



دانشکده علوم

گروه زیست‌شناسی

عنوان پایان‌نامه:

تهیه و بررسی خصوصیات نانوذرات حاوی پلی‌پیتید و تاثیر زیستی آن

استاد راهنما:

دکتر اسداله اسدی

اساتید مشاور:

دکتر صابر زهری

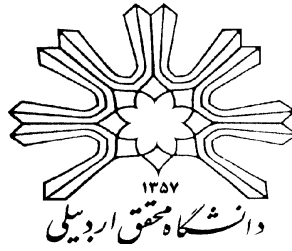
دکتر ابوالفضل برزگر

توسط:

زهرا نزهت

دانشگاه محقق اردبیلی

مهر ماه 1389



Faculty of science

Department of Biology

Title of thesis

**Preparation and characterization of polypeptide containing
nanoparticles and its biological effects**

Supervisor:

Dr. Asadollah Asadi

Advisors:

**Dr. Saber Zahri
Dr. Abolfazl Barzegar**

By:

Zahra Nozhat

University of Mohaghegh Ardabili

2010, October

نام خانوادگی دانشجو: نزهت	نام: زهرا
عنوان پایان نامه: تهیه و بررسی خصوصیات نانوذرات حاوی پلی پپتید و تاثیر زیستی آن	
استاد راهنما: دکتر اسداله اسدی استاد مشاور: دکتر صابر زهری و دکتر ابوالفضل برزگر	
مقطع تحصیلی: کارشناسی ارشد رشته: زیست‌شناسی گرایش: سلولی و مولکولی دانشگاه: محقق اردبیلی دانشکده: علوم تاریخ فارغ التحصیلی: 89/7/13 تعداد صفحه: 108	
کلید واژه ها: کوپلیمرهای سه قطعه‌ای، PLGA-PEG-PLGA، سورفاکتین، زیست‌سازگاری، زیست تخریب-پذیری، سیتوتوکسیسیتی، HeLa، FTIR.	
<p>چکیده: در این بررسی کوپلیمر سه قطعه‌ای، پس از سنتز از طریق طیف سنجی FTIR مورد تایید قرار گرفت. بررسی نانوذرات حاصل از این کوپلیمر با استفاده از میکروسکوپ الکترونی نگاره حاکی از تشکیل میسل‌های کاملاً کروی در ابعاد 400 تا 500 نانومتر بود. به منظور بررسی زیست‌سازگاری پلیمر، از آزمون همولیز و MTT استفاده گردید نتایج به دست آمده نشان داد که این کوپلیمر سیتوتوکسیسیتی کمی داشته و در غلظت‌های به کار رفته به منظور رهش دارو (کمتر از 2 میلی گرم در میلی لیتر) سیتوتوکسیسیتی بسیار ناچیزی را از خود نشان می‌دهد. در این تحقیق به منظور بررسی رهش دارو از پلی پپتید سورفاکتین استفاده گردید ابتدا خصوصیات سورفاکتین مانند سیتوتوکسیسیتی، اثر همولیتیکی، توانایی تشکیل میسل (توسط SEM)، بررسی ساختار دوم توسط Far-UV CD و میانکنش آن با رسپتور داخل سلولی با استفاده از نرم افزار Aoutodock مورد بررسی قرار گرفت. سپس برای لود کردن سورفاکتین بر روی نانوذرات پلیمری (نسبت 1 به 20) در بافر PBS تحت امواج فراصوت قرار گرفت. لود شدن سورفاکتین بر روی نانوذرات پلیمری توسط FTIR، Far-UV CD و نیز تشکیل میسل‌های مختلط سورفاکتین-پلیمر در ابعاد 20 تا 100 نانومتر توسط میکروسکوپ الکترونی نگاره مورد تایید قرار گرفت. نتایج حاصل از Far-UV CD و FTIR در مورد بررسی اثر پلیمر روی ساختارهای دوم سورفاکتین با هم مطابقت داشت. سورفاکتین لود شده بر روی نانوذرات، در غلظت‌های مختلف (غلظت‌های به کار رفته در مورد سورفاکتین آزاد) در سه بازه‌ی زمانی 16، 24 و 48 ساعت بر روی سلول‌های سرطانی هلا تاثیر داده شده و با استفاده از آزمون MTT مقادیر IC50 آن تعیین گردید. مقایسه‌ی نتایج حاصل با نتایج به دست آمده از آزمون MTT سورفاکتین آزاد، نشان داد که سورفاکتین لود شده بر روی نانوذرات تاثیر بیشتری را در توقف رشد سلولی نسبت به سورفاکتین آزاد داشت که این اختلاف در بازه‌ی زمانی 48 ساعت چشمگیرتر بود. بنابراین مقایسه‌ی نتایج نشان دهنده کاهش اندازه‌ی نانوذرات (میسل‌های مختلف) و افزایش ورود سورفاکتین به داخل سلول و رهش آهسته‌ی سورفاکتین در داخل سلول از نانوذرات پلیمری است.</p>	

Surname: Nozhat	Name: Zahra
Title of thesis: Preparation and characterization of polypeptide containing nanoparticles and its biological effect.	
Supervisors: Dr. Asadi, Asadollah Advisor : Dr. Zahri, Saber and Dr. Barzegar, Abolfazl.	
Graduate Degree: MSc	Major: Biology
University of Mohaghegh Ardabili	Specialty: Cellular and Molecular
Graduation date: October 5, 2010	Faculty: Science
108	Number of pages:
Keywords: Triblock copolymer, PLGA-PEG-PLGA, Surfactin, Biocompatibility, Biodegradability, Cytotoxicity, HeLa, FTIR.	
<p>Abstract: There are many approaches to peptide and protein drugs delivery. One of these methods is conjugating peptides with water-soluble polymers. In this presentation, PLGA-PEG-PLGA triblock copolymer as a polypeptide carrier after preparation, was confirmed by FTIR spectrum. The size of produced nanoparticles by this copolymes was between 400-500nm. For investigation of biocompatibility of this copolymer MTT assay and hemolysis assaye were used. The obtained results show high biocompatibility of copolymer. The polypeptide, that was selected for peptide delivery was surfactin. Surfactin, a non-ribosomal heptalipopeptide, is produced by Bacillus subtilis strains. Recent studies show that it possesses numerous biological activities such as antitumor and anticancer activities. In this presentation different properties of surfactin such as its hemolytic activity, second structure, micellization ability and interaction with receptor (by Autodock software) were investigated. For sustained delivery of peptide studies, surfactin was conjugated non-covalently with polymeric nanoperticles and then surfactin-loaded nanoparticles were confirmed by FTIR spectrum. Effect of copolymer on secondary structure of surfactin was investigated by far-UV CD spectrum. The sizes of polymeric nanoparticles, surfactin micelles and surfactin-loaded nanoparticles were measured by SEM. For investigation of biological activity of surfactin, polymeric nanoparticles and surfactin-loaded nanoparticles, HeLa cell line was treated by different concentration of them. Cell viability was estimated by MTT assay. MTT assay results exhibited that surfactin-loaded nanoparticles were more effective in arresting cell growth as compared to that shown by free surfactin. According to the results, it is concluded that PEG-PLGA-PLGA nanoparticles are capable of delivering surfactin over a prolonged period achieving a sustained delivery of surfactin, thus make it a potential candidate for cancer therapy.</p>	

1- مقدمه

امروزه صدها داروی پپتیدی و پروتئینی وجود دارند که بطور تجاری قابل دسترسی بوده یا در حال توسعه می‌باشند. توسعه‌ی این عوامل پروتئینی و پپتیدی بحث جدیدی را در مرحله‌ی روش-های توزیعشان ایجاد می‌کند، چون این ترکیبات معایبی مانند اندازه‌ی بزرگ، آبگریزی، تجزیه توسط آنزیم و نیمه عمر محدود در گردش خون را دارند و بنابراین نمی‌توانند از طریق عضلانی و مسیر دهانی مصرف شوند. از طرفی درمان اختلالات متابولیکی توسط پپتیدها و پروتئین‌ها نیازمند درمان طولانی مدت می‌باشد و بنابراین سیستم‌های دارو رسانی غیرتهاجمی برای این بیماری‌ها مورد توجه هستند.

امروزه توانایی عوامل ضد سرطانی پپتیدی و پروتئینی، علی‌رغم دارا بودن مسائل نگران کننده در مورد توزیع¹ به جایگاه یک تومور و درون سلول‌های تومور، باید درک و شناسایی شود. بنابراین، درک ما از مکانیسم‌های سرنوشت بیولوژیکی و توزیع زیستی² داروهای پپتیدی و پروتئینی تا مرحله‌ای پیشرفت کرده است که روش‌هایی که این مکانیسم‌ها را به کار می‌برند و یا آن‌ها را تحت تاثیر قرار می‌دهند، امروزه در دسترس می‌باشند. روش‌های مختلفی وجود دارند که می‌توانند پایداری، نیمه عمر و نشاندار کردن پپتیدها و پروتئین‌ها در بدن را بهبود بخشند، مانند تغییر آن‌ها با استفاده از انواع پلیمرهای قابل حل در آب، قرار دادن آن‌ها درون حاملین دارویی میکروذره‌ای³ و استفاده از نیمه‌های هدفدار کننده⁴. این پیشرفت‌ها، توزیع یک نسل جدیدی از داروهای ضد سرطانی را نوید می‌دهند.

طی دهه‌ی اخیر، استفاده از سیستم‌های دارو رسانی پلیمریک شامل میکرو حامل‌ها و نانوحامل‌ها و تکنیک‌های مهندسی ذرات، بطور قابل توجهی توسعه یافته‌اند.

