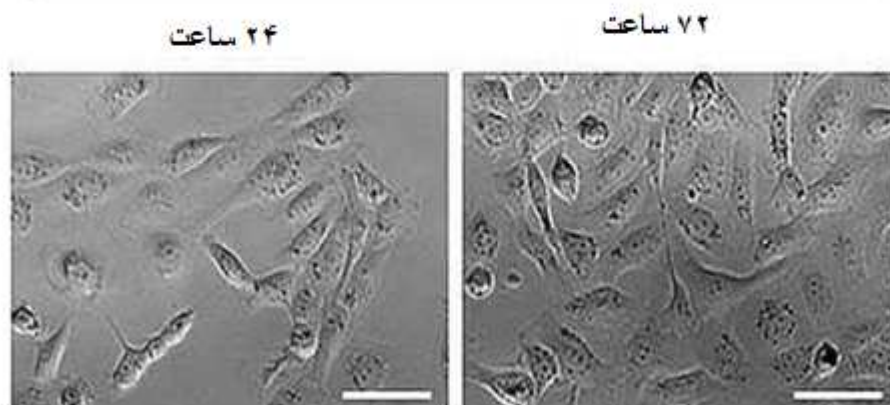


شکل 4: منحنی های TGA، MWCNT-COOH، 2-MWCNT-COOH-CDDP، 3-MWCNT-COOH-DOX، 4-MWCNT-COOH-CDDP-DOX.

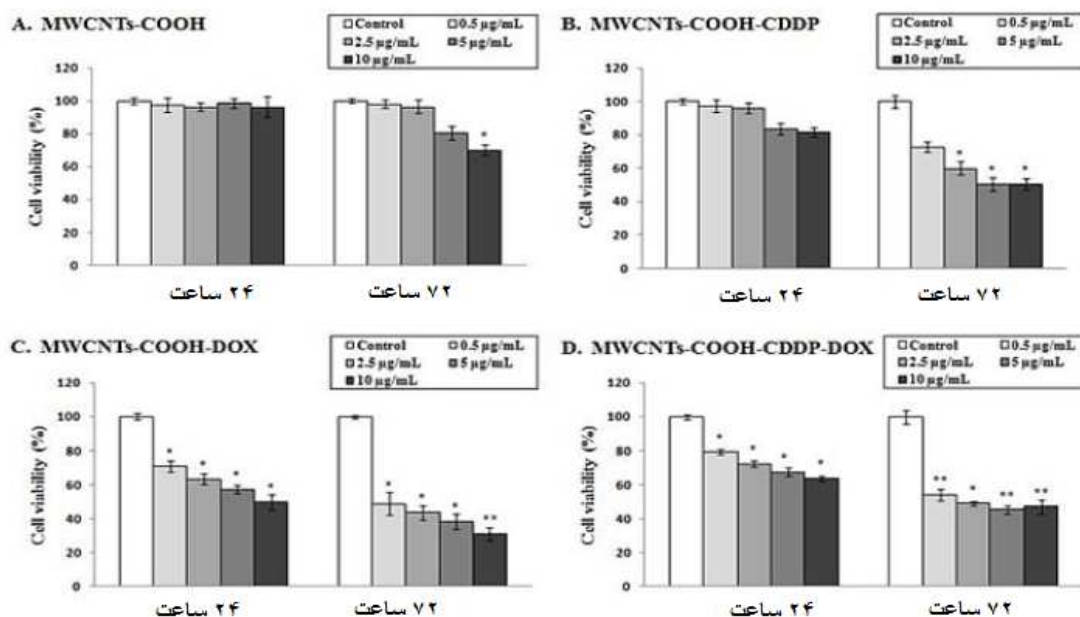
3-5 تحلیل زنده مانی سلول

لایه سلولی MDA-MB231 برای ارزیابی اثرات کامپوزیت های جدید استفاده شد (شکل 5)

سلول های تیمار نشده MDA-MB 231



شکل 5: زمینه های با سلول های شاهد متناظر با فواصل 24 و 72 ساعت. تصاویر با میکروسکوپ زمینه روشن بدست آمدند.



