


Mahdi Goudarzvand¹, Zahra Ataie^{2,3*} 

¹ Department of Physiology and Pharmacology, Faculty of Medicine, Alborz University of Medical Sciences, Karaj, Iran

² Department of Pharmaceutics, Faculty of Pharmacy, Alborz University of Medical Sciences, Karaj, Iran

³ Evidence-based Phytotherapy & Complementary Medicine Research Center, Alborz University of Medical Sciences, Karaj, Iran

Nano Drug Delivery Systems and Liposomes

Received: 3 June 2017; Accepted: 23 Oct. 2017

Abstract

Progressive development of nanotechnology during the last decades and its increasing involvement in new fields represents its great importance in science and technology. One of its major parts is nanomedicine that is focused in this review. First general principles of medicinal nanotechnology, its history, application and classification are explained. Then Abraxane (a protein conjugated nano drug) design will be addressed. Liposomes as one of the best nano drug delivery systems with a platform for passive targeting are discussed next. Two examples of approved liposomal nanomedicines are described from the state-of-the-art design emphasizing physiologic barriers and formulation strategies to overcome these imposed limitations. Passive targeting to tumors is provided by "Enhanced Permeation and Retention" effect (EPR). Liposomes can be removed from circulation by the mononuclear phagocyte system (MPS) clearance in no time. This effect is also used to passively target liposomes in MPS to treat localized infections for example. Pegylation of liposomes which means attachment of polyethylene glycol chains to the surface of liposomes is one of the methods used to enhance liposome residence time in blood circulation in order to give the vesicles more chance to accumulate at the target site by EPR effect.

Liposomal medicines have shown significant decrease in toxicity in comparison with free drugs. Their accumulation in target tissue by passive targeting is the main reason for reduction in drug toxicity.

Liposomes are being used for treating different diseases such as infection, hepatitis, cardiovascular diseases and immune system disorders. However, the vast majority of investigational liposomes are anticancer drugs.

Keywords: Nanotechnology, Passive Targeting, Nanoparticle, Liposome, Cancer

*Corresponding Author:

Department of Pharmaceutics,
Faculty of Pharmacy, Alborz
University of Medical Sciences,
Karaj, Iran

Tel: 026 - 32567175
E-mail: zahraataie16@gmail.com

نانوسامانه‌های دارویی و لیپوزوم‌ها

مهدی گودرزوند، زهرا عطائی^{۱،۲} ID

^۱گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی البرز، کرج، ایران
^۲گروه فارماسیوتیکس، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی البرز، کرج، ایران
^۳مرکز تحقیقات گیاه درمانی و طب مکمل مبتنی بر شواهد، دانشگاه علوم پزشکی البرز، کرج، ایران

چکیده

تاریخ دریافت مقاله ۹۶/۴/۱۲؛ تاریخ پذیرش: ۹۶/۸/۱

گسترش روزافزون فن آوری نانو در دهه‌های اخیر و پیدایش کاربردهای بیشتر در حوزه‌های جدید تری از علوم، حکایت از اهمیت فوق العاده این علم دارد. بخش مهمی از فن آوری نانو به علوم دارویی و طراحی و ساخت سامانه‌های دارورسانی نانو مربوط می‌شود که موضوع این مقاله مروری است. در این مقاله ابتدا به ذکر کلیاتی در باره فن آوری دارویی نانو، تاریخچه، کاربرد و تقسیم بندی انواع نانو سامانه‌های دارویی پرداخته می‌شود. در ادامه به طراحی Abraxane که نانو دارویی از نوع نانو ذره باند شده به پروتئین می‌باشد، می‌پردازیم. لیپوزوم‌ها که یکی از بهترین نانو حامل‌های دارویی است که دارای یک چهارچوب معین جهت هدفمند سازی سیستم‌های دارویی به طور خودبخودی می‌باشد، به طور مفصل مورد بررسی قرار گرفته و سپس دو نمونه از این داروها، از جهت نحوه طراحی دارو، با تاکید بر موانع فیزیولوژیک و راهکارهای عملی غلبه بر آنها از طریق فرمولاسیون، مورد بحث و بررسی قرار می‌گیرد. هدفمند سازی خود بخودی در لیپوزوم‌ها، از سه طریق استفاده از پدیده افزایش نفوذپذیری و احتباس، به دام افتادن توسط سیستم فاگوسیستی تک هسته‌ای یا MPS و پگیله کردن لیپوزوم‌ها یا به عبارتی پوشش دادن سطح لیپوزوم‌ها توسط پلی اتیلن گلیکول، انجام می‌گردد. به طور کلی سیستم‌های لیپوزومی با حفظ تاثیر دارو همراه با کاهش عوارض و سمیت دارو به خصوص در مورد داروهای ضد سرطان، مورد توجه قرار گرفته اند. تجمع دارو در بافت هدف که ورود دارو به سایر بافت‌ها را کاهش می‌دهد، دلیل اصلی کاهش عوارض جانبی در این داروها می‌باشد. با توجه به عوارض شدید و گسترده داروهای ضد سرطانی معمول، اگر چه لیپوزوم‌ها در بیماری‌های مختلف مانند بیماری‌های عفونی، هپاتیت، بیماری‌های قلبی-عروقی، بیماری‌های التهابی و سیستم ایمنی، غدد و سایر بیماری‌ها کاربرد دارند، اما قسمت عمده ای از لیپوزوم‌های در حال بررسی، مربوط به بیماری سرطان می‌باشد. مطالعات آینده می‌تواند در جهت ایجاد یک چهارچوب برای هدفمندسازی فعال لیپوزوم‌ها و نیز تلاش برای فرمولاسیون‌های موثر جهت کاربردهای چالش برانگیزی مانند دارورسانی به سیستم اعصاب مرکزی، واکسن‌های DNA و انتقال ژن باشد.

نویسنده مسئول:

گروه فارماسیوتیکس، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی البرز، کرج، ایران

۰۲۶-۳۲۵۶۷۱۷۵
E-mail: zahraataie16@gmail.com

کلمات کلیدی: فن آوری نانو، هدفمند سازی خود بخودی، نانو ذرات، لیپوزوم، سرطان

مقدمه

ابزار فن آوری نانو به رغم اندازه بسیار کوچک آن، موجب پیشرفت‌های عظیمی در علوم مختلف گردیده است که نمونه‌های آن در زمینه‌های غذایی (مانند نانوکپسول‌های افزایش دهنده مزه)، دارویی (مانند نانوذرات و لیپوزوم‌ها)، تولید انرژی (مانند سلول‌های خورشیدی و باتری‌های با کارایی بالا) و در الکترونیک (مانند سیستم‌های ذخیره اطلاعات Ultrahigh Density Data Storage و ترانزیستورهای تک اتمی) است. اما شاید یکی از مهمترین بخش‌های آن پیشرفت‌های حاصل در حوزه پزشکی و سلامت باشد، گرچه برای ورود یک داروی نانو به بازار (از آغاز تحقیق در زمینه نانوتکنولوژی دارویی تا تبدیل آن به یک دارو و سپس مطالعات بالینی و ورود داروی جدید به بازار) زمان زیادی (۲۰-۸ سال) مورد نیاز بوده است.^۱ ارزش تجاری محصولات نانو نیز به صورت فزاینده‌ای در حال پیشرفت می‌باشد به طوری که در سال ۲۰۰۷ میزان ارزش محصولات نانو ۱۵۰ میلیارد دلار بوده که در سال ۲۰۱۵ به بیش از یک تریلیون دلار رسیده است^۲ و در همین راستا میزان سرمایه‌گذاری دولت‌ها در نانو فن آوری نیز رو به افزایش

است که به نوبه خود موید اهمیت روزافزون این حوزه می‌باشد.