1. Delivery

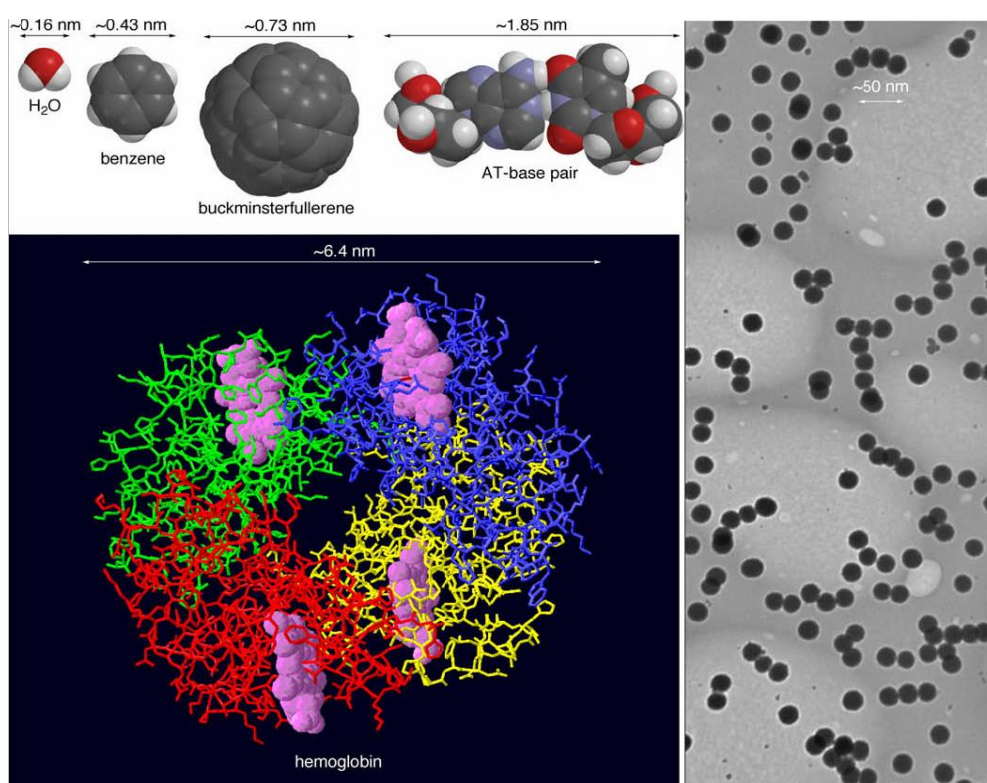
2. Biodistribution
3. Microparticulate drug carriers
4. Targeting moieties

1-1- مقدمه ای بر نانوفناوری

امروزه نیاز به تشخیص بیماری‌ها در مراحل اولیه، افزایش یافته است و این دقیقاً مطابق این گفته است که «پیش‌گیری بهتر از درمان» است. بنابراین تشخیص زود هنگام بیماری‌ها، یک شانس برای پیشگیری از یک سری اختلالات مزمن و کشنده می‌باشد. تکنولوژی‌های جدید برای سرعت بخشیدن به فرآیندهای تشخیصی و کمک به دانشمندان و درمانگاه‌ها در آغاز درمان‌های هدفدار توسعه یافته‌اند و به دنبال پاسخ‌های درمانی مورد نیاز هستند. یک نقطه‌ی عطف مهم در این فرآیند، پیشرفت‌های حاصل از عملکرد محققان در رشته‌های بیوشیمی، ایمونولوژی و داروشناسی در شناسایی علائم مولکولی بدخیمی‌ها و سرطان‌ها با استفاده از تکنیک‌های آزمایشگاهی پیچیده بوده است. امروزه هدف، به کارگیری دستاوردهای اولیه و ترکیب آن‌ها با تکنولوژی‌های جدید قابل دسترس برای تشخیص زود هنگام علائم بیماری‌های کشنده مثل بدخیمی‌ها و سرطان است. چنین پیشرفت‌هایی باید به ما اجازه‌ی دخالت سریع و اختصاصی را به منظور کنترل پیشروی بیماری‌ها قبل از تبدیل آن‌ها به عفونت‌های مزمن و بدخیم بدهد. تحقق این هدف نیازمند توسعه‌ی تکنولوژی‌هایی در ابعاد 1-100 نانومتر است که خصوصیات مکانیکی، الکتریکی، شیمیایی و نوری (اپتیکی) منحصر به فردی را نشان می‌دهند و می‌توانند در میانکنش با رسپتورها، اسکلت سلولی، اندامک‌های اختصاصی و ترکیبات هسته‌ای درون سلول شرکت کنند. این تکنیک‌ها زمانیکه بتوانند بیماری‌ها را از طریق روش‌های غیر تهاجمی در *in vivo* در یک مرحله‌ی غیر تخریبی و بطور فیزیکی کنترل کنند، بسیار با ارزش خواهند بود (3-6). نانوفناوری، فناوری قرن بیست و یکم، به ما امکان ساخت طیف وسیعی از ماشین‌ها و ابزارهای مولکولی کنترل شونده‌ی کامپیوتری بسیار کوچکتر از سلول انسانی و مولکول‌های دارویی دقیق را می‌دهد (7). تفاوت این فناوری با فناوری‌های دیگر در مقیاس مواد و ساختارهایی است که در آن، مورد استفاده قرار می‌گیرند. البته تنها کوچک بودن اندازه مطرح نیست، بلکه زمانیکه مواد در این مقیاس قرار می‌گیرند، خصوصیات ذاتی آن‌ها از جمله رنگ، استحکام، مقاومت خوردگی و... تغییر می‌یابد (1). این فناوری شامل بررسی و توسعه‌ی تکنولوژی در مقیاس ماکرومولکولی، مولکولی و اتمی می‌باشد و منجر به ساخت ابزارهایی با مقیاس‌های طولی در محدوده‌ی 1-100 نانومتر (7) با هدف کنترل و استفاده‌ی درست این مواد توسط آرایش دقیق مولکول‌ها و اتم‌ها، تولید تجمعات مولکولی جدید و طراحی سیستم‌های

خودتجمع برای ایجاد ابزارهای فرامولکولی در مقیاس یک سلول یا کوچکتر می‌شود(8). این ابعاد از مولکول‌های آلی استاندارد بزرگتراند ولی کوچکترین آن‌ها، به بسیاری از پروتئین‌ها و ماکرومولکول‌های زیستی نزدیکتر هستند (شکل 1-1)(9). این ساختارها باید ویژگی‌ها و عملکردهای جدیدی به خاطر ابعاد کوچکشان داشته باشند. هدف از این مقیاس‌ها، مثل نانوذرات، یافتن خصوصیات و عملکردهای جدیدی است که بطور قابل توجهی با ویژگی‌های مشاهده شده در مقیاس‌های بزرگتر متفاوتند. این رشته‌ی به سرعت رو به رشد، امکان بررسی، طراحی و توسعه‌ی نانوذرات چند عملکردی را فراهم می‌کند که می‌توانند بیماری‌هایی مثل سرطان را نشاندار کرده، تشخیص دهند و درمان کنند.

شکوفایی رشته‌ی جدید نانوفناوری که توسط پیشرفت‌های سریع در علم و تکنولوژی ایجاد شد، فرصت‌های جدید بی‌شماری را در علوم مختلف به خصوص پزشکی و زیست‌شناسی ایجاد می‌کند (8).



شکل 1-1. اندازه‌های مولکول‌های آلی و ماکرومولکول‌های زیستی (چپ) در مقایسه با نانوذرات سیلیکا (راست)

1-1-1-1- انواع نانوفناوری

نانوفناوری به سه شاخه‌ی جدا و در عین حال مرتبط با یکدیگر تقسیم می‌شود که بر اساس ساختارهای زیر تعریف می‌شوند:

1-1-1-1-1- نانوفناوری مرطوب^۵

این شاخه به مطالعه‌ی سیستم‌های زیست‌محیطی که اساساً در محیط‌های آبی پیرامون وجود دارند، می‌پردازد و چگونگی مقیاس نانومتری ساختمان مواد ژنتیکی، غشاءها و سایر ترکیبات سلولی را مورد مطالعه قرار می‌دهد. موفقیت این رشته توسط ساختارهای حیاتی فراوانی که تشکیل شده‌اند و نحوه‌ی عملکرد ساختمان‌شان در مقیاس نانویی نظارت می‌شود، به اثبات رسیده است. این شاخه در برگیرنده‌ی علوم پزشکی، دارویی، زیست‌محیطی و در کل علوم مرتبط با Bio می‌باشد (2).

1-1-1-1-2- نانوفناوری خشک^۶

از علوم پایه‌ی شیمی و فیزیک مشتق می‌شود و به تمرکز روی تشکیل ساختارهای کربنی، سیلیکون و دیگر مواد غیرآلی می‌پردازد. قابل تأمل است که فناوری خشک-مرطوب استفاده از مواد نیمه هادی را نیز می‌پذیرد. الکترون‌های آزاد و انتقال دهنده در این مواد، آن‌ها را برای محیط مرطوب سودمند می‌سازد. اما همین الکترون‌ها خصوصیات فیزیکی فراهم می‌کنند که ساختارهای خشک از آن‌ها در الکترونیک، مغناطیس و ابزارهای نوری استفاده می‌کنند. اثر دیگر که باعث ساختارهای خشک می‌شود این است که قسمت‌های خودتکثیر مشابه ساختارهای مرطوب را دارا هستند (2).

