AUMJ Journal Alborz University of Medical Sciences
Alborz University of Medical Sciences Journal, Winter 2025, Vol. 14, No 59-81

Design, synthesis and formulation of niosomes containing acetaminophen: structural properties, anticancer effects and apoptotic gene expression analysis

Amir Mirzaie[1]
Maryam Abbasi[2*]

Abstract

Background: Niosomes are innovative targeted drug delivery systems that enhance the biological properties of drugs. This study aimed to synthesize acetaminophen-containing niosomes, investigate their structural characteristics, assess cytotoxicity, and analyze the expression of apoptotic genes.

Method: In this experimental study, various formulations of acetaminophen-loaded niosomes were synthesized. Their structural characteristics were examined using scanning electron microscopy (SEM), dynamic light scattering (DLS), and Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR). The cytotoxic effects on the colon cancer cell line (HT29) were assessed via the MTT colorimetric method. Additionally, the expression levels of apoptotic genes Bax and Bcl2 were evaluated.

Results: The synthesis results indicated that the Nio1 formulation was the optimal variant, exhibiting a size of 289.6 nm. FTIR analysis confirmed successful niosome synthesis. Drug release tests revealed that the release rate of acetaminophen in niosome form was significantly slower than that of the free drug, with only 28% released over 8 hours. Furthermore, niosomes containing acetaminophen demonstrated significant cytotoxic effects against the HT29 cell line. The expression of the apoptotic gene Bax increased significantly by 2.14±0.34 ($P<0.01$), while the expression of Bcl2 decreased by 0.46±0.11 ($P<0.01$).

Conclusion: The findings of this study indicate that acetaminophen-loaded niosomes exhibit significant cytotoxic effects against the HT29 cell line and enhance the expression of apoptotic genes. These results suggest that niosomes could be a promising drug delivery system, warranting further research to optimize their application in cancer treatment.

Keywords: Niosome, acetaminophen, Colon Cancer, Cytotoxicity, Apoptosis

1-Department of Biology, Parand Branch, Islamic Azad University, Parand, Iran
2-Department of Biology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

* Corresponding Author:Email: Bio_mar.abbasi@yahoo.com

How to cite this article: Mirzaie A, Abbasi M. Design, synthesis and formulation of niosomes containing acetaminophen: structural properties, anticancer effects and apoptotic gene expression analysis. Alborz University Medical Journal 2024; 14 (1): 59-81

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2026-11-23]

[DOI: 10.61186/aums.14.1.59]

AUMJ Journal
Alborz University of Medical Sciences
نشریه دانشگاه علوم‌پزشکی البرز، زمستان ۱۴۰۳، دوره ۱۴، شماره ۱، صفحه‌های ۸۱-۵۹

طراحی، سنتز و فرمولاسیون نیوزوم‌های حاوی استامینوفن: بررسی خصوصیات ساختاری، اثرات ضدسرطانی و آنالیز بیان ژن‌های آپوپتوزی

امیر میرزایی[1]
مریم عباسی[2*]

چکیده

زمینه و هدف: نیوزوم‌ها یکی از سیستم‌های دارورسانی هدفمند جدید هستند که خواص بیولوژیکی داروها را افزایش می‌دهند. هدف این مطالعه، سنتز نیوزوم‌های حاوی استامینوفن، بررسی خصوصیات ساختاری، بررسی خصوصیات سمیت سلولی و آنالیز بیان ژن‌های آپوپتوزی بود.

روش کار: در این مطالعه، فرمولاسیون‌های مختلف از نیوزوم‌های حاوی استامینوفن سنتز شده و خصوصیات ساختاری آن توسط روش‌های میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)، پراکندگی نور دینامیکی (DLS) و روش طیف‌سنجی تبدیل فوریه فروسرخ (FTIR) بررسی شد و به دنبال آن اثرات سمیت سلولی آن بر روی رده سلولی سرطان کولون (HT۲۹) با استفاده از روش رنگ‌سنجی MTT بررسی شد. در انتها، میزان بیان ژن‌های آپوپتوزی Bax و Bcl۲ بررسی شد.