نانوتکنولوژی دارویی به معنای طراحی، تولید و ارزیابی فرآورده‌های دارویی می‌باشد که ابعادی حدود ۱ تا ۱۰۰ نانومتر (nm) دارند. این اندازه در همه جا قطعیت ندارد و برای مثال اداره دارو و غذای آمریکا تا ۱۰۰۰ نانومتر را در حیطه این علم و تحت نام نانو تعریف نموده است. به نظر می‌رسد مهمترین اصل در نانوتکنولوژی خصوصیات است که داروهای نانو (Nanomedicine) می‌توانند عرضه نمایند. این خصوصیات فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیک متفاوت به واسطه اندازه و ابعاد بسیار کوچک آنهاست.^۳

نانوذرات

یک نانو یک بیلونیوم متر یعنی 10^{-9} متر است. باید بدانیم که قطر کوچکترین اتم یعنی اتم هیدروژن حدود ۰/۲۵ نانومتر می‌باشد و یک مارپیچ دو حلقه‌ای DNA ۲ نانومتر و کوچکترین باکتری یعنی مایکوپلازما در حدود ۲۰۰ نانومتر است. گلبول‌های قرمز خون در حدود ۸۰۰۰ نانومتر قطر دارد^۴ (شکل ۱).



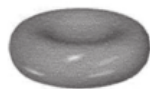
0.25 nm: hydrogen atom (the smallest atom)



2 nm: diameter of a DNA double-helix

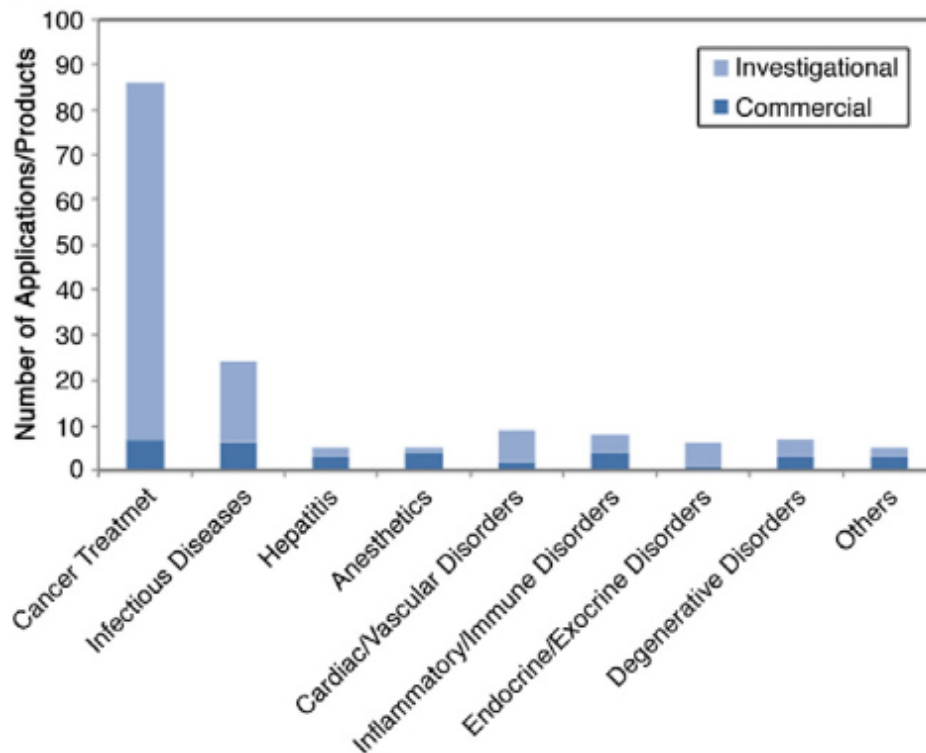


200 nm: Mycoplasma (the smallest bacteria)



8000 nm: red blood cell

شکل ۱: مقایسه اندازه برخی ساختارهایی که در محدوده نانومتر هستند (منبع (۴) با کسب اجازه)



شکل ۲: مصارف دارویی نانوداروهای موجود در بازار یا در حال گذراندن کارآزمایی بالینی (منبع (۱) با کسب اجازه)

فراهم می‌کند تا هر سلول بدن بتواند به عنوان یک بیمار مورد ارزیابی و درمان قرار بگیرد و در آن صورت تنها به نابودی سلول بیمار نخواهیم پرداخت بلکه می‌توانیم سلول‌های موجود را ترمیم کرده و بهبودی ببخشیم.^۸ این ابزار می‌تواند هوشمند و هدفمند طراحی شود. یکی از اولین حیطه‌های استفاده از این نانواپزارها چشم پزشکی می‌باشد که در درمان‌های آینده رتینوپاتی و آسیب‌های اعصاب چشم می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد.^۹

کاربردهای نانو داروها

به طور کلی کاربرد نانوتکنولوژی در جهت تقویت قدرت و کارایی دارو، کاهش عوارض جانبی و هدفمندی دارورسانی به بافت‌های مورد نظر می‌باشد. از فن آوری نانو در مهندسی بافت و سیستم‌های حسی قابل کاشت برای موارد تشخیصی نیز استفاده می‌شود. استفاده از ابعاد نانو در فرمولاسیون دارویی دو مزیت عمده را به همراه دارد که اولین مورد، افزایش انحلال پذیری می‌باشد که با افزایش بسیار زیاد نسبت سطح به حجم در نانوذرات ارتباط دارد

نانوذرات تابع قانون حرکت نیوتونی نبوده بلکه تابع قوانین کوآنتوم مکانیک هستند. حرکت نانوذرات هنگام قرار گرفتن در یک مایع به صورت تصادفی و تحت تاثیر حرکت براونی است. هر چه اندازه اینها کوچک تر شود نسبت سطح به توده افزایش یافته و با این سطح وحشتناک بزرگ می‌تواند به موادی متصل شده، آنها را جذب کرده یا موادی مانند پروتئینها و داروها را حمل کرده و منتقل نماید، در غشای سلولی نفوذ کند، از سدهای بیولوژیک عبور کند و یا با سیستم ایمنی برهم کنش بدهد.^{۲-۷}

ترکیبات دارویی نانو شامل ماکرومولکول‌هایی مانند آنتی‌بادی‌های کونژوگه با دارو (مثال: داروی Zevalin)، کونژوگه‌های پروتئین و پلیمر (مثال: Pegasys)، ذرات دارویی در ابعاد نانو (مثال: Emend)، اشکال دارویی با ساختارهای خاص مانند لیپوزوم‌ها (مثال: داروی Ambisome)، دندریمرها (Dendrimer) مانند VivaGel و نانوذرات (ذرات حامل دارو یا ریز کره مثال: داروی Abraxane) می‌باشد.