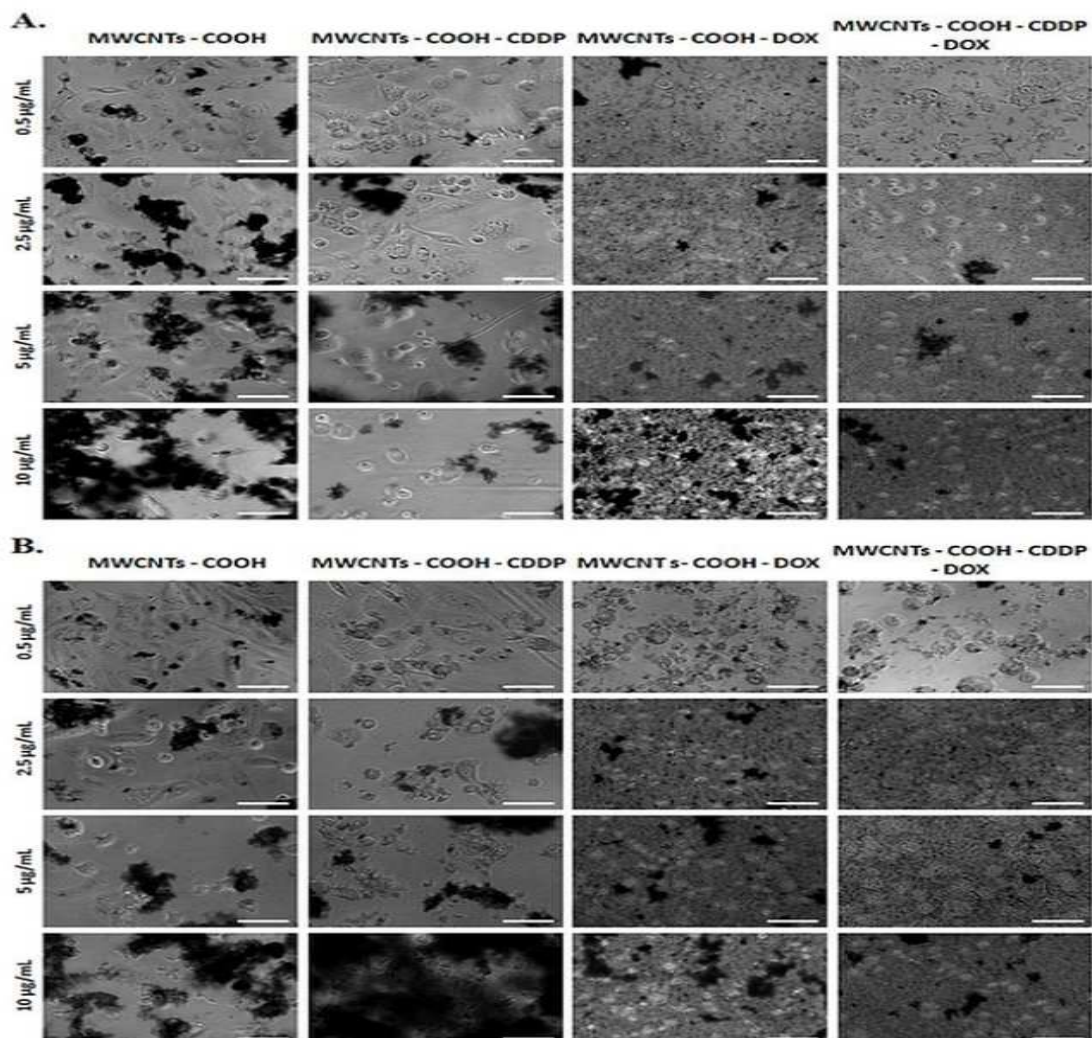
شکل 6: زنده مانی سلول. تست MTT برای سلول های MDA-MB 231 در معرض MWCNTs- COOH, (B) MWCNTs-COOH-CDDP, (C) MWCNTs-COOH-DOX, (D) MWCNTs-COOH-CDDP-DOX. مقادیر به صورت میانگین+ انحراف معیار محاسبه شده و به صورت درصدی از شاهد بیان می شود.

اثر درمانی کمپلکس های MWCNT بار گذاری شده با دارو در تست زنده مانی سلول ها ارزیابی شد. بعد از 24 ساعت مواجهه، کاهش معنی دار در زنده مانی در سلول های تیمار شده MWCNT-COOH-DOX و MWCNTCOOH-CDDP-DOX مشاهده شد. در بالاترین دوز، این پارامتر تا 50 درصد در سلول های MWCNTCOOH-DOX و تا 38 درصد در سلول های تیمار شده با MWCNT-COOH-CDDP-DOX کاهش یافت در حالی که MWCNT-COOH و MWCNT-COOH-CDDP منجر به اثرات سیتوتوکسیک در مقایسه با شاهد نشد.

بعد از 72 ساعت تیمار، سطح زنده مانی سلول به طور معنی داری در سلول های سرطان سینه تیمار شده با MWCNT-COOH-CDDP, MWCNT-COOH-DOX و MWCNT-COOH-CDDP-DOX کاهش یافت. نتایج ما نشان داد که MWCNT-COOH در مقایسه با نانومواد کامپیوزیتی دیگر برای سلول های توموری کم

ترسمی بود. در سلول های MDA-MB 231، سطح زنده مانی سلول به طور معنی داری پس از مواجهه با MWCNT-COOH-CDDP در دوز های 2.5، 5 و 10 میکرو گرم بر میلی لیتر تا 40 درصد کاهش یافت. MWCNT-COOH-DOX زنده مانی سلول را تا 52 درصد برای کم ترین دوز و تا 70 درصد برای بالاترین دوز کاهش یافت. مواجهه با 2.5، 5 و 10 میکرو گرم میلی لیتر MWCNT-COOH-CDDP-DOX موجب کاهش زنده مانی سلول MDA-MB 231 تا 46، 52، 55 و 53 درصد شد (شکل 6).