1-1-1-1-3- نانوفناوری تخمینی^۷ (محاسبه‌ای)

به مطالعه‌ی مدلسازی و ساختن ظاهر ساختارهای پیچیده در مقیاس نانویی توجه دارد. تجزیه و تحلیل محاسبه‌ای در موفقیت نانوفناوری مهم است زیرا طبیعت میلیون‌ها سال وقت لازم دارد که تکنولوژی مرطوب را به صورت کاربردی درآورد. شناختی که بوسیله‌ی محاسبه بدست می‌آید به ما

1. Wet nanotechnology
1. Dry nanotechnology
2. Computational nanotechnology

اجازه می‌دهد که زمان پیشرفت نانوفناوری خشک را به چند دهه کاهش دهیم که این تأثیر مهمی را در نانوفناوری مرطوب نیز دارد. نانوفناوری تخمینی، پلی است برای ارتباط با علوم مهندسی، محاسباتی، کامپیوتر و فناوری جدید (2).

با توجه به ساختارهای اعلام شده برای نانوفناوری، تأثیر متقابل آن‌ها بر یکدیگر و لزوم مشارکت هر سه ساختار برای خلق و توسعه‌ی اکثر محصولات نانویی، واضح است که فناوری برتر آینده نقطه‌ی تلاقی تفکر و عمل تمامی دانشمندان و محققان علوم مختلف است.

2-1-1- نانوفناوری و پیراپزشکی

نانوفناوری به عنوان یک دانش پایه در تولیدات صنعتی بشر، زمینه‌های مختلف دنیای فناوری را تحت تأثیر قرار خواهد داد. امروزه در کنار شناخت بیماری‌ها و روش‌های درمان، آگاهی و دسترسی دقیق‌ی نسبت به اجزای بدن انسان حاصل شده است که می‌توانیم اندام‌هایی را به بدن پیوند بزنیم یا اعضای مصنوعی را جایگزین اعضای از کار افتاده نماییم. داروهایی که برای درمان بیماری‌ها ساخته شده‌اند، خود آسیب‌های دیگری را به سلامت بدن وارد می‌سازند و به این دلیل که محیط و هدف دقیق خود را نمی‌شناسند و توانایی حرکت به سوی هدف خود را ندارند، ناگزیر از درمان تقریبی می‌باشند.

ظهور بیماری‌هایی نظیر ایدز با ویروس مرموز HIV که داروهای کنونی از شناسایی و نابود کردن آن عاجزند به همراه گسترش روزافزون آن در میان مردم جهان، مشکل بسیار بزرگی محسوب می‌شود. پژوهش‌های انجام شده، ساختاری را ارائه می‌کند که می‌تواند پیشرفت حیرت‌انگیزی را در صنعت دارو و درمان بیماری‌ها و آسیب‌های زیستی ایجاد کند. «ماشین‌های مولکولی هوشمند» نمونه‌ی بسیار کوچک یک سیستم شناساگر، ترمیم‌کننده و متحرک بسیار دقیق‌اند که می‌توانند تمام مشکلات مذکور در پزشکی امروز را برطرف سازند. این ماشین‌ها با اطلاعات کامل از ساختار بدن و حتی اجزاء سلول‌های بدن به راحتی قادر به حفاظت از آن در برابر باکتری‌ها، میکروب‌ها و ویروس‌های بیماری‌زا خواهند بود. برای مثال با داشتن اطلاعات دقیق از DNA، سلول‌های بدن می‌توانند عوامل مهاجم را قبل از آسیب زدن به سلول‌های سالم شناسایی کرده و از بین ببرند.

ماشین‌های مولکولی هوشمند (مجموعه‌ای از مولکول‌های برنامه‌ریزی شده که توسط موتورهای مولکولی حرکت می‌کنند و قابلیت انجام اعمال سودمند و دقیق در مقیاس درون سلولی دارند) می‌توانند مواد دارویی لازم برای بیماری‌های خاص را دریافت و تا محل سلول‌های بیمار حمل کنند و

پس از شناسایی تک تک آن‌ها، دارو را اثر داده و با حداقل ماده مورد نیاز و عوارض جانبی بیماری را درمان کنند. در عین حال این ماشین‌ها با ابعاد کوچک خود می‌توانند از غشاء سلول‌ها عبور کرده و حتی اجزاء سلولی را نیز ترمیم نمایند. با چنین قابلیت‌هایی، نانوماشین‌های مولکولی به راحتی می‌توانند حتی ویروس HIV را از طریق مقایسه‌ی اطلاعات آن با DNA بدن انسان شناسایی کرده و از بین ببرند (2).

3-1-1- نانوفناوری و زیست‌فناوری

مولکول‌ها و سیستم‌های بیولوژیکی صفاتی دارند که آن‌ها را برای کاربردهای نانوفناوری بسیار مناسب می‌سازد. با وجود اینکه در نگاه اول به نظر می‌رسد که در طبیعت، تعداد محدودی واحدهای سازنده‌ی اصلی (آمینواسیدها، چربی‌ها، اسیدهای نوکلئیک) وجود دارند، اختلاف شیمیایی این مولکول‌ها و راه‌های مختلف پلیمر شدن آن‌ها، طیف وسیعی از ساختارهای ممکن را ایجاد می‌کند. علاوه بر این پیشرفت‌هایی که در سنتز شیمیایی و در کل در زیست‌فناوری صورت پذیرفته، انسان را قادر می‌سازد که این واحدهای سازنده را در کنار هم قرار دهد و ترکیب کند و از این طریق، مواد و ساختارهای جدیدی که تاکنون در طبیعت ساخته نشده‌اند را بسازد. این ساختارها، غالباً کاربردهای بی‌نظیر و منحصر به فردی دارند.

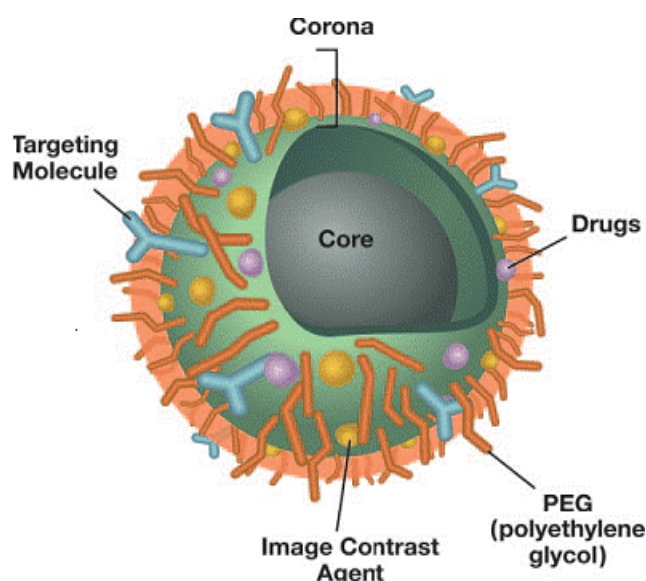
بیوپلیمرهای تهیه شده از طریق زیست‌فناوری، تک پراکنده^۱ هستند و طول زنجیره‌ی آن‌ها تعریف شده است. تولید چنین پلیمر سنتزی عملاً غیرممکن است. اخیراً نشان داده شده است که پلیمرهایی که طول زنجیره‌ی آن‌ها درست تعریف شده باشد، دارای قابلیت‌های کریستال مایع غیر عادی می‌باشند. بعنوان مثال روش‌های سنتز پلیمر، می‌توانند برای تولید موادی از این دست، استفاده شوند. در زیست‌فناوری می‌توان از کنار هم قرار دادن اسیدآمینه‌های مصنوعی مانند بتا آلانین و یا پروتئین‌های دیگری که در ساختارشان آلکن یا آلکین وجود دارد استفاده کرد (2).

3-1-2- نانوذرات^۲

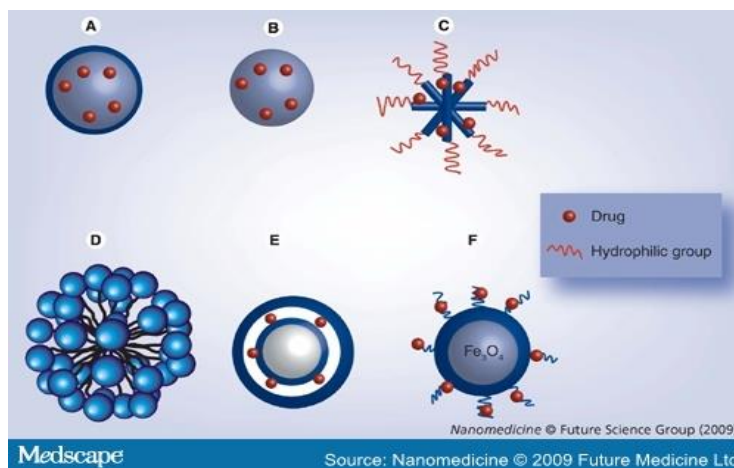
اگر بخواهیم تفاوت نانوفناوری را با سایر فناوری‌ها به صورت قابل ارزیابی بیان نماییم می‌توانیم وجود «عناصر پایه» را به عنوان یک معیار ذکر کنیم. عناصر پایه در حقیقت همان عناصر نانومقیاسی هستند که خواص آن‌ها در مقیاس نانو با خواصشان در مقیاس بزرگتر فرق می‌کند (1).

1. Mono disperse
2. Nanoparticles

در زمینه‌ی نانو مقیاس، در مقیاس بیومولکول‌ها، نانوفناوری طیف وسیعی از ابزارها و کاربردها را ارائه می‌دهد (7). چنین ابزارهایی به پزشکی و زیست‌شناسی امکان مداخله در یک مسیر پیچیده و کنترل شده در سطح سلولی و مولکولی را خواهند داد (10). نانوفناوری در محدوده‌ی وسیعی از مواد ظاهر می‌شود که می‌تواند برای زیست‌شناس سودمند باشد. تمام این مواد با سطوح تغییر پذیر از نظر شیمیایی برای اتصال به یک نوع لیگاند طراحی شده‌اند که می‌توانند این نانومواد را به درون حسگرهای زیستی ببرند و به مواد فلورسنت در ابعاد مولکولی و عوامل تصویر برداری متصل کنند (شکل 1-2 و 3-1) (7).