فن‌آوری نانو امکان ایجاد نانواپزار را در مقیاس اندازه مولکولی

نانوذرات در بدن

نانوذرات باید از سیستم رتیکولوآندوتلیال (RES) مخفی بمانند زیرا هر ماده خارجی را از طریق اوپسونیزاسیون و به دنبال آن فاگوسیتوز توسط ماکروفاژ، از دسترس بافتها دور می‌کند. اکثر نانوذرات وریدی ظرف چند دقیقه توسط ماکروفاژهای کبد و طحال گرفته می‌شود. این پاکسازی به اندازه، بار و هیدروفوبیسیتیه یا آب‌گریزی سطح آن ذرات بستگی دارد. ذرات ۱۰۰ نانومتر با خصوصیات آب دوستی (Hydrophilicity) از طریق قرار گرفتن گروه‌های پلی اتیلن گلیکول در سطح ذرات به نسبت کمتری توسط RES به دام افتاده و بنابراین مدت بیشتری در خون باقی می‌ماند.^{۱۳،۱۲}

داروهای سایتوتوکسیک (مانند دوکسوروبیسین و پاکلی تاکسل) در درمان سرطان برای نابودی سلول‌های درحال تکثیر سریع سرطانی بکار می‌روند اما این داروها علاوه بر سلول‌های سرطانی سایر سلول‌های در حال تکثیر در مغز استخوان، در دستگاه گوارش و فولیکول‌های مو را نیز از بین می‌برند و منجر به عوارض جانبی مشترکی مانند درگیری سیستم ایمنی شامل کاهش تولید گلبول‌های سفید، گلبول‌های قرمز و پلاکت‌ها، زخم و التهاب مخاط دستگاه گوارش و از دست دادن موها می‌شود. دارو درمانی بر مبنای نانوسامانه‌ها یکی از راه‌های کاهش عوارض جانبی این داروها (به علت تجمع بیشتر این داروها در سلول‌های سرطانی) است.^{۱۴،۱۱} آبراکسان (Abraxane) اولین نانو ذره پروتئینی است که برای درمان سرطان سینه در برخی بیماران به کار رفته و حاوی ذرات در حدود ۱۳۰ نانومتر پاکلی تاکسل است که به آلبومین متصل شده است.

حلالیت این دارو در آب بسیار اندک است و نیازمند افزودن مواد افزایش دهنده حلالیت است تا قابلیت استفاده را پیدا کند. پیش از این، طراحی پاکلی تاکسل فقط به صورت فرآورده ای مایع از داروی حل شده در روغن کرچک پلی اتوکسیله و اتانول بود (با نام Taxol) که نیازمند سازوکار انفوزیونی خاص و زمان طولانی انفوزیون می‌باشد. با تبدیل آن به آبراکسان (نانو دارو) مسئله حلالیت و نیز سمیت و عوارض ناشی از نوع فرمولاسیون قبلی کاهش می‌یابد.^۳

آلبومین استفاده شده در این فرمولاسیون نه تنها حلالیت پاکلی

و مورد دوم افزایش دارورسانی به علت افزایش زمان ماندگاری دارو در گردش خون می‌باشد که زمینه ساز دارورسانی هدفمند و عبور از سد‌های بیولوژیک می‌گردد. به این ترتیب جذب توسط بافت‌های هدف افزایش یافته و لذا سمیت برای سایر بافت‌ها کاهش می‌یابد. سطح در دسترس بزرگی برای باند شدن و انتقال مواد دیگر مانند پروتئین‌ها و داروها را نیز دارد.^{۱۰،۳،۷} نانو داروها در بیماری‌های مختلف از جمله در سرطان، هیپاتیت، بیماری‌های قلبی-عروقی، عفونی، التهابی و غدد کاربرد دارند. شکل ۲، فراوانی نانو داروهای "موجود در بازار" و نیز "در حال بررسی" را در بیماری‌های مختلف نشان می‌دهد و ملاحظه می‌گردد بیش از دو سوم داروهای در حال بررسی، در بخش سرطان می‌باشد. این محصولات نانو برای مصرف از راه‌های مختلف مانند وریدی، عضلانی، موضعی، خوراکی، چشمی و بینی طراحی شده‌اند.^۱

تاریخچه

استفاده از این فرآورده‌ها در بازار دارویی به اواسط ۱۹۹۰ برمی‌گردد که ترکیبات لیپوزومی مجوز ورود به بازار را بدست آوردند. اولین فرمولاسیون نانو دارو که توسط FDA آمریکا اجازه ساخت را دریافت نمود، داروی دوکسوروبیسین بود که با نام تجاری Doxil (در اروپا به نام Caelyx) وارد بازار دارویی شد.

داکسیل در ۱۹۹۵ برای استفاده در سارکومای کاپوسی (Kaposi's Sarcoma) وابسته به ایدز و در ۱۹۹۹ جهت استفاده در سرطان تخمدان و در سال ۲۰۰۷ جهت استفاده در مولتیپل میلوما مجوز ساخت را دریافت کرد.^{۱۱} این فرآورده سوسپانسیون لیپوزوم‌های دوکسوروبیسین می‌باشد که با پلی اتیلن گلیکول پوشش داده شده است (Pegylated). داکسیل در خارج از آمریکا با نام Caelyx عرضه می‌شود و Myocet شکل غیر پگیله (بدون وجود پلی اتیلن گلیکول روی سطح لیپوزوم) دوکسوروبیسین است که در خارج از آمریکا اجازه فروش دارد.

از آن زمان تا کنون ترکیبات مختلفی از بین تعداد زیاد داروهای تحت بررسی، توانسته است به بازار دارویی راه پیدا کند که تعدادی از این داروها را در جدول ۱ ملاحظه می‌کنید.

تجمع می‌یابد. در مرحله بعد دارو باید از غشای سلول تومور رد شده و وارد آن شود. زمانی که "پاکلی تاکسل متصل به آلبومین" به فضای سیناپسی سلول‌ها می‌رسد، آلبومین با اتصال به گلیکوپروتئینی به نام:

"Secreted Protein, Acidic and Rich in Cysteine" یا (SPARC) سبب آزادی پاکلی تاکسل شده و داروی آزاد می‌تواند به هسته سلول توموری انتشار یافته و موجب مرگ سلول شود.^۳

ملاحظه می‌شود که مزایای ذکر شده در آبراکسان ناشی از فرمولاسیون خاص آن یعنی همراهی آلبومین و استفاده از فن آوری نانو است که می‌تواند در موارد مشابه دیگری نیز برای افزایش انحلال داروهای ضد سرطان به کار گرفته شود.

از بین اشکال مختلف نانو داروها با ساختار خاص، تنها به شکل دارویی لیپوزوم و سپس ذکر مثال‌هایی از لیپوزوم‌های موجود در بازار دارویی پرداخته می‌شود.

لیپوزوم

در سال ۱۹۶۵، Alec Bangham اولین مقاله را در مورد سیستم‌های فسفولیپیدی منتشر نمود که چند سال بعد لیپوزوم نامیده شد.^{۱۷}

لیپوزوم به صورت کیسه‌های کوچک کروی شکل می‌باشد که درون آن متشکل از هسته مائی احاطه شده با غشای دولایه ای است. تعداد این غشاهای دو لایه ای می‌تواند یک یا بیشتر باشد. این دولایه ای‌ها ممکن است از مواد چرب طبیعی و یا صناعی باشد. هنگامی که مواد هیدروفوب دو قطبی (معمولا فسفولیپیدها) در محیط مائی در غلظت مناسب و دمای مناسب قرار می‌گیرد به شرط صرف انرژی (مانند استفاده از اولتراسوند)، به شکل کیسه‌های مورد نظر آرایش می‌گیرد.^{۱۸} لیپوزوم‌ها می‌توانند هم داروهای محلول در آب (در قسمت مرکزی) و هم داروهای نامحلول در آب و چربی دوست (در غشای دولایه‌ای) را در خود جای دهند که این مسئله آن‌ها را به سیستم‌های ایده‌آلی برای دارورسانی تبدیل می‌کند. در مواردی هم، دارو بر روی سطح لیپوزوم جذب و نگهداری می‌گردد. از مواد لیپیدی متفاوتی در ساخت لیپوزوم‌ها استفاده می‌شود که بیشتر از مشتقات صناعی فسفولیپیدهای طبیعی به خصوص فسفاتیدیل کولین هستند. لیپوزوم‌ها مشابه غشای سلول

تکسل را افزایش می‌دهد بلکه دارورسانی هدفمند به سلول‌های تومور را نیز از طریق اثر "افزایش نفوذپذیری و احتباس" افزایش می‌دهد. در واقع بیش از ۳۰ سال از کشف این اثر یعنی EPR که مخفف "Enhanced Permeability and Retention" است، می‌گذرد. این پدیده برای ایجاد هدفمندی به صورت غیر فعال و خودبخودی (Passive) کاربرد وسیعی دارد. برای روشن شدن موضوع، توضیح مختصری بیان می‌شود.