شکل 7 نشان می دهد که سلول های سرطان سینه از تغییرات شدید ریخت شناسی رنج می برند. سوسپانسیون های CNT، قابلیت انتشار پایینی را در محیط کشت نشان دادند با این حال این نتایج نشان می دهد که انتشار پایدار، از اهمیت کمی برای موفقیت درمانی سیستم در مطالعات کشت سلولی برخوردار است.



شکل 7: سلول های MDA-MB 231 در معرض چهار دوز 2.5، 0.5، 5 و 10 میکرو گرم میلی لیتر MWCNTs-COOH- و MWCNTs-COOH, MWCNTs-COOH-CDDP, MWCNTs-COOH-DOX CDDP-DOX برای 24 و 72 ساعت. تصاویر با میکروسکوپ معکوس زمینه روشن، با استفاده از یک دوربین CCD بدست آمدند.

بر طبق داده ها، کارایی درمان های MWCNT-COOH-CDDP-DOX و MWCNT-COOH-CDDP بر روی سلول های MDA-MB 231 مشابه بود و در مقایسه با MWCNT-COOH-DOX نسبتاً کم تر بود. مطالعاتی بلی نشان داد که CNT ها تولید ROS کرده، پتانسیل غشای میتوکندری را کاهش می دهند و منجر به توقف در چرخه سلولی شده و مرگ سلول را در مدل های مختلف در پی دارند. نوع مرگ سلول به صورت آپوپتوزیس یا نکروزیس در نظر گرفته شد. به نظر می رسد که این رویداد ها پس از نفوذ فیزیکی نانولوله های کربنی به درون سلول و تولید تنش اکسایشی با تشکیل ROS رخ داد. بر عکس، مطالعات دیگر نشان داده است که این نانولوله ها غیر سمی بوده اند (32). در این آزمایشات، MWCNT-COOH، سمیت پایین را در بالاترین دوز نشان داد.

از سوی دیگر، بر طبق گفته ویلسون و همکاران (33)، انکوباسیون سلول ها با دوستاکسل منجر به تشکیل مجموعه های میکروتوبول های غیر عادی شده و منجر به توقف سلول ها در فاز G2/M چرخه سلولی شده است.

مطالعاتی بر روی سمیت دوستاکسل حاکی از پتانسیل آن در تولید ROS با فعال سازی اکسیداز های NADPH و اختلال در میتوکندری می باشد که موجب فعال سازی کاسپاز-3 شده و آپوپتوزیس را به دنبال دارد (34-35). عامل فعال زیستی دیگر، CDDP موسوم به عامل آسیب دی ان ای بوده و بدیهی است که آپوپتوزیس یک نقش مهم در مرگ ناشی از CDDP سلول های سرطانی ایفا می کند (36).

به نظر ما، زنده مانی سلول پایین برای تیمار MWCNT-COOH-DOX ناشی از نقش آن در تولید ROS
MWCNTCOOH و DOX می باشد. با این حال در رابطه با MWCNT-COOHCDDP-DOX، سطح DOX
در کامپوزیت پایین بوده و اثر بر روی سلول مشابه با MWCNT-COOH-CDDP است.

4- نتیجه گیری

این مطالعه حاکی از کپسوله سازی هم زمان دوستاکسل و سیسپلاتین در MWCNT ها با اندازه گیری های
FTIR و MWCNT-COOH بوده و نشان دهنده ساختار یک ماده ترکیبی جدید است. آزمایشات سلول با خط
سلولی اپی تلیال سرطان سینه MDA-MB231 انجام شد. نتایج مفیدی با مقایسه کارایی کامپوزیت های
جدید بعد از 24 و 72 ساعت و برای غلظت های مختلف بدست آمد. مطالعات درون تنی برای اعتبار سنجی
وارزیابی کارایی سیستم های گزارش شده ضروری است.



این مقاله، از سری مقالات ترجمه شده رایگان سایت ترجمه فا میباشد که با فرمت PDF در اختیار شما عزیزان قرار گرفته است. در صورت تمایل میتوانید با کلیک بر روی دکمه های زیر از سایر مقالات نیز استفاده نمایید:

لیست مقالات ترجمه شده ✓

لیست مقالات ترجمه شده رایگان ✓

لیست جدیدترین مقالات انگلیسی ISI ✓

سایت ترجمه فا ؛ مرجع جدیدترین مقالات ترجمه شده از نشریات معتبر خارجی