یافته‌ها: نتایج سنتز نیوزوم‌ها نشان داد که فرمولاسیون Nio۱ فرمولاسیون بهینه بوده و دارای سایز ۲۸۹/۶ نانومتر بود. هم چنین نتایج FTIR سنتز نیوزوم‌ها را تایید نمود. به دنبال آن، تست رهایش دارو نشان داد که میزان رهایش دارو در حالت نیوزومه به مراتب آهسته‌تر از داروی آزاد است بطوریکه میزان رهایش دارو در مدت زمان ۸ ساعت، ٪۲۸ بود. نیوزوم‌های حاوی استامینوفن دارای اثرات سمیت سلولی معناداری علیه رده سلولی HT۲۹ بود و بیان ژن‌های آپوپتوزی Bax و Bcl۲ به ترتیب به میزان ($p>0/01$) ۲/۱۴±۰/۳۴ افزایش، ۰/۱۱±۰/۴۶ ($p>0/01$) کاهش یافت.

نتیجه‌گیری: به‌طورکلی نتایج این مطالعه نشان داد که نیوزوم‌های حاوی استامینوفن دارای اثرات سمیت سلولی معناداری علیه رده سلولی HT۲۹ بوده و می‌تواند بیان ژن‌های آپوپتوزی را افزایش دهد؛ بنابراین می‌توان با مطالعات بیشتر از نیوزوم‌ها به‌عنوان یک سیستم تحویل دارو استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: نیوزوم، استامینوفن، اثرات سمیت سلولی، آپوپتوز

۱ گروه زیست‌شناسی، واحد پرند، دانشگاه آزاد اسلامی، پرند، ایران
۲ گروه زیست‌شناسی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

* نویسنده مسئول:
Email: Bio_mar.abbasi@yahoo.com

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2026-11-23]

[DOI: 10.61186/aums.14.1.59]

مقدمه

سرطان وضعیتی است که در آن سلول‌ها به طور غیرقابل‌کنترلی تکثیر می‌شوند و بدخیمی‌های تهاجمی تولید می‌کنند که منجر به مرگ میلیون‌ها نفر در سال می‌شود [۱]. همچنین، سرطان یک موضوع مهم بهداشت عمومی جهانی است و دارای دومین نرخ مرگ و میر در ایالات متحده است و حدود ۶۱۰۰۰۰ مورد مرگ و میر در سال ۲۰۲۲ را به خود اختصاص داده است [۲]. سرطان کولون یک نوع سرطان است که یکی از جدیدترین بیماری‌های بدخیم تشخیص داده شده در نظر گرفته می‌شود [۳]. میزان بروز مرگ و میر در مردان به ویژه در کشورهای توسعه یافته بیشتر از زنان است، بطوریکه میزان شیوع آن، رتبه سوم را در ایالات متحده دارد [۴]. شیمی درمانی یک نوع روش درمانی رایج سرطان است که به طور گسترده در سرتاسر دنیا از آن استفاده می‌شود. دوز بالای شیمی درمانی منجر به ایجاد انواع عوارض جانبی و آسیب به سایر سلول‌های سالم می‌شود [۵]. علاوه بر این، مطالعات نشان داده است که سلول‌های سرطانی پس از قرار گرفتن در معرض طولانی مدت دارو، مقاومت دارویی ایجاد می‌کنند. در نتیجه، اجتناب از سلول‌های سالم و به طور خاص هدف قرار دادن سلول‌های بدخیم، هدف اصلی تحقیقات سرطان می‌باشد [۶]. برای این منظور، داروهای جدید توسط شرکت های دارویی در حال توسعه هستند [۷]. استامینوفن دارویی است که در چند دهه گذشته به طور کامل مورد مطالعه قرار گرفته است و به عنوان یک داروی بی‌خطر در نظر گرفته می‌شود. استامینوفن به طور معمول به عنوان یک داروی مسکن/ضد تب استفاده می‌شود که به شکل یک محصول بدون نسخه در سراسر جهان قابل دسترسی می‌باشد [۸]. استامینوفن به عنوان یک دارو دارای حلالیت بالا و نفوذپذیری کم طبقه بندی می‌شود و در صورت مصرف بیش از حد استامینوفن، گلوتاتیون درون سلولی کاهش می‌یابد و N-acetyl-p-benzoquinone imine به پروتئین‌های سلولی، عمدتاً در داخل کبد، متصل می‌شود که منجر به سمیت سلولی می‌شود. برخی از کارآزمایی‌های بالینی نشان میدهد دوز بالا استامینوفن میتواند اثرات ضدسرطانی داشته باشد. مطالعات حیوانی نشان میدهد که استامینوفن با دوز بالا دارای خواص ضدتوموری از طریق اختلال در مسیر سیگنالینگ JAK-STAT، در سلول‌های توموری می‌شود [۹].