می‌دانیم که دارو بایستی قبل از رسیدن به محل هدف از سلول‌های آندوتلیال عروق بگذرد. در بافت‌ها و اندام‌های خاص، ساختار مویرگ‌های خونی متفاوت است. در برخی اندام‌ها فضا یا شکافی بین سلول‌های آندوتلیال وجود دارد که اندازه این فضا در برخی اندام‌ها مانند کلیه و گوارش ۲۰ تا ۸۰ نانومتر و در برخی مانند کبد و طحال تا ۱۵۰ نانومتر می‌باشد.

در شرایط التهابی یا رشد تومور به علت افزایش عروق ناقص (Defective Hypervasculate)، منافذی به بزرگی ۲۰۰ تا ۳۰۰ نانومتر در پوشش آندوتلیال ایجاد می‌شود و با توجه به رشد سریع تومور، تخلیه (درناژ) لنفاتیکی نیز کامل انجام نمی‌گردد. این دو پدیده در کنار هم اثر "افزایش نفوذپذیری و احتباس" نام دارد که سبب تجمع دارو در محل تومور و ماندگاری بیشتر آن در ناحیه می‌گردد. ساختار آندوتلیال بسیار نفوذ پذیر مویرگ‌های تومور (ناشی از آنژیوژنز) امکان نشت کردن ماکرومولکول‌های بزرگ را به داخل بافت تومور فراهم می‌آورد و تخلیه لنفاتیکی ناقص در محل تومور باعث تخلیه آهسته ماکرومولکول‌ها و نانوذرات از محل تومور می‌گردد و در واقع ذرات را در دام خود نگاه می‌دارد.^{۱۶، ۱۵، ۱۳}

در مورد آبراکسان مکانیسم دیگری نیز علاوه بر هدفمندی خودبخودی و غیر فعال وجود دارد و آن هم در ارتباط با "آلبومین متصل شده به دارو" است که از مسیر گلیکوپروتئین (gp60) فعال شونده با آلبومین نیز استفاده می‌نماید. گیرنده‌های آلبومین در روی سطح سلول‌های آندوتلیال عروق قرار دارند و باند شدن آلبومین به رسپتورهای gp60 سبب فعالیت پروتئین Caveolin-1 می‌گردد که سبب شکل گیری وزیکول‌های انتقال دهنده (Transcitotic) می‌شود تا محتویات خود را در فضای بینایی سلول‌ها رها کند. در مواردی که تومور وجود دارد این سیستم انتقال، فعالیت بیشتری دارد و لذا آبرکسان هم از طریق اثر EPR و هم از طریق gp60 در محل تومور

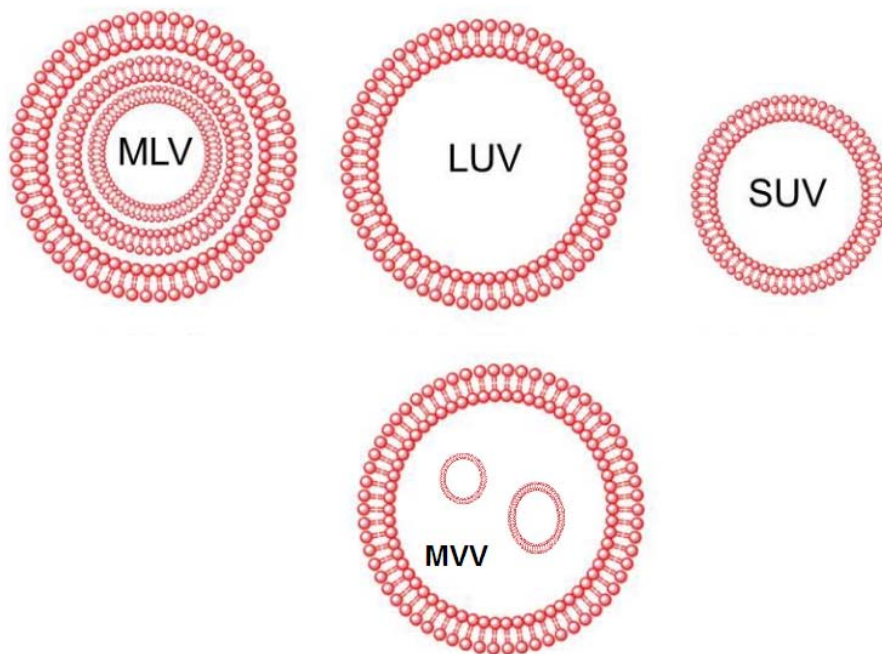
بیشتر داروهای موجود در بازار از این دسته هستند (Small Unilamellar Vesicles, SUV).

دسته بعدی وزیکول‌های بزرگ تک لایه ای است که تنها تفاوتشان با دسته قبلی در اندازه شان می‌باشد (مساوی یا بزرگتر از ۱۰۰ نانو تا حدود ۲۵۰ نانومتر) و به دلیل فضای مرکزی بزرگ می‌توانند به نسبت دسته قبلی مقادیر بیشتری از داروهای محلول در آب را در خود جای دهند (Large Unilamellar Vesicles, LUV).

دسته سوم وزیکول‌های چند لایه ای می‌باشد که شامل چندین دولایه ای متحدالمرکز هستند و اندازه شان از ۱۰۰ نانومتر شروع و می‌تواند تا چند میکرون باشد. این گروه برخلاف دسته دوم به علت فضای مائی کوچک در مرکز، گنجایش کمی برای داروهای محلول در آب دارد (Multi lamellar vesicles, MLV).

دسته آخر شامل وزیکولهایی است که خود حاوی چندین وزیکول کوچکتر در داخل خود بوده و از نظر اندازه مشابه دسته قبلی می‌باشد (Multi vesicular vesicles, MVV) (شکل ۳).

بوده و از نظر کارایی و زمان ماندگاری بیشتر در گردش خون که توسط پگیله شدن (پوشش سطحی با پلی اتیلن گلیکول) انجام می‌شود، از بسیاری از اشکال دارورسانی نانو مناسب تر و موفق تر هستند.^{۱۹، ۲۰} لیپوزوم‌ها بر اساس گروه روی سطح آن و میزان اسیدیته محیط می‌توانند دارای بار سطحی مثبت، منفی و یا بدون بار باشند. این مسئله روی پایداری، کینتیک و توزیع آن، تداخل با سلول هدف و بازجذب آن‌ها تاثیر دارد. لیپوزوم‌های بدون بار سطحی پس از جذب سیستمیک، تمایل کمتری برای پاکسازی توسط سلول‌های سیستم رتیکولواندوتلیال داشته و بیشترین تمایل را برای تجمع در بافت هدف دارند.^{۲۱} لیپوزوم‌های کاتیونی اغلب برای انتقال اسیدهای نوکلئیک یا DNA که دارای بار منفی می‌باشند استفاده می‌شود.^{۲۲} اندازه لیپوزوم‌ها می‌تواند از محدوده نانو تا میکرو باشد. این کیسه‌های دربردارنده دارو بر اساس تعداد دو لایه ای‌ها و اندازه به چهار دسته کلی تقسیم می‌شوند که دسته اول شامل وزیکول‌های کوچک تک لایه ای می‌باشد که کوچکتر از ۱۰۰ نانومتر بوده و تنها یک غشای دولایه ای دارند.