شکل 1-2. نانوذره‌ی چندعملکردی. سطح نانوذره می‌تواند توسط پلیمرهای هیدروفیل، مولکول‌های نشاندارکننده، داروها و عوامل کنتراست تصویر بکار رود. هسته‌ی داخلی می‌تواند جامد (ذرات کوانتوم) یا مایع (لیپوزوم) باشد.



شکل 1-3. نانوذرات چند عملکردی مختلف. (A) میسل‌های پلیمریک (B) دندریمرها (C) نانوذرات مغناطیسی (پوشش پلیمری لود شده با داروی ضد سرطان).

اولین و مهمترین عنصر پایه نانوذره است. منظور از نانوذره، همان طور که از نامش مشخص است ذراتی با ابعاد نانومتری، حداقل در یک بعد، است. ذرات در محدوده‌ی نانو، «نانوذره» نامیده می‌شوند. این‌ها ذراتی کروی با ویژگی‌های خاص هستند که این ویژگی‌ها باعث شناسایی، آنالیز و اندازه‌گیری آن‌ها در یک مسیر مؤثرتر می‌شوند. برای درک کامل نانوفناوری به خصوص نانوذرات، باید از شیمی سطح ذرات آگاهی داشته باشیم. تغییر سطح خارجی نانوذرات امکان تغییر بزرگ ماهیت‌های مولکولی، شیمیایی و زیستی را برای پیوند کووالانت یا سایر پیوندها با آنها را می‌دهد. ساختن این ترکیبات خصوصیات سودمندی را مثل افزایش حلالیت و زیست‌سازگاری را به ذره اعطا می‌کند (7). ویژگی‌های اپتیکی و فیزیکی مختلف نشان می‌دهند که نانوذرات با مولکول‌های زیستی، داروها و سایر عوامل تشکیل دهنده‌ی نانوپروب‌ها ترکیب می‌شوند. برای مثال نانوذرات اکسید آهن خصوصیات فوق پارامغناطیسی نشان می‌دهند در حالیکه نانوذرات طلا ویژگی‌های جذب اپتیکی خاص وابسته به اندازه‌هایشان را دارند. توجه به اینکه نانوذرات از همان موادی ساخته می‌شوند که در ابعاد میکرون، چنین ویژگی‌های مغناطیسی و اپتیکی منحصر به فرد را نشان نمی‌دهند، مهم است (3).

اندازه‌ی کوچک، حلالیت مناسب و قابلیت چند عملکردی نانوذرات، مسیرهای تحقیقی جدید زیادی را برای زیست‌شناسان باز می‌کند. خصوصیات جدید نانوذرات، قابلیت میانکنش با عملکردهای زیستی پیچیده در مسیرهای عمل کننده در مقیاس بیومولکول‌ها را ارائه می‌کنند. نانوفناوری به جایگاهی به عنوان یکی از تلاش‌های تحقیقی مهم اوایل قرن بیست و یکم دست یافته است. همانطور که دانشمندان خصوصیات منحصر به فرد ساختار تجمعات مولکولی و اتمی در مقیاس نانومتر را به کار می‌گیرند. توانایی ما در ساختن خصوصیات فیزیکی و شیمیایی و زیستی این ذرات، قابلیت طراحی و استفاده از نانوذرات در دارورسانی، بعنوان عوامل کنتراست تصویر برای اهداف تشخیصی را فراهم می‌سازد. این قابلیت‌های بدست آمده، با پیشرفت‌هایی در تصویر برداری، بیوانفورماتیک و بیولوژی سیستم‌ها پیوند می‌یابد و امید بزرگی برای پاسخ به برخی از سوالات زیستی و ژنتیکی را در خود جای می‌دهد. نانوذره، ذره‌ای در ابعاد 1 تا 100 نانومتر است و

در پزشکی و کاربردهای دارویی به عنوان حامل دارو و عوامل تصویر برداری استفاده می‌شود (1). یک نانوذره حتی ممکن است شامل یک گزارشگر مثل یک مارکر آپوپتیک باشد که اثر درمانی مورد نظر را دارد (7).

نانوذرات راه‌های زیستی را برای دستیابی به توزیع بار به اهداف سلولی یا درون سلولی شامل عبور از سد خونی- مغزی را به کار می‌برند. ارزیابی نانوذرات در درمان سرطان، بیماری‌های سیستم عصب مرکزی، اختلالات عصبی و... به عنوان نمونه‌های توضیح دهنده‌ی مزیت آن‌ها مورد بحث هستند. عوامل دارویی زیادی، اهداف اولیه‌ی درون سلولی دارند که می‌توانند به طور ترجیحی به این سایت‌های درون سلولی توزیع شوند که احتمالاً مزایایی دارند. یک نانوذره‌ی درون سلولی می‌تواند به عنوان مخزن دارو درون سلول فعالیت کند. نانوفناوری ممکن است برای دستیابی به دوزهای درمانی از طریق درمان‌های هدفدار و آماده‌سازی یک مخفیگاه سلولی به منظور تولید ترکیبات درمانی توسط انتقال یا تجزیه به کار برده شود (9).

نانوذرات می‌توانند از مواد مختلفی تشکیل شوند مانند نانوذرات فلزی و سرامیکی. نانوذرات علاوه بر نوع فلزی، عایق‌ها و نیمه هادی‌ها و نانوذرات ترکیبی نظیر ساختارهای هسته‌لایه را نیز دربر می‌گیرند. نانوذرات در اندازه‌های پائین، ناخوشه به حساب می‌آیند. نانوبلورها و نقاط کوانتومی نیمه هادی نیز زیر مجموعه‌ی نانوذرات هستند. تعیین مشخصات نانوذرات برای کنترل سنتز و کاربرد آن‌ها ضروری است. خواص این ترکیبات با استفاده از روش‌های گوناگونی نظیر: میکروسکوپ‌های الکترونی، میکروسکوپ اتمی AFM، طیف سنجی فوتوالکترون، X-ray و FT-IR و همچنین روش‌های تعیین اندازه و سطح ویژه‌ی ذرات سنجیده می‌شود. نانوذرات در حال حاضر از طیف وسیعی از مواد ساخته می‌شوند (1).

3-1- توسعه‌ی نانو ساختارها برای کاربردهای دارو رسانی

روش‌های متداول برای مصرف دارو، بطور مثال مسیرهای دهانی و داخل وریدی، همیشه مؤثرترین مسیرها برای یک درمان دقیق نمی‌باشند. این روش‌های متداول درمانی با داروهای آزاد، برخی معایب مانند دسترسی زیستی پائین دارو در جایگاه هدف، عوارض جانبی سمی دارو روی بافت‌های سالم و تجزیه دارو در بدن قبل از رسیدن به جایگاه فعالیت مورد نظر را دارند (11). غلظت خونی یک دارو، که با یک روش متداول مصرف می‌شود، به سرعت پس از مصرف افزایش می‌یابد و سپس وقتی که متابولیزه می‌گردد کاهش می‌یابد و در نهایت اثر درمانی آن به پایان می‌-

رسد (11). نقطه‌ی کلیدی در مصرف دارو این است که غلظت خونی عامل زیست‌فعال^{۱۰} باید بین یک مقدار حداکثر (که سطح سمیت دارو را نشان می‌دهد) و یک مقدار حداقل (که نشان می‌دهد دارو مؤثر نیست) باشد و این محدوده‌ی غلظت اغلب به عنوان «محدوده‌ی درمانی» نسبت داده می‌شود. در سیستم‌های دارو رسانی کنترل شده‌ی طراحی شده برای مصرف طولانی مدت، سطح دارو در خون بین مقادیر حداکثر و حداقل به مدت طولانی ثابت باقی می‌ماند. عوامل زیست‌فعال (مانند داروها، پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک) که از طریق مسیرهای دهانی یا داخل وریدی استفاده می‌شوند، می‌توانند بوسیله‌ی متابولیسم بعلاوه‌ی شرایط اسیدی و آنزیمی تخریب‌کننده‌ی موجود در مسیر معدی-روده‌ای در بدن تجزیه شوند. مدت زمان چرخش این مولکول‌ها در بدن را می‌توان از طریق به دام انداختن آن‌ها در داخل مواد مناسب با وزن مولکولی بالا افزایش داد. معمولترین موادی که برای این منظور به کار می‌روند «پلیمرها» هستند. داروهای هیدروفوب در خون حل نمی‌شوند و به هدف خود نمی‌رسند و این امر اثربخشی داروئی آن‌ها را کاهش می‌دهد. این داروها می‌توانند به طور بسیار مؤثری توسط کپسوله شدن درون حامل‌های داروئی هیدروفیل توزیع گردند (11). سیستم‌های دارو رسانی برای اطمینان از توزیع دارو به روشی که در آن، بخش اعظمی از دارو با بافت هدف در سطح سلولی و تحت‌سلولی با توجه به کینتیک‌های مورد نظر برای مدت طولانی میانکنش می‌دهد، طراحی می‌شوند. بنابراین مسائل مربوط به مصرف داروهای آزاد مانند حلالیت محدود، توزیع زیستی ضعیف، فقدان انتخاب‌پذیری، کینتیک‌های دارویی نامناسب و آسیب بافت سالم می‌توانند با استفاده از سیستم‌های دارو رسانی، مورد غلبه قرار گیرند یا بهبود یابند. سیستم‌های توزیع دارو برای آماده‌سازی روش‌هایی برای هدفدار کردن و رهاسازی مقادیر دلخواه ترکیبات درمانی در مناطق شناسایی شده در بدن طراحی می‌شوند. در پدیده‌ی توزیع، داروی مورد نظر در شکل‌های مختلف مانند نانو و میکرو ساختارها یا ایمپلنت‌های دارویی در مقیاس ماکرو کپسوله می‌شود که به رهاسازی کنترل شده‌ی دارو می‌انجامد. این امر اثربخشی درمانی داروها را افزایش و عوارض جانبی آن‌ها را کاهش می‌دهد. نوعی از سیستم‌های توزیع برای اتصال و رهاسازی داروها از مولکول‌های کوچک تا قطعات بزرگ DNA و پروتئین‌ها توسعه یافته‌اند (11).