علم نانوتکنولوژی برای فرمولاسیون داروهای شیمی درمانی برای افزایش اثربخشی درمانی آنها به کار گرفته شده است. نانوحامل‌ها میتوانند به طور اختصاصی باعث تجمع دارو در بافت سرطانی به دلیل افزایش نفوذپذیری و اثر ماندگاری شوند [۱۰]. ایـــن فرآیند تجمع دارو در محل سلول‌های تومور، در گردش دارو جهت دارورسانی مؤثر، تاثیرگذار است [۱۱]. نانوحامل های متعددی از جمله ایمونوگلوبولین، پروتئین‌های سرم، پلیمرهای مصنوعی، لیپوزوم‌ها، میکروسفرها، گلبول‌های قرمز و نیوزوم‌ها برای افزایش هدف‌گیری دارو استفاده شده‌اند [۱۲]. نیوزوم‌ها ساختارهای غیریونی سورفکتانت، چندلایه‌ای یا تک لایه‌ای هستند که اندازه آنها بین ۱۰ تا ۱۰۰۰۰ نانومتر است. نیوزوم‌ها حامل‌های دارویی بینظیری هستند که توسط ترکیبی از کلسترول و سورفکتانت های غیر یونی سنتز میشوند [۱۳]. نیوزوم‌ها می‌توانند پایداری یکسانی را برای داروهای آبگریز و آبدوست فراهم می‌کنند و در عین حال زیست‌سازگار، زیست تخریب‌پذیر، ارزان قیمت هستند [۱۴]. فرمولاسیون نیوزومال برای دارورسانی و هدف‌گیری تومور برای ایجاد یک فرمول پایدار، غیر سمی، زیست تخریب پذیر، غیر ایمنی زا با دارو با فراهمی زیستی خوب ضروری است ۱۵. نیوزوم‌ها همچنین مدت زمانی را که دارو در جریان خون می گذراند افزایش می‌دهد، بنابراین، آنها به عنوان حاملی برای تحویل مداوم و/یا کنترل‌شده داروها به مکان‌های مورد نظر وعده می‌دهند ۱۶. نیوزوم‌ها دارای مزایای بیشتری نسبت به سایر نانوذرات لیپیدی مانند لیپوزوم ها دارند، زیرا پایداری شیمیایی بیشتر، ماندگاری طولانی، خلوص بالا، یکنواختی محتوا، هزینه کم و ذخیره سازی راحت دارند. نیوزوم‌ها توانایی طولانی کردن گردش داروهای به دام افتاده، به حداقل رساندن تخریب و غیرفعال شدن دارو پس از تجویز را دارند که به جلوگیری از عوارض جانبی نامطلوب و سمیت، افزایش فراهمی زیستی دارو و هدف قرار دادن داروی محبوس شده در ناحیه پاتولوژیک کمک می‌کند [۱۷]. هدف از این مطالعه، سنتز نیوزوم‌های حاوی استامینوفن، تایید خصوصیات ساختاری آن، بررسی اثرات ضدسرطانی و تاثیر آن بر بیان ژن‌های آپوپتوزی در رده سلولی سرطان کولون (HT۲۹) بود.