شکل ۳: تقسیم‌بندی لیپوزوم‌ها بر اساس تعداد دو لایه ای‌ها (منبع (۲۳) با کسب اجازه و با تغییرات)

جدول ۱: برخی داروهای نانو و لیپوزومی موجود در بازار دارویی جهان^{۳، ۱۷، ۱۳، ۲۴}

نام دارو	ماده دارویی	طبقه بندی نانو	سال ورود به بازار	کاربرد
(Caelyx) Doxil	دوکسوروبیسین	لیپوزوم	۱۹۹۵	انواع سرطان
Ambisome	آمفوتریسین بی	لیپوزوم	۱۹۹۷	عفونت‌های قارچی
Depocyt	سیتارابین	لیپوزوم	۱۹۹۹	مننژیت لنفوماتوز
Visudyne	ورتپورفین	لیپوزوم	۲۰۰۰	دژنراسیون ماکولار وابسته به سن
DaunoXome	دوکسوروبیسین	لیپوزوم	۱۹۹۶	سرطان خون
DepoDur	سولفات مورفین	لیپوزوم	۲۰۰۴	درد بعد از اعمال جراحی
Epaxal	ویروس غیر فعال هپاتیت آ	لیپوزوم	۱۹۹۷	واکسن هپاتیت آ
Marqibo	وین کریستین سولفات	لیپوزوم	۲۰۱۲	لوکمی لنفوبلاستیک حاد
Inflexal	ویرومهای آنفلوآنزا	لیپوزوم	۱۹۹۷	واکسن آنفلوآنزا
Myocet	دوکسوروبیسین	لیپوزوم	۲۰۰۰	سرطان سینه
Abraxane	پاکلی تاکسول	نانوذره	۲۰۰۵	سرطان سینه
Esterasorb	استرادیول	نانوذره	۲۰۰۳	علائم منوپوز
Decapeptyl	تریپتورلین	میکروذره	۲۰۱۰	سرطان پروستات و آندومتریوز
Zevalin	ایبریتومومب	کونژوگه با آنتی‌بادی	۲۰۰۲	لنفومای غیر هوچکین

اپسونیزاسیون (Opsonization) است. در واقع این پدیده یک فرآیند محافظتی است که سبب می‌شود مواد خارجی در گردش خون توسط پروتئین‌ها پوشش داده شده و به عنوان عامل خارجی تشخیص داده شوند. سپس توسط سیستم فاگوسیتیک مونونوکلئار (MPS) از خون خارج می‌شوند.^{۱۸} لیپوزوم‌ها در صورت تجویز موضعی سبب افزایش نفوذ پذیری در داخل پوست می‌گردند.^{۲۸} همان گونه که ذکر گردید اولین لیپوزوم عرضه شده به بازار داکسیل بود. از آخرین داروهای لیپوزومی Marqibo است که حاوی وین کریستین بوده و در سال ۲۰۱۲ جهت درمان لوکمی و به شکل وریدی به بازار دارویی راه یافته است. داروی Onivyde نیز در سال ۲۰۱۵ توسط FDA تاییدیه ورود به بازار را کسب نموده که حاوی داروی Irinotecan است و در درمان سرطان پانکراس به صورت تزریق وریدی کاربرد دارد.^{۱۹، ۲۹، ۳۰}

همانند سایر نانوذرات، لیپوزوم‌ها نیز بر اساس مکانیسم هدفمند شدن به دو نسل تقسیم می‌شوند. در نسل اول هدفمندی به صورت خودبخودی (Passive) است که در ادامه تحت عنوان "اثر افزایش نفوذپذیری و احتباس" مورد بحث قرار می‌گیرد. هدفمندی در

لیپوزوم‌های موجود در بازار، دارای مواد دارویی متفاوت هستند که به طور نمونه به مواد ضد سرطان، ضد قارچ، واکسن‌ها و ماده حساس کننده به نور (Photo sensitizer) در درمان تخریب شبکه می‌توان اشاره کرد.^{۲۴} لیپوزوم‌ها در درمان سندرم مئانه بیش فعال و سیستمیت^{۲۵} و همچنین در درمان بیماری‌های CNS نیز مورد بررسی قرار دارند. بیشتر این مطالعات روی اندازه گیری میزان دارورسانی در شرایط *in vivo* در حیوانات سالم انجام گردیده اما لازم است تا در حیوانات بیمار نیز این مطالعات انجام گیرد زیرا بیماری در خصوصیات و رفتار سد خونی مغزی نقش مهمی دارد.^{۲۶} یکی از محدودیت‌های لیپوزوم‌ها نشت دارو از لیپوزوم است که با استفاده از کلسترول در ساخت دو لایه ای‌ها می‌توان پیوستگی غشائی را افزایش و از نشت احتمالی دارو تا حدودی جلوگیری نمود.^{۱۱، ۲۷}

معمولاً راه خوراکی برای لیپوزوم‌ها استفاده نمی‌شود زیرا آن‌ها در دستگاه گوارش تجزیه می‌شوند که سبب کاهش بسیار زیاد فراهمی زیستی دارو می‌گردد.^{۱۷} راه تجویز در اغلب این داروها تزریق وریدی است. در این صورت لیپوزوم‌ها در ماکروفاژهای کبد و طحال تجمع می‌یابند. جذب لیپوزوم‌ها توسط ماکروفاژها ناشی از

مجدد و آهسته دارو به داخل جریان خون می‌شود. ساختار لیپوزومی میوست، غیر پگیله (بدون پوشش سطحی پلی اتیلن گلیکول) است بنابراین نسبت به نوع پگیله (داروی داکسیل) با سرعت بیشتری از گردش خون خارج می‌شود اما این سرعت در مقایسه با دوکسوروبیسین غیر لیپوزومی به مراتب کمتر می‌باشد. در این دارو، فرمولاسیون میوست به گونه ای است که ضمن حفظ فعالیت ضد توموری، عارضه مهم سمیت قلبی آن نسبت به داروی غیر لیپوزومی کاهش قابل ملاحظه ای می‌یابد که به دلیل تجمع بیشتر دارو در نواحی دارای التهاب (اثر EPR) مانند تومور و یا کبد، طحال و مغز استخوان (MPS) است. کاهش عارضه سمیت قلبی که یک عارضه محدود کننده مقدار مصرف دارو می‌باشد (Dose Limiting) در لیپوزوم‌ها سبب می‌شود تا بتوان دوزهای بالاتری از دارو را تجویز نموده و نتایج بهتری را در درمان بیماران به‌دست آورد. (۳۳-۳۶)

در مطالعات اولیه ثابت گردید که لیپوزوم‌ها پس از تزریق وریدی با اوپسونین‌های خون (Opsonin) واکنش داده و لذا از گردش خون پاکسازی می‌شوند. سرعت پاکسازی به اندازه لیپوزوم، بار سطحی آن و چربی مورد استفاده در ساخت لیپوزوم بستگی دارد.