مزیت اصلی سیستم‌های دارو رسانی، توانایی آن‌ها برای تغییر کینتیک‌های داروئی و توزیع زیستی دارو در بدن است. سرعت رهاسازی دارو از حامل، اثر درمانی آن را تعیین می‌کند. سرعت

رها سازی دارو از یک حامل دارویی توسط خصوصیات ماده‌ی حامل، خصوصیات داروی استفاده شده و نوع سیستم حامل دارو کنترل می‌شود. سرعت رها سازی همچنین می‌تواند بسته به نوع ابزار توزیع استفاده شده، توسط محرک‌های داخلی مانند pH، جاذبه‌ی یونی، دما، مغناطیس و ماوراءصوت کنترل شود. مکانیسم رها سازی دارو می‌تواند (1) انتشار دارو از حامل (2) تجزیه‌ی زیستی ماده‌ی کپسوله کننده (3) متورم کردن حامل کپسوله کننده به دنبال انتشار دارو (4) ترکیب مکانیسم‌های فوق‌الذکر (1 تا 3) باشد (11).

از طریق هدفدار کردن مناسب، داروها می‌توانند بطور انتخابی به جایگاه هدف در دوزهای مورد نیاز، بدون اثر بر بافت‌ها و اندام‌های سالم توزیع یابند. توزیع زیستی داروها می‌تواند به صورت اولیه توسط دو مکانیسم هدفدار کردن فعال و غیر فعال بهبود یابد. تمایل طبیعی سیستم‌های دارو رسانی اختصاصی برای قرار گیری در سیستم فاگوسیت تک هسته‌ای^{۱۱} (MPS) مخصوصاً در ماکروفاژهای کبد و طحال و اثر ابقاء و نفوذپذیری افزایش یافته‌ی^{۱۲} (EPR) (11 و 16) مشاهده شده در تومورهای جامد مثال‌هایی از هدفدار کردن غیرفعال هستند. در هدفدار کردن فعال یا هدفدار کردن بواسطه‌ی لیگاند، فعالیت‌های ویژه‌ی جایگاه سیستم‌های دارو رسانی از طریق ترکیب آن‌ها با لیگاندهای نشاندار شده علیه آنتی‌ژن‌های سطح سلول یا رسپتورها بدست می‌آیند. داروها با آنتی‌بادی‌ها یا لیگاندهای دارای اختصاصیت برای نوع سلول مورد نظر ترکیب می‌شوند. برای مثال در انواع سرطان‌ها شامل سرطان کبد، کلیه و سینه برای بیان زیاد رسپتورهای اسید فولیک گزارش شده‌اند (11). بنابراین سیستم‌های دارو رسانی می‌توانند برای اتصال اسید فولیک تغییر یابند که منجر به تجمع بیشتر دارو درون سلول‌های سرطانی نسبت به سلول‌های سالم می‌شود. بنابراین دارو رسانی هدفدار امیدی برای درمان بیماری‌های مختلف می‌باشد (11).

ظهور نانوفناوری انقلابی را در بخش دارو رسانی آغاز کرده است. در دنیای نانو، ابعادی در محدوده‌ی 0/1 تا 100 نانومتر نقش بسیار حیاتی را ایفا می‌کنند و آگاهی از مواد و مکانیسم‌ها در مقیاس نانو ممکن است بهینه سازی سیستم‌های دارو رسانی را تسریع کند. نانو و میکرو حامل‌ها و ویژگی‌های منحصر به فرد ناشی از آن‌ها یک شکاف اختصاصی را در تکنولوژی دارو رسانی اشغال

می‌کنند. بنابراین، این امر که «چه چیزی این سیستم‌های توزیع در مقیاس نانو را منحصربه‌فرد می‌سازد؟» مناسب برای بحث می‌باشد (11).

1-3-1- نانو سیستم‌ها برای دارو رسانی

سال‌هاست که سیستم‌های دارو رسانی اثر شگرفی روی تکنولوژی پزشکی، پیشرفت عملکرد بسیاری از داروها و توانایی استفاده از درمان‌های جدید را داشته است. سیستم‌های توزیع می‌توانند در محدوده‌ی اندازه، از ماکرو (1mm) تا میکرو تا نانو مقیاس متفاوت باشند. نانو سیستم‌ها نوعی از مزایا را در مقایسه با سیستم‌های توزیع میکرو و مقیاس بزرگ ارائه می‌کنند. نانو ساختارها به راحتی می‌توانند توسط سلول‌های مختلف در بدن بلعیده شوند (اندوسیتوز)، و بنابراین مزیت عبور سریع از غشاء سلول را اعطاء کنند. میانگین قطر سلول‌های انسان 10 تا 20 میکرومتر و اندازه اندامک‌های داخل سلولی تقریباً 100 نانومتر است. ابزارها در مقیاس نانو مزیت مهمی را ارائه می‌کنند، یعنی آن‌ها می‌توانند به سرعت با مولکول‌های زیستی روی سطح سلول و درون سلول‌ها بدون داشتن اثر سوء روی عملکرد و ویژگی‌های بیوشیمیایی آن مولکول‌ها، میانکنش دهند. ویژگی‌های آناتومی مانند سد خونی-مغزی^{۱۳} مسیرهای منشعب سیستم ریوی و اتصالات محکم اپی تلیالی پوست، دستیابی به بسیاری از اهداف فیزیولوژیکی مورد نظر برای حامل‌های بزرگ را دشوار می‌سازد.

نانوحامل‌ها به دلیل اندازه‌ی تحت سلولی می‌توانند از طریق fenestration^{۱۴} مویرگ‌های خونی نفوذ کنند، درون فضای بین بافتی تجمع یابند و توسط سلول‌ها از طریق اندوسیتوز برداشته شوند. بنابراین حاملین دارویی در مقیاس نانو به غلبه بر سدهای تحمیل شده توسط ویژگی‌های آناتومیکی بدن انسان، به منظور امکان توزیع مؤثر مولکول‌های دارویی به سلول‌ها و بافت‌های بیمار غیرقابل دسترس، کمک می‌کنند. طیف وسیعی از مولکول‌های درمانی مانند داروهای هیدروفوبیک و هیدروفیلیک، پپتیدها، اسیدهای نوکلئیک، DNA، واکسن‌ها و سایر ماکرومولکول‌های زیستی می‌توانند با استفاده از نانوحامل‌ها توزیع یابند. حامل‌ها در مقیاس نانو مشابه معادل‌های ماکروشان می‌توانند از مسیرهای دهانی، داخل وریدی، پوستی، بینی، داخل تومور و مسیر چشمی مورد استفاده قرار گیرند (11).

1-4- ابزارهای دارو رسانی در مقیاس نانو

1. Blood-Brain Barrier
1. Fenestration

ابزارهای دارو رسانی در مقیاس نانو شامل موارد زیر می باشد:

نانوذرات (نانوذرات پلیمری، نانوذرات آهن و...)، نانوفیبرها، دندیرمها، نانولوله‌ها، فولرین‌ها، نانوزل-ها، نانوکریستال‌ها، وکتورهای ویروسی و ذرات شبه ویروسی (11).

در اینجا به بررسی نانوذرات پلیمری می پردازیم.