مواد و روش‌ها

سنتز نیوزوم‌های حاوی استامینوفن

روش هیدراتاسیون لایه نازک برای تهیه نیوزوم لود شده با استامینوفن استفاده شد. به طور خلاصه، برای تهیه نیوزوم‌های بارگذاری شده با استامینوفن، مقادیر مختلف کلسترول، اسپن ۶۰ (Span۶۰) و توئین (Tween ۶۰) در مخلوطی از حلال‌های کلروفرم و متانول (نسبت ۲:۱) حل شدند (جدول ۱). سپس محلول به‌دست‌آمده کاملاً هم زده شد تا اجزاء کاملاً حل شوند. محلول به‌دست‌آمده را در یک فلاسک دوار مخصوص ریخته و

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2026-11-23]

[DOI: 10.61186/aums.14.1.59]

در شرایط موردنظر (۶۰ درجه سانتی‌گراد و ۱۵۰ دور در دقیقه) در خلاء قرار میدهیم تا حلال کاملاً تبخیر شود. سپس در مرحله هیدراتاسیون، ۱۰ میلی‌لیتر بافر فسفات حاوی ۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر استامینوفن به فیلم لیپیدی تهیه شده در دمای انتقال فاز بالا (۶۰ درجه سانتیگراد) اضافه شد و با استفاده از دستگاه چرخشی با سرعت ۱۲۰ دور در دقیقه چرخش به مدت نیم ساعت. برای هیدراتاسیون مناسب پس از اتمام فرایند هیدراتاسیون، برای کاهش اندازه ذرات، فراصوت به مدت ۶ دقیقه انجام شد ۱۸.

راندمان انکپسولاسیون

راندمان کپسولاسیون (Encapsulation efficiency, EE٪) به داروی محصور شده در ساختار نیوزوم در مقایسه با داروی اولیه مورداستفاده اشاره دارد. برای این منظور، نیوزوم‌های سنتز شده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و سرعت ۱۴۰۰۰ گرم به مدت ۴۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. نیوزوم‌های لود شده با استامینوفن رسوب می‌کنند و استامینوفن‌های آزاد در مایع رویی باقی می‌مانند. جذب نمونه رویی توسط اسپکتروفتومتر در طول‌موج ۲۶۵ نانومتر خوانده شد و مقدار داروی آزاد محاسبه و از مقدار اولیه دارو کم شده و از آن EE٪ محاسبه می‌شود [۱۹].

$$\text{راندمان انکپسولاسیون} = ۱۰۰ \times \frac{(\text{میزان داروی آزاد} - \text{میزان داروی اولیه})}{(\text{میزان داروی اولیه})}$$

تست‌های تأییدی ساختار نیوزوم‌های سنتز شده

میکروسکوپ الکترونی روبشی (Scanning Electron Microscope, SEM) برای بررسی ویژگی‌های مورفولوژیکی نیوزوم‌های لود شده با استامینوفن استفاده شد. همچنین برای تعیین اندازه، از پراکندگی نور دینامیکی (Dynamic Light Scattering (DLS)) و از روش تحلیل طیف‌سنجی فروسرخ (Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR))) برای بررسی گروه‌های عملکردی سطح نیوزوم‌های تولید شده استفاده شد.