اوپسونین‌ها که مولکول‌های پروتئینی می‌باشند (مانند Mannse-binding lectin) روی سطح عامل خارجی متصل شده و آن را برای بلع توسط فاگوسیت‌ها نشاندار می‌کنند و لذا پاکسازی لیپوزوم از خون، سبب دارورسانی هدفمند خودبخودی لیپوزوم‌ها در سیستم MPS می‌شود.

حال اگر لیپوزوم‌ها از طریق داخل عضلانی یا زیر جلدی تزریق شود، وارد سیستم لنفاتیک شامل غدد لنفاوی می‌شود که از این خاصیت می‌توان در تولید واکسن استفاده نمود (۳).

داکسیل (Doxil)

چنانچه بخواهیم از لیپوزوم برای دارورسانی به نقاط دیگر غیر از سیستم ماکروفاژ استفاده نماییم باید پایداری لیپوزوم در خون یا مایعات بینابینی سلولی، سرعت کلیرنس لیپوزوم و توزیع بافتی در نظر گرفته شود. اگر لیپوزوم‌ها به نحوی فرموله شود که از اثر EPR به طور کامل بهره ببرد می‌تواند در محل تومور تجمع یابد و برای

نسل دوم به صورت فعال (Active) بوده و از لیگاندها در ساختار لیپوزوم‌ها استفاده می‌گردد. نمونه این لیگاندها آنتی بادی‌ها و اجزای آن پروتئین‌ها، ویتامین‌ها، قندها و گلیکو پروتئین‌ها می‌باشد. (۳۱، ۳۲) دارورسانی مغزی و عبور از سد خونی-مغزی تنها توسط لیپوزوم‌هایی که به صورت فعال هدفمند شده‌اند (توسط لیگاندها) امکان‌پذیر بوده و دسترسی لیپوزوم‌های نسل اول به این فضا بسیار محدود می‌باشد. (۳۳) در حال حاضر هیچ یک از داروهای که مجوز ورود به بازار را کسب کرده اند از نوع لیپوزوم‌های نسل دوم نیست. در لیپوزوم‌های غیر پگیله که به سرعت توسط MPS کبد و طحال گرفته شده و از گردش خون خارج می‌شود برای دارورسانی به این دو عضو استفاده می‌شود. برای مثال در رساندن آنتی بیوتیک‌ها و یا ضد انگل‌ها برای درمان عفونت‌های لوکالیزه در سیستم مورد اشاره می‌توان از لیپوزوم‌های بدون پوشش PEG بهره برد.

مکانیسم آزادسازی دارو از لیپوزوم‌ها به طور کامل شناسایی نشده است اما پاره شدن غشای توسط فسفولیپازها یا جذب توسط ماکروفاژها و آزادسازی بعدی دارو در محل تومور از روش‌ها و مکانیسم‌های شناخته شده است. (۱۱)

در بین ترکیبات مختلف دارویی لیپوزومی، که موفق به اخذ مجوز تولید گردیده و در بازار دارویی عرضه شده‌اند تنها به توضیح مختصری در دو مورد کفایت نموده و در هر مورد، روش استفاده شده جهت دارورسانی هدفمند و کاهش عوارض جانبی ذکر می‌گردد.

میوست (Myocet)

فرمولاسیون لیپوزومی دوکسوروبیسین می‌باشد که حدود ۱۸۰ نانومتر اندازه داشته و از کلسترول و فسفاتیدیل کولین تخم مرغ تشکیل شده است. دوکسوروبیسین در این لیپوزوم به صورت کمپلکس با سیترات است که این مسئله از نشتی دارو به خارج از لیپوزوم جلوگیری می‌کند و سبب باقی ماندن دارو در آن می‌شود. این لیپوزوم‌ها توسط MPS که بیشتر در ماکروفاژهای کبد و طحال وجود دارد، گرفته می‌شود که به عبارت دیگر ایجاد یک سیستم "Depot MPS" می‌کند که مانند محل ذخیره موجب آزادی

می‌شود که بیش از حد حلالیت دارو است پس سولفات دوکسوروبیسین در داخل لیپوزوم‌ها به صورت کریستالی رسوب می‌کند.^{۱۱}

همان‌طور که قبلاً هم گفته شد یک محدودیت جدی لیپوزوم‌ها نشت دارو و نیز پایداری آن در سیستم گردش خون است. با حضور کلسترول در ساخت لیپوزوم نشتی دارو کاهش یافته و استحکام و پیوستگی غشای لیپوزوم افزایش می‌یابد. رسوب دارو در داخل این لیپوزوم‌ها نیز در حفظ دارو و عدم نشتی آن کمک مضاعف می‌نماید.

لیپوزوم‌های پگیله در صورت تکرار تزریق، زمان ماندگاریشان در گردش خون کاهش می‌یابد و در واقع به دنبال دوزهای تکراری پدیده پاک‌سازی خونی تسریع شده (Accelerated Blood Clearance) یا ABC را نشان می‌دهند. البته این مسئله در مورد لیپوزوم‌های دوکسوروبیسین و متوترکسات دیده نمی‌شود.^{۳۹-۴۱}

بحث و نتیجه‌گیری

میزان سرمایه‌گذاری دولت‌ها در تحقیقات نانو، در سال ۲۰۱۱ به حدود ۱۰ بیلیون دلار می‌رسد که^{۴۲} همچنان در حال افزایش می‌باشد. ملاحظه‌گردید که لیپوزوم‌ها به دلایلی از جمله قابلیت استفاده برای هر دو نوع داروهای آب دوست و آب گریز و سازگاری زیستی از بهترین اشکال دارورسانی نانو می‌باشند.^{۴۰} در مدت حدود پنجاه سالی که از اولین گزارش در مورد لیپوزوم گذشته، این سیستم دارورسانی راه خود را برای کاربردهای مختلف باز کرده است. استفاده از لیپوزوم‌ها برای فرموله کردن داروهای بسیار کم محلول سبب بهبود حلالیت و پایداری اشکال دارویی می‌شود.^{۳۳} در مجموع از موارد مطروحه می‌توان دریافت که در نانو تکنولوژی راه‌های بسیاری برای دارورسانی هدفمند وجود دارد و راه برای نوآوری و ارائه مسیرهای تازه هنوز باز است. به نظر می‌رسد مضرات و سمیت نانوذرات بر روی برخی اندام‌های حیاتی^{۴۵،۴۴} نیز بایستی در کنار مزایای آن مورد ارزیابی و توجه قرار گیرد. در حال حاضر همه لیپوزوم‌های موجود در بازار، از نسل اول لیپوزوم‌ها هستند که به صورت خودبخودی هدفمند می‌باشند. لیپوزوم‌ها سبب افزایش شاخص درمانی از طریق کاهش قابل توجه