5-1- نانوذرات پلیمری

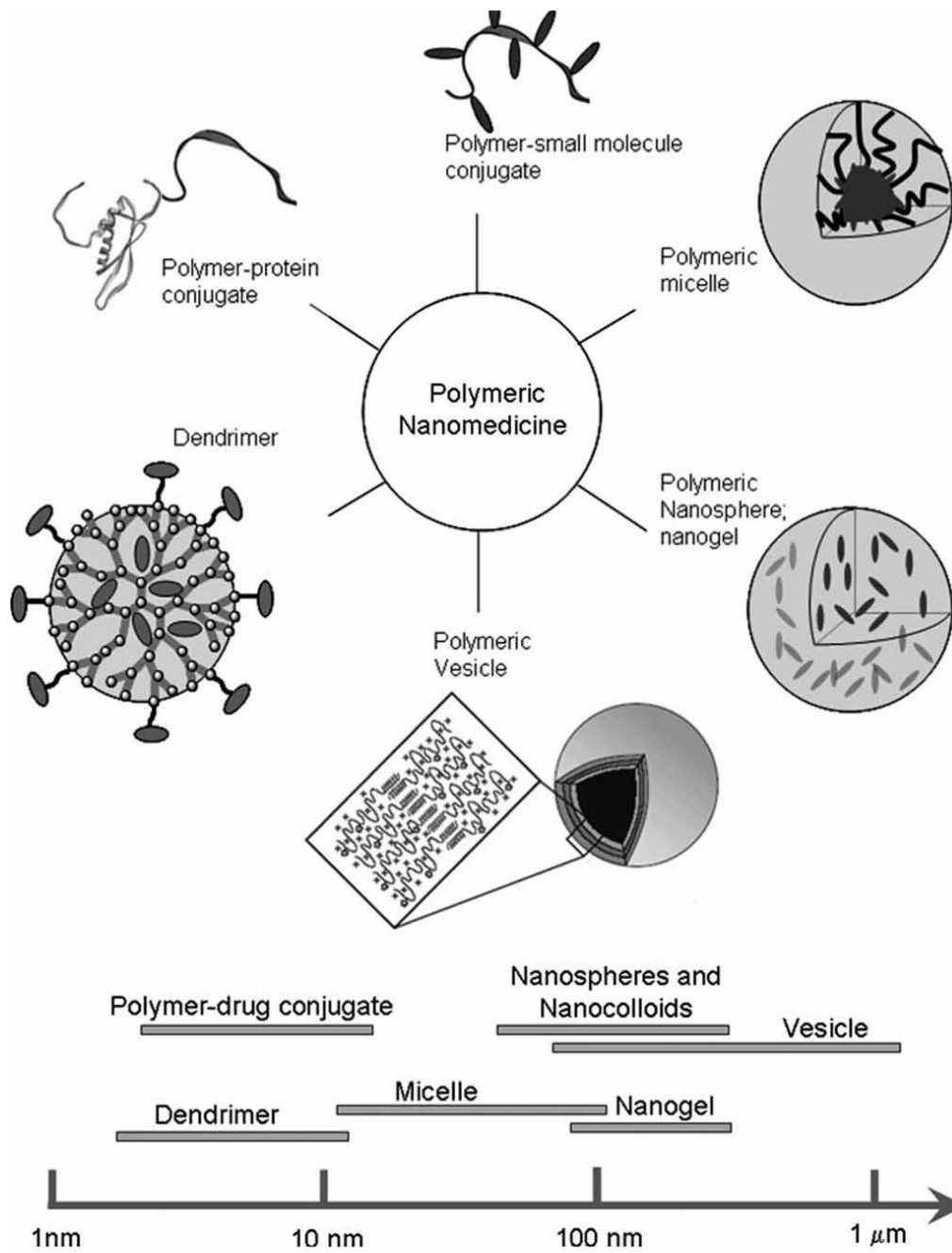
نانوذرات پلیمری توجه شگرفی را در جهان به خاطر توانائیشان در سیستم‌های دارو رسانی کنترل شده و هدفدار شده به خود جلب کرده‌اند (شکل 1-4). نانوذرات به طور معمول از سیلیکا، کربن و فلزاتی مانند طلا، پلاتینیوم و پلیمرها ساخته می‌شوند. از میان این‌ها، نانوذرات پلیمری امیدوارکننده‌ترین حاملین دارویی به خاطر ویژگی‌های ساختاری و عملکردیشان هستند. پلیمرها انعطاف‌پذیری بالایی را در روش تهیه و نوع عوامل زیست‌فعال که می‌توانند کپسوله شوند، ارائه می‌دهند. استفاده از مواد پلیمری متعدد به عنوان حاملین دارویی مناسب، ناشی از زیست‌سازگاری^{۱۵}، تجزیه‌ی زیستی^{۱۶}، جذب زیستی^{۱۷} و توانائی آن‌ها برای کاربردی بودن است. کپسوله شدن یک دارو درون یک حامل پلیمری، امکان کنترل بیشتر کینتیک‌های داروئی مولکول دارو را فراهم می‌کند. قابل دسترس بودن انواع پلیمرها و توانائی تغییر کینتیک‌های رهاسازی دارو، نانوذرات پلیمری را کاندیدهای قوی برای طیف وسیعی از کاربردهای درمانی ساخته است. شمار زیادی از پلیمرهای سنتتیک مانند پلی لاکتیک اسید (PLA)، پلی گلایکولیک اسید (PGA) و کوپلیمرهای آن‌ها پلی لاکتید کوگلیکولید (PLGA)، پلی آکریلات‌ها، پلی کاپرولاکتون (PCL)، و پلی اتیلن اکسید (PEO) و پلیمرهای طبیعی مانند آلبومین، ژلاتین، آلژینات، کلاژن و کیتوزان در فرمولاسیون نانوذرات حاوی دارو مورد بهره‌برداری قرار گرفته‌اند (11).

1-5-1- سنتز نانوذرات پلیمری

-
1. Biocompatibility
 2. Biodegradability
 3. Bioresorbabilty

روش‌های متعددی برای تهیه‌ی نانوذرات پلیمری مورد استفاده قرار گرفته است. روش‌های امولسیون به کار رفته شده شامل روش امولسیون منفرد^{۱۸} روش امولسیون مضاعف^{۱۹} و روش emulsification-solvent diffusion می‌باشد. روش‌های متعدد دیگر مانند خود-تجمعی^{۲۰} کوپلیمرها برای میسل‌های پلیمری، spray drying و salting out نیز برای سنتز نانوذرات مورد استفاده در کاربردهای دارو رسانی، گزارش شده‌اند. نانوذرات پلیمری همچنین می‌توانند با استفاده از پلیمریزاسیون مونومرها ساخته شوند. معمولترین روش، پلیمریزاسیون امولسیون است، نانوذرات ساخته شده با این روش بطور یکسان در فاز آبی پخش می‌شوند و توسط مولکول‌های امولسیون کننده، تثبیت می‌گردند. روش انتخابی برای فرمولاسیون نانوذرات لود شده با دارو، به بسیاری از فاکتورها مانند نوع پلیمر، نوع دارو، میانکنش بین دارو و پلیمر بستگی دارد (11).

-
4. Oil-in-water
 5. Water-in-oil-in-water
 6. Self assembly



شکل 1-4. تصویر شماتیکی از سیستم‌های دارو رسانی نانوذرات پلیمریک.

2-5-1- ساختار و ویژگی

مهمترین ویژگی‌های نانوذرات که عملکرد نهایی آن‌ها را به عنوان سیستم دارو رسانی تحت تأثیر قرار می‌دهند اندازه‌ی ذره، اثربخشی کپسوله کردن و پتانسیل زتا^{۱۱} هستند (11).

1. Zeta potential

3-5-1- اندازه و شکل

اندازه‌ی نانوذرات برای استفاده‌ی موفق به عنوان وسیله‌ی دارو رسانی بسیار مهم می‌باشد. اندازه‌ی کوچکتر برای انحلال سریعتر در خون یا حرکت شریانی مورد نیاز است. ذرات بزرگتر برای انحلال طولانی مدت یا نشاندار کردن MPS ترجیح داده می‌شوند. فاکتورهایی که اندازه‌ی نانوذرات را تحت تاثیر قرار می‌هند غلظت پلیمر، وزن مولکولی و غلظت سورفاکتانت هستند. شکل نانوذره نقش بسیار مهمی را در مکانیسم رهاسازی دارو دارد. مکانیسم رهاسازی دارو می‌تواند تجزیه، انتشار، یا ترکیبی از هر دو باشد. برای ذراتی با ساختار فشرده رهاسازی دارو توسط تجزیه‌ی ماتریکس پلیمر کنترل می‌شود درحالی‌که برای ذراتی که منفذ و کانال دارند رهاسازی در اصل وابسته به انتشار دارو است (11).

4-5-1- کپسوله کردن دارو^{۲۲}

اثربخشی لودکردن دارو به میزان زیادی به روش آماده‌سازی، خصوصیات فیزیکوشیمیایی دارو، ماهیت پلیمر و سورفاکتانت استفاده شده و میانگینش بین پلیمر، دارو و سورفاکتانت بستگی دارد. دارو می‌تواند به دو روش اولیه‌ی (1) اتصال در حین تهیه‌ی ذرات یا (2) انکوباسیون/جذب پس از تشکیل ذرات، در نانوذرات قرارگیرد. در روش اول دارو بصورت شیمیایی به ماتریکس پلیمر متصل می‌شود یا بصورت فیزیکی درون ماتریکس پلیمر به دام می‌افتد، درحالی‌که روش آخر شامل جذب فیزیکی دارو روی سطح نانوذره است. میزان داروی کپسوله شده، زمانیکه قرارگیری دارو در طی تشکیل ذرات صورت گیرد، بیشتر است، با این حال در این روش ممکن است که پایداری دارو توسط پارامترهایی مانند روش تهیه و حضور افزودنی‌ها تحت تاثیر قرار گیرد (11).

5-5-1- پتانسیل زتا

از دیگر خصوصیات مهم نانوذرات پلیمری پتانسیل زتا است. پتانسیل زتا شاخصی برای پایداری ذرات را نشان می‌دهد. ذراتی با پتانسیل زتای مثبت‌تر از $+30\text{mV}$ یا منفی‌تر از -30mV پایداری نرمالی دارند (11 و 63). در مورد ذرات باردار، وقتی که پتانسیل زتا افزایش می‌یابد، میانگینش‌های دافعه که منجر به تشکیل ذرات پایدارتر با توزیع اندازه‌ی یکنواخت‌تر می‌شوند، بزرگتر خواهند بود.

این پایداری در جلوگیری از تراکم بسیار مهم است. تغییر سطح، متداول‌ترین روش استفاده شده برای کنترل پتانسیل زتای نانوذرات و بنابراین بهینه سازی پایداری آنها است (11).

6-1- کاربردهای نانوذرات برای دارو رسانی

نانوذرات به طور گسترده برای کاربردهای دارویی و توزیع ژن مورد بررسی قرار گرفته‌اند. رهاسازی دارو از نانوذرات، در نهایت اثربخشی درمانی حامل را تعیین می‌کند. ویژگی‌های رهاسازی نانوحامل‌ها می‌توانند با استفاده از خصوصیات دارو و پلیمر و شرایط خارجی مانند pH، دما و میدان مغناطیسی تغییر یابند. برخی کاربردهای مهم نانوذرات برای اهداف درمانی در اینجا مورد بحث قرار می‌گیرند (11).