بررسی میزان آزادسازی دارو

در این مطالعه، انتشار دارو به‌صورت پویا ارزیابی می‌شود، به‌این‌ترتیب، ۲ میلی لیتر از نیوزوم‌های بارگذاری شده با دارو و همچنین داروی آزاد به طور جداگانه در کیسه دیالیز (وزن مولکولی ۱۲ کیلو دالتون) قرار می گیرند. هر یک از کیسه‌ها در یک فلاسک حاوی ۵۰ میلی لیتر سالین بافر فسفات (PBS) در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد معلق می‌شوند. فلاسک ها با کیسه حاوی نیوزوم حاوی دارو و دارو آزاد روی همزن قرار می‌گیرند. نمونه برداری در ساعات مختلف انجام می‌شود، به این صورت که ۱ میلی لیتر PBS حاوی کیسه دیالیز حذف و ۱ میلی لیتر PBS با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد جایگزین می‌شود. نمونه برداری تا ۷۲ ساعت در بازه های زمانی مشخص (۱،۲،۴،۸،۲۴،۴۸،۷۲ساعت) انجام می‌شود. جذب نوری نمونهها توسط اسپکتروفتومتر UV در طول موج ۲۶۵ نانومتر خوانده شد و نمودار درصد آزادسازی تجمعی دارو از نیوزوم به مدت ۷۲ ساعت ترسیم شد [۲۰].

بررسی اثرات سمیت سلولی

سمیت سلولی نیوزوم‌های بارگذاری شده با دارو با استفاده از یک روش رنگ‌سنجی (MTT) علیه رده سلولی سرطان کولون (HT۲۹) موردمطالعه قرار گرفت. برای این منظور رده سلولی از بانک سلولی انستیتو پاستور ایران تهیه شد. سپس سلول‌ها به طور جداگانه با تراکم ۱۰ ۴ سلول در هر چاهک در یک پلیت ۹۶ چاهکی به مدت ۲۴ ساعت کشت داده شدند. سپس سلول‌ها با غلظت‌های مختلف نیوزوم‌های بارگذاری‌شده با دارو (۳/۱۲۵ تا ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) و نیوزوم آزاد تیمار شدند و پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون، محلول رنگی MTT ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در PBS به چاهک‌ها اضافه و در انکوباتور به مدت ۳ ساعت نگهداری شد. محلول رویی خارج شد و ۱۰۰ میکرولیتر محلول دی متیل سولفوکساید (DMSO) به چاهک ها اضافه شد و جذب تمام چاهک ها در طول موج ۵۷۰ نانومتر خوانده شد میزان بقای سلولی محاسبه شد ۲۱. لازم به ذکر است در این تست، کنترل منفی سلول‌های تیمار نشده و کنترل مثبت سلول‌های تیمار شده با DMSO (۰/۲۲ درصد) است.

بررسی بیان ژن‌های آپوپتوزی

جهت اندازه‌گیری بیان ژن‌های آپوپتوزی شامل *Bax* و *Bcl*۲ با روش Real-Time PCR اندازه‌گیری شد. ابتدا RNA کل سلول‌های تیمار شده و تیمار نشده با نیوزوم‌های بارگذاری شده با نیوزوم و داروی آزاد با استفاده از کیت استخراج RNA (Qiagen، ایالات متحده آمریکا) طبق دستورالعمل آن استخراج شد. سنتز DNA مکمل با کیت سنتز cDNA (فرمنتاز، لیتوانی) انجام شد. برای انجام Real-Time PCR از پرایمرهای اختصاصی ژن‌های هدف *Bax*، *Bcl*۲ و ژن خانه‌دار (Beta-actin) به‌عنوان کنترل داخلی استفاده شد. توالی پرایمر معکوس ژن هدف *Bax* ۳-TTGCTTCAGGGTTTCATCCAG-۵' و معکوس ۳-AGCTTCTTGGTGGACGCATC-۵' بود. توالی پرایمر معکوس ژن هدف *Bcl*۲ ۳-TGTGGATGACTGAGTACCTGAACC-۵'، و

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2026-11-23]

[DOI: 10.61186/aums.14.1.59]

معکوس 5'-CAGCCAGGAGAGAAATCAAACAGAG-3' و برای ژن مرجع Beta-actin به عنوان 