این کار نیازمند پگیله کردن لیپوزوم‌ها (Pegylated Liposomes) هستیم. این پلیمر هیدروفیل (پلی اتیلن گلیکول) اویسونین‌ها را دور کرده و زمان ماندگاری بیشتری را در خون برای لیپوزوم فراهم میکند تا شانس بیشتری داشته باشد که با سلول‌های هدف دیگری نیز به جز MPS برخورد نماید که نمونه آن تومور و نواحی دارای التهاب است. یک نمونه از دارویی که با پگیلاسیون فرموله شده Caelyx (در بازار دارویی با نام Doxil) است. اندازه این لیپوزوم‌ها که حاوی دوکسوروبیسین میباشد کمتر از ۱۰۰ نانومتر است و در داخل ساختار دو لایه ای آن از PEG۲۰۰۰ به همراه دی استئاروئیل فسفاتیدیل اتانول آمین (DSPE) استفاده شده است. زمانی که لیپوزوم‌های ذکر شده توسط MPS گرفته و پاکسازی نشود مدت بیشتری را در خون مانده و به واسطه EPR به محل تومور می‌رسد. در آن محل تجزیه شده و دوکسوروبیسین آزاد می‌شود که در همان موضع روی سلول‌ها تاثیر می‌کند. در داکسیل گروه‌های پلی اتیلن گلیکول حدود ۶۰٪ سطح لیپوزوم را پوشش داده و موجب افزایش نیمه عمر دفع لیپوزوم به ۳ تا ۴ روز می‌شود در حالی که نیمه عمر دفع داروی دوکسوروبیسین ۲۵-۲۰ ساعت است.^(۳،۴) سرعت کلیرنس لیپوزوم‌های بالای ۱۰۰ نانومتر توسط MPS با افزایش اندازه، افزایش می‌یابد.^۷ عارضه سمیت قلبی در داکسیل نیز مانند میوست، به مراتب کمتر از داروی غیر لیپوزومی می‌باشد. به نظر می‌رسد پگیلاسیون می‌تواند به عارضه "Hand-Foot Syndrome" یا به عبارت دیگر "Palmar Plantar Erythrodysesthesia" منجر گردد که ناشی از سمیت دارو روی کراتینوسیت‌ها در کف دست و پا است. در این حالت قرمزی، تاول و درد (که در برخی موارد بسیار شدید است) در کف دست و پا مشاهده می‌گردد. نوع غیر پگیله این لیپوزوم با نام میوست که در بازار دارویی اروپا و کانادا موجود است این واکنش ناخواسته را نشان نمی‌دهد.^{۳۷،۳۸}

در هر لیپوزوم داکسیل ۱۰۰۰۰ تا ۱۵۰۰۰ مولکول دوکسوروبیسین وجود دارد که توسط مکانیسم تعویض یون وارد لیپوزوم‌های از پیش تشکیل شده، گردیده اند. لیپوزوم‌های بدون دارو در این مورد، دارای سولفات آمونیوم زیادی است که یون آمونیوم آن با دارو که یک باز ضعیف است در دو طرف غشاء مبادله شده و غلظت زیادی از دارو وارد لیپوزوم می‌شود. در حدود ۴۵ میلی مول داروی دوکسوروبیسین در لیپوزوم‌ها وارد شده و بارگیری

قارچی، تسکین درد، مهارکننده ایمنی و آنتی‌بیوتیک، پارکینسون، آرتريت روماتوئید، اکوکاردیوگرافی، دژنراسیون ماکولار، انتقال DNA و RNA و داروهای پایین آورنده چربی نیز در حال بررسی و مطالعه می‌باشند.^{۵۰-۵۴}

در کلام آخر باید اذعان نمود که گستردگی افق پیش رو در نانوتکنولوژی دارویی به وسعت تمامی حیطه‌های پزشکی است و در آینده قطعاً شاهد داروهای بیشتری تحت عنوان "نانودارو" خواهیم بود.

سمیت شده اند.^{۱۱، ۱۴، ۳۵، ۴۶-۴۸} برای مثال سمیت قلبی در لیپوزوم دوکسوروبیسین، در مقایسه با داروی آزاد به شدت کاهش یافته است. سمیت پوستی تنها عارضه ای است که در لیپوزوم‌های پگیله به نسبت داروی آزاد، افزایش یافته است.^{۳۸، ۴۹}

بیشتر نانوداروهایی که مجوز ورود به بازار را دریافت کرده اند یا در حال گذراندن مراحل کارآزمایی بالینی هستند به بیماری‌های بدخیم و تومورها مربوط بوده اما به این حیطه محدود نمی شوند بلکه در حوزه‌های مختلف درمانی مانند عفونت‌های سیستمیک

References

- Etheridge ML, Campbell SA, Erdman AG. The big picture on nanomedicine: the state of investigational and approved nanomedicine products nanomedicine: nanotechnology, biology, and medicine. 2013;9:1-14.
- Powell JJ, Faria N, Thomas-McKay E, Pele LC. Origin and fate of dietary nanoparticles and microparticles in the gastrointestinal tract. *Journal of Autoimmunity*. 2010;34(3):J226-J33.
- Perrie Y. Pharmaceutical Nanotechnology and Nanomedicines. In: Aulton ME, Taylor K, editors. *Aulton's Pharmaceutics: Churchill Livingstone Elsevier*; 2013. p. 777-96.
- Viscido A, Capannolo A, Latella G, Caprilli R, Frieri G. Nanotechnology in the treatment of inflammatory bowel diseases. *Journal of Crohn's and Colitis*. 2014;8(9):903-18.
- Tabata Y, Inoue Y, Ikada Y. Size effect on systemic and mucosal immune responses induced by oral administration of biodegradable microspheres. *Vaccine*. 1996;14(17-18):1677-85.
- Lacoeuille F, Garcion E, Benoit J-P, Lamprecht A. Lipid Nanocapsules for Intracellular Drug Delivery of Anticancer Drugs *J Nanosci Nanotechnol*. 2007;7():4612-7.
- Jong WHD, Borm PJ. Drug delivery and nanoparticles: Applications and hazards *International Journal of Nanomedicine*. 2008;3(2):133-49.
- Leary JF. Nanotechnology: what is it and why is small so big? *Canadian Journal of Ophthalmology / Journal Canadien d'Ophthalmologie*. 2010;45(5):449-56.
- Matsuo T, Masuda I, Yasuda T, Matsuo N. Gene Transfer to the Retina of Rat by Liposome Eye Drops. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 1996;219(3):947-50.
- Eldar-Boock A, Polyak D, Scomparin A, Satchi-Fainaro R. Nano-sized polymers and liposomes designed to deliver combination therapy for cancer. *Current Opinion in Biotechnology*. 2013;24(4):682-9.
- Dawidczyk CM, Kim C, Park JH, Russell LM, Lee KH, Pomper MG, et al. State-of-the-art in design rules for drug delivery platforms: Lessons learned from FDA-approved nanomedicines. *Journal of Controlled Release*. 2014;187:133-44.
- Acharya S, Sahoo SK. PLGA nanoparticles containing various anticancer agents and tumour delivery by EPR effect. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2011;63(3):170-83.
- Fang J, Nakamura H, Maeda H. The EPR effect: Unique features of tumor blood vessels for drug delivery, factors involved, and limitations and augmentation of the effect. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2011;63(3):136-51.
- Barenholz Y. Doxil® — The first FDA-approved nano-drug: Lessons learned. *Journal of Controlled Release*. 2012;160(2):117-34.
- Torchilin V. Tumor delivery of macromolecular drugs based on the EPR effect. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2011;63(3):131-5.
- Seki T, Fang J, Maeda H. Tumor-Targeted Macromolecular Drug Delivery Based on the Enhanced Permeability and Retention Effect in Solid Tumor. In: Lu Y, Mahato RI, editors. *Pharmaceutical perspective of cancer therapeutics: Springer Science & Business Media*; 2009. p. 93-121.
- Allen TM, Cullis PR. Liposomal drug delivery systems: From concept to clinical applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2013;65(1):36-48.
- van der Meel R, Fens MHAM, Vader P, van Solinge WW, Eniola-Adefeso O, Schifflers RM. Extracellular vesicles as drug delivery systems: Lessons from the liposome field. *Journal of Controlled Release*. 2014;195:72-85.