1-6-1- شیمی درمانی سرطان

شیمی درمانی در سرطان اغلب توسط سمیت داروهای ضدسرطانی مورد استفاده، محدود می‌شود. این امر ناشی از قرارگیری سلول‌های سرطانی هدف و سلول‌های نرمال بطور غیر انتخابی در معرض دارو می‌باشد که می‌تواند منجر به عوارض جانبی سمی ناخواسته شود. نانوذرات پلیمری به عنوان حاملین دارویی، در یک تلاش برای افزایش اثربخشی درمانی و برای کاهش سمیت ناخواسته‌ی داروهای ضد سرطانی مورد بررسی قرار گرفته‌اند. دو روش که برای نشاندار کردن سلول‌های سرطانی بطور گسترده گزارش شده‌اند نشاندار کردن غیرفعال و فعال می‌باشند. یکی از روش‌های نشاندار کردن فعال با استفاده از نانوذرات مخفی^{۲۳} می‌باشد که برای جلوگیری از پدیده‌ی اپسونیزاسیون و شناسایی توسط ماکروفاژها توسعه یافته‌اند. این امر توسط تغییر سطح این نانوذرات قابل دستیابی می‌باشد. پوشش هیدروفیلیک از اتصال پروتئینی، فعالیت کمپلمان، و جذب ترجیحی سیستم رتیکولاندوتلیال از طریق مکانیسم دافعه‌ی استری جلوگیری می‌کند. دو پلیمر که بصورت گسترده‌تری برای پوشش نانوذرات به منظور افزایش مدت زمان گردش آن‌ها در خون و تجمع در تومورها پس از توزیع سیستمیک مورد استفاده قرار می‌گیرند PEG و PEO هستند (11).

2-6-1- دارو رسانی به مغز

BBB یک سد غیرقابل عبور برای شمار زیادی از داروها شامل آنتی‌بادی‌ها، عوامل ضد سرطانی و داروهایی که روی سیستم عصبی مرکزی عمل می‌کنند، می‌باشد. این سد در سطح سلول‌های اندوتلیال مویرگ‌های مغزی تشکیل می‌شود و سطح بزرگی را بین خون و مغز را شامل می‌شود. سلول‌های اندوتلیال عروق خونی مغز با داشتن اتصالات محکم بینشان و بنابراین حذف هر مسیر پاراسلولی بین این سلول‌ها، شناسایی می‌شوند. حضور اتصالات محکم و فقدان مسیرهای بین سلولی بطور قابل توجهی حرکت محلول‌های قطبی از اندوتلیوم مغزی را محدود می‌کند. انتشار داروها از خون به درون مغز به توانائی زیستی مولکول فعال برای عبور از غشاء لیپیدی بستگی دارد. نانوذرات پلیمری می‌توانند در تعدادی از روش‌ها برای توزیع مؤثر داروها به مغز و سیستم عصبی مرکزی سودمند باشند. ماتریکس جامد حامل‌های پلیمری، داروهای متصل شده را در برابر تجزیه حفاظت می‌کند و بنابراین شانس رسیدن دارو به مغز را افزایش می‌دهد. بعلاوه حامل‌ها می‌توانند توزیع داروها به مغز را هدفدار کنند و این توزیع هدفدار شده می‌تواند کنترل شود. مطالعات متعددی، استفاده از نانوذرات برای دارو رسانی هدفدار شده به مغز را گزارش کرده‌اند. مولکول‌های متعددی مانند لسیتین، پلی سوربات-80، آپولیپوپروتئین E، ترانسفرین و پپتیدها به عنوان عوامل فعال برای هدفدار کردن غشاءهای سلول اندوتلیال مویرگ‌های مغزی و تسهیل انتقال دارو از BBB استفاده شده‌اند. به نظر می‌رسد مکانیسم انتقال دارو از BBB با واسطه‌ی نانوذرات، از طریق اندوسیتوز توسط سلول‌های اندوتلیال موجود در مویرگ‌های خونی مغز انجام می‌گیرد (11).

3-6-1- توزیع ژن

برای توزیع مؤثر ژن، DNA پلاسمید باید به درون سلول‌های هدف وارد شود، رونویسی شود و اطلاعات ژنتیکی در نهایت به پروتئین مربوطه ترجمه شود. دو نوع اصلی وکتورها که در ژن درمانی استفاده می‌شوند، بر اساس سیستم‌های ویروسی و غیر ویروسی هستند. سیستم ویروسی توزیع ژن، بازدهی بالای انتقال را نشان می‌دهد، ولی معایب زیادی مانند توانائی سرطان‌زایی و ایمنی‌زایی را دارد. سیستم‌های توزیع غیر ویروسی به دلیل مزایایی مانند راحتی سنتز، نشاندار کردن سلول و بافت، پاسخ ایمنی پائین و اندازه‌ی پلاسمید نامحدود، به عنوان جایگزینی برای وکتورهای ویروسی پیشنهاد شده‌اند.

پلیمرهای کاتیونی به عنوان حاملین مؤثر از میان سیستم‌های غیر ویروسی توزیع ژن گزارش شده‌اند. کمپلکس‌های پلی کاتیون-DNA بسیار پایدار هستند و تعدادی از پلیمرهای کاتیونی به

عنوان حاملین ژن مورد بررسی قرار گرفته‌اند. کیتوزان و پلی اتیلن ایمید (PEI) بطور گسترده‌ای برای ساخت نانوذرات (مورد استفاده برای کپسوله کردن DNA)، و بنابراین به عنوان یک ابزار توزیع ژن، استفاده شده‌اند. این پلیمرها به دلیل ماهیت پلی‌الکترولیت کاتیونی، با DNA دارای بار منفی بطور یونی میانکنش داده و کمپلکس‌های پلی‌الکترولیت تشکیل می‌دهند. در این کمپلکس‌ها DNA در برابر تجزیه‌ی نوکلئازی بهتر محافظت می‌شود. ساختار شیمیایی پلی‌کاتیون‌ها، اندازه و ترکیب کمپلکس‌ها، لیگاندهای استفاده شده به عنوان عوامل نشاندار کننده، دوز پلاسمید و pH محیط انتقال، مناسب بودن نانوذرات پلیمری برای توزیع مناسب و موثر ژن را تعیین می‌کنند (11).

7-1-1- کوپلیمرهای قطعه‌ای^{۲۴}

در سالهای اخیر کوپلی مرهای قطعه ای دوگانه دوست^{۲۵} متشکل از قسمتهای آبدوست و آبگریز بخاطر رفتارهای فازی منحصر به فرد در محیطهای آبی و کاربردهای بالقوه بعنوان سامانه های داروسازی توجه خیلی زیادی را به خود معطوف نموده اند. نانوذرات نوع هسته-پوسته ای^{۲۶} یا میسلهای پلیمری در محیطهای آبی از طریق خودسامانی کوپلیمرهای دوگانه دوست تشکیل می-گردند (12).

حامل های دارورسانی با ابعاد نانو می توانند داروهای ضد سرطان کم محلول در آب را در خود حل نموده و زمان گردش در خون را افزایش دهند. نانو ذرات بارگیری شده توسط دارو همچنین می توانند بطور غیر فعال داروها را به جایگاههای ویژه بطور هدفمند انتقال داده و اثرات جانبی را کاهش دهند. بعلت زیست سازگاری و آبدوستی بهتر پلی اتیلن گلیکول، کوپلی مرهای قطعه ای AB یا ABA حاوی PEG (بعنوان قطعه آبدوست) بطور وسیعی مورد مطالعه قرار گرفته است (13).

7-1-1- کوپلیمرهای دوگانه دوست

کوپلیمرهای دوگانه دوست به علت دارا بودن قسمت های آبدوست و آبگریز بطور همزمان در ساختار مولکولی خود قابلیت حل شدن در حلال های متفاوت را دارند و درطیف وسیعی از حلال ها از نظر قطبیت حل می شوند و بسته به نوع حلال و نوع کوپلیمر ساختارهای متفاوتی را در محلول ایجاد می کنند.

-
1. Block copolymers
 2. Amphiphilic block copolymers
 3. Core-shell type nanoparticles

کوپلیمرهای دوگانه دوست به عنوان مواد فعال سطحی غیر یونی عمل می نمایند و مانند مواد فعال سطحی سنتی (مواد فعال سطحی یونی با جرم مولکولی پایین) غلظت بحرانی تشکیل میسل برای آنها تعریف می شود. همچنین دارای عملکرد مشابه از نظر پراکنده کردن، کلوئید کردن یا تهیه امولسیون ها و امولسیون های دوگانه می باشد و بسته به نوع کوپلیمر و طراحی آن و منومرهایی که در آنها استفاده می شود کاربرد های ویژه ای برای آنها ذکر شده است که در قسمت های آتی به برخی از آنها می پردازیم (14).

1-1-7-1-1- انواع کوپلیمرها

انواع اصلی کوپلیمرهای دوگانه دوست عبارتند از:

1- کوپلیمرهای قطعه ی

2- کوپلیمرهای شانه مانند (کوپلیمرهای پیوندی)

3- کوپلیمرهای ستاره ای

1-1-7-1-1-1- کوپلیمرهای قطعه ای

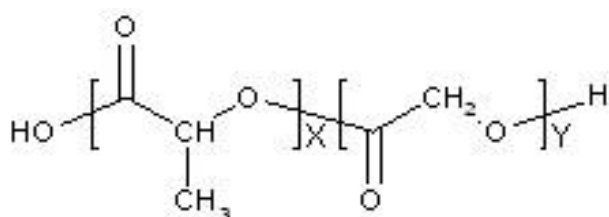
کوپلیمرهای قطعه ای به پنج دسته تقسیم می شوند AB قطعه ها، ABA قطعه ها و BAB قطعه ها که در آن A نشان دهنده ی قطعه ی آبدوست و B نشان دهنده ی قطعه ی آبگریز است. نوع چهارم سه قطعه ای های ABC هستند که از سه قطعه با جنس متفاوت تشکیل شده است و کمتر متداول است و نوع پنجم AB قطعه های متناوب هستند (15).

8-1- پلی لاکتیک کو گلایکولیک اسید (PLGA)

پلیمرهای مورد استفاده در سیستم های میکرو و نانوذرات به دلیل ماهیت غیر قابل بازیافتشان، باید قابل تجزیه ی زیستی (biodegradable) یا زیست سازگار (biocompatible) باشند. انواعی از پلیمرهای طبیعی و سنتزی قابل تجزیه ی زیستی وجود دارند که می توانند برای ساخت نانوذرات و میکروذرات به منظور توزیع پروتئین به کار روند.

از میان این پلیمرها (PLGA) poly(lactic-co-glycolic acid) (شکل 1-5) رایج ترین پلیمر قابل تجزیه ی زیستی است. PLGA توسط سازمان غذا و داروی آمریکا^{۲۷} (FDA)، برای دارو رسانی مورد تأیید قرار گرفته است. نانوذرات پلیمری مشتق شده از PLGA و کوپلیمرهای وابسته به آن، برای

رهنش کنترل شده و هدفدار دارو طراحی شده‌اند. همچنین PLGA و کوپلیمرهای آن، برای طراحی نانوذراتی با ویژگی‌های دلخواه، مانند زیست‌سازگاری، تجزیه‌ی زیستی، اندازه‌ی ذره، ویژگی‌های سطح، رهاسازی آهسته و هدفمند دارو، می‌توان طراحی کرد. PLGA از L-poly lactide (L-PLA) و poly glycolide (PGA) تهیه می‌شود که L-PLA به صورت کریستالین و PGA در حالت طبیعی بی‌شکل است. بنابراین PLGA با مقدار بیش از 70 درصد PGA، به صورت بی‌شکل می‌باشد. درجه‌ی کریستالی شدن و نقطه‌ی ذوب پلیمر، به طور مستقیم به وزن مولکولی پلیمر بستگی دارد. خصوصیات فیزیکی، مانند وزن مولکولی، توانایی پلیمر برای فرموله شدن به عنوان وسیله‌ی رهش دارو و همچنین سرعت تجزیه و هیدرولیز پلیمر را تحت تأثیر قرار می‌دهد (16).

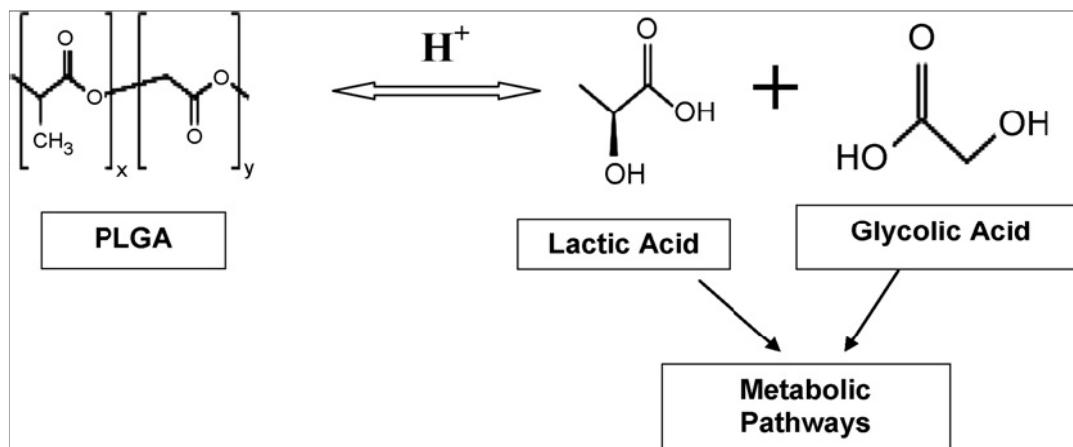


x - Number of units of Lactic Acid
y - Number of units of Glycolic Acid

شکل 1-5. ساختار شیمیایی PLGA

کاتالیست‌های رایج مورد استفاده در تهیه‌ی این کوپلیمر شامل: aluminum isopropoxide، 2-ethylhexanoate، tin(II) alkoxides tin(II) پلیمریزاسیون واحدهای مونومری (لاکتیک اسید یا گلیکولیک اسید) در PLGA با پیوند استری به هم متصل می‌شوند و بنابراین یک محصول پلی‌استر آلیفاتیک را به دست می‌دهند (17). این پلیمر به دلیل هیدرولیز آن در بدن به مونومرهای سازنده‌اش یعنی گلیکولیک اسید و لاکتیک اسید (شکل 1-6)، از موفق‌ترین پلیمرهای قابل تجزیه‌ی زیستی برای توسعه‌ی نانوحامل‌های دارویی است (18). پروتئین‌ها و پپتیدها به دلیل ماهیت هیدروفوبیک و اسیدی PLGA، در آن ناپایدار

هستند. مشکل دیگر رهاسازی سریع داروهای پروتئینی از ماتریکس PLGA است. برای فائق آمدن بر این مسائل، روش‌های متعددی برای تغییر خصوصیات PLGA مورد بررسی قرار گرفته‌اند. یکی از روش‌های مهم برای این منظور پگیله کردن PLGA می‌باشد (19).

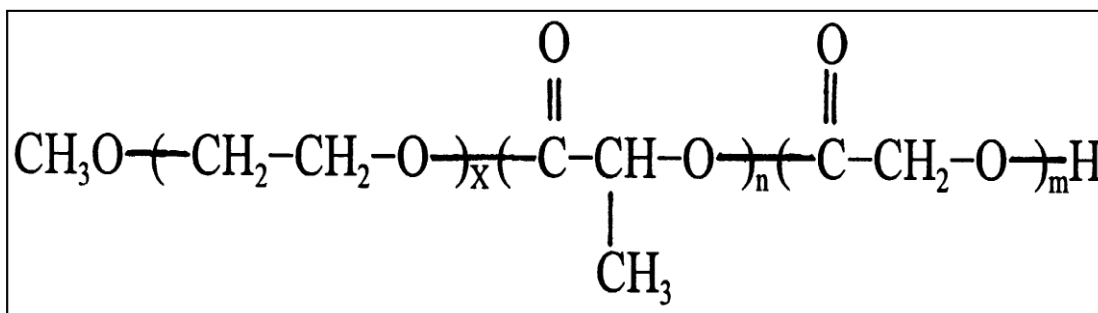


شکل 1-6. هیدرولیز نانوذرات PLGA: نانوذرات PLGA در محیط اسیدی به گلیکولیک و لاکتیک اسید هیدرولیز می‌شود. این محصولات هیدرولیز در چرخه‌ی TCA متابولیزه می‌شوند.

9-1- نانوذرات PEG-PLGA به عنوان حاملین پروتئین

خصوصیات فیزیکوشیمیایی و زیستی داروهای پپتیدی و پروتئینی (PPD) مانند اندازه‌ی مولکول، نیمه عمر زیستی، پایداری کنفورماسیون، پایداری فیزیکوشیمیایی، حلالیت، دوز مورد نیاز، روش‌های مصرف و غیره، با دیگر داروهای متداول، متفاوت است. بنابراین طراحی و ساخت سیستم‌های توزیع داروهای پپتیدی و پروتئینی مورد بحث می‌باشد. تا کنون برخی سیستم‌های دارو رسانی کلوئیدی متداول مانند لیپوزوم‌ها و نانوذرات، برای PPD مورد آزمایش قرار گرفته‌اند. در چند سال گذشته، افزایش قابل توجهی برای توسعه‌ی نانوذرات مخفی (stealth) به عنوان سیستم‌های حامل دارو وجود داشته است. یکی از روش‌های مهم برای تهیه‌ی نانوذرات مخفی یا نانوذرات با مدت زمان گردش طولانی، تغییر سطح آنها با استفاده از یک پلیمر هیدروفیل، انعطاف‌پذیر و غیر یونی یعنی پلی‌اتیلن گلیکول (PEG) است. نانوذرات پوشیده با PEG به عنوان سیستم‌های کلوئیدال قابل تزریق برای رهاسازی کنترل شده‌ی داروها و توزیع دارو به جایگاه اختصاصی، یافت شده‌اند. نانوذرات

مخفی در مقایسه با سایر سیستم‌هایی با گردش طولانی مدت، توانایی بهتری را در رها سازی ترکیبات کپسوله شده نشان می‌دهند. اخیراً PLGA پگیله شده (PEG-PLGA) (شکل 1-7) به عنوان حاملین داروهای هیدروفوبیک و هیدروفیلیک گزارش شده است (20).



شکل 1-7. ساختار کوپلیمر PEG-PLGA

10-1- بیوسورفاکتانت‌ها^{۲۸}

بسیاری از مولکول‌های زیستی که دوگانه‌دوست (آمفی فیلیک) هستند و ویژگی‌های سطحی و امولسیون‌کنندگی بالایی از خود نشان می‌دهند، به عنوان «بیوسورفاکتانت‌ها» طبقه‌بندی می‌شوند (21).

بیوسورفاکتانت‌ها انواع مختلفی از ساختارهای شیمیایی مانند گلیکولیپیدها، لیپوپروتئین‌ها، کمپلکس‌های پلی‌ساکارید-پروتئین، فسفولیپیدها، اسیدهای چرب و لیپیدهای طبیعی را شامل می‌شوند (21 و 22). بنابراین خصوصیات و عملکردهای فیزیولوژیکی مختلف برای خانواده‌های مختلف بیوسورفاکتانت‌ها قابل انتظار است (22). خصوصیات فیزی