19. Fan Y, Zhang Q. Development of liposomal formulations: From concept to clinical investigations. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2013;8(2):81-7.
20. Zhang Y, Chan HF, Leong KW. Advanced materials and processing for drug delivery: The past and the future. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2013;65(1):104-20.
21. Lian T, Ho RJY. Trends and Developments in Liposome Drug Delivery Systems. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2001;90(6):667-80.
22. Shim G, Kim M-G, Park JY, Oh Y-K. Application of cationic liposomes for delivery of nucleic acids. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2013;8(2):72-80.
23. Pandey H, Rani R, Agarwal V. Liposome and Their Applications in Cancer Therapy. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 2016;59.
24. Perrie Y, Crofts F, Devitt A, Griffiths HR, Kastner E, Nadella V. Designing liposomal adjuvants for the next generation of vaccines. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2016;99, Part A:85-96.
25. Hung S-Y, Chancellor DD, Chancellor MB, Chuang Y-C. Role of liposome in treatment of overactive bladder and interstitial cystitis. *Urological Science*. 2015;26(1):3-6.
26. Noble GT, Stefanick JF, Ashley JD, Kiziltepe T, Bilgicer B. Ligand-targeted liposome design: challenges and fundamental considerations. *Trends in Biotechnology*. 2014;32(1):32-45.
27. de Oliveira CA, Kohn LK, Antonio MA, Carvalho JE, Moreira MR, Machado AEH, et al. Photoinactivation of different human tumor cell lines and sheep red blood cells in vitro by liposome-bound Zn(II) Phthalocyanine: Effects of cholesterol. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 2010;100(2):92-9.
28. Eskandar M, Somayeh H. Utilization of thin film method for preparation of celecoxib loaded liposomes. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*. 2012;2(1):93-8.
29. Eloy JO, Claro de Souza M, Petrilli R, Barcellos JPA, Lee RJ, Marchetti JM. Liposomes as carriers of hydrophilic small molecule drugs: Strategies to enhance encapsulation and delivery. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2014;123:345-63.
30. Anselmo AC, Mitragotri S. Nanoparticles in the clinic. *Bioengineering & Translational Medicine*. 2016;1(1):10-29.
31. Kuang H, Ku SH, Kokkoli E. The design of peptide-amphiphiles as functional ligands for liposomal anticancer drug and gene delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2010.
32. Rip J. Liposome technologies and drug delivery to the CNS. *Drug Discovery Today: Technologies*.
33. Marty M. Liposomal doxorubicin (Myocet™) and conventional anthracyclines: a comparison. *The Breast*. 2001;10, Supplement 2:28-33.
34. Leonard RCF, Williams S, Tulpule A, Levine AM, Oliveros S. Improving the therapeutic index of anthracycline chemotherapy: Focus on liposomal doxorubicin (Myocet™). *The Breast*. 2009;18(4):218-24.
35. Batist G. Improving the therapeutic index when using Myocet™ in the treatment of metastatic breast cancer. *The Breast*. 2001;10, Supplement 2:16-21.
36. Mross K, Niemann B, Massing U, Dreves J, Unger C, Bhamra R, et al. Pharmacokinetics of liposomal doxorubicin (TLC-D99; Myocet) in patients with solid tumors: an open-label, single-dose study. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*. 2004;54(6):514-24.
37. Noriyuki Yokomichi, Teruaki Nagasawa, Ariella Coler-Reilly, Hiroyuki Suzuki, Yoshiaki Kubota, Ryosuke Yoshioka, et al. Pathogenesis of Hand-Foot Syndrome induced by PEG-modified liposomal Doxorubicin Human Cell. 2013;26(1):8-18.
38. Yokomichi N, Nagasawa T, Coler-Reilly A, Suzuki H, Kubota Y, Yoshioka R, et al. Pathogenesis of Hand-Foot Syndrome induced by PEG-modified liposomal Doxorubicin. *Human Cell*. 2013;26(1):8-18.
39. Kopeček J. Polymer–drug conjugates: Origins, progress to date and future directions. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2013;65(1):49-59.
40. Ma Y, Yang Q, Wang L, Zhou X, Zhao Y, Deng Y. Repeated injections of PEGylated liposomal topotecan induces accelerated blood clearance phenomenon in rats. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2012;45(5):539-45.
41. Ishida T, Ichihara M, Wang X, Yamamoto K, Kimura J, Majima E, et al. Injection of PEGylated liposomes in rats elicits PEG-specific IgM, which is responsible for rapid elimination of a second dose of PEGylated liposomes. *Journal of Controlled Release*. 2006;112(1):15-25.
42. Venditto VJ, Szoka Jr FC. Cancer nanomedicines: So many papers and so few drugs! *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2013;65(1):80-8.
43. Khadka P, Ro J, Kim H, Kim I, Kim JT, Kim H, et al. Pharmaceutical particle technologies: An approach to improve drug solubility, dissolution and bioavailability. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2014;9(6):304-16.
44. Bostan HB, Rezaee R, Valokala MG, Tsarouhas K, Golokhvast K, Tsatsakis AM, et al. Cardiotoxicity of nano-particles. *Life Sciences*. 2016;165:91-9.
45. Ranjbar A, Ataie Z, Khajavi F, Ghasemi H. Effects of silver nanoparticle (Ag NP) on oxidative stress biomarkers in rat. *Nanomedicine J* 2014;1(3):205-10.
46. Swenson CE, Perkins WR, Roberts P, Janoff AS. Liposome technology and the development of Myocet™ (liposomal doxorubicin citrate). *The Breast*. 2001;10, Supplement 2:1-7.

47. Cagel M, Grotz E, Bernabeu E, Moretton MA, Chiappetta DA. Doxorubicin: nanotechnological overviews from bench to bedside. *Drug Discovery Today*. 2017;22(2):270-81.
48. Bertrand N, Wu J, Xu X, Kamaly N, Farokhzad OC. Cancer nanotechnology: The impact of passive and active targeting in the era of modern cancer biology. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2014;66:2-25.
49. Lokich JJ, Moore C. Chemotherapy-associated palmar-plantar erythrodysesthesia syndrome. *Annals of Internal Medicine*. 1984;101(6):798-800.
50. Rasoulboroujeni M, Kupgan G, Moghadam F, Tahriri M, Boughdachi A, Khoshkenar P, et al. Development of a DNA-liposome complex for gene delivery applications. *Materials Science and Engineering: C*. 2017;75:191-7.
51. Cern A, Marcus D, Tropsha A, Barenholz Y, Goldblum A. New drug candidates for liposomal delivery identified by computer modeling of liposomes' remote loading and leakage. *Journal of Controlled Release*. 2017;252:18-27.
52. van der Valk FM, van Wijk DF, Lobatto ME, Verberne HJ, Storm G, Willems MCM, et al. Prednisolone-containing liposomes accumulate in human atherosclerotic macrophages upon intravenous administration. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*. 2015;11(5):1039-46.
53. Colzi I, Troyan AN, Perito B, Casalone E, Romoli R, Pieraccini G, et al. Antibiotic delivery by liposomes from prokaryotic microorganisms: Similia cum similibus works better. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2015;94:411-8.
54. Vaz GC, Sharma NM, Zheng H, Zimmerman MC, Santos RS, Frezard F, et al. Liposome-entrapped GABA modulates the expression of nNOS in NG108-15 cells. *Journal of Neuroscience Methods*. 2016;273:55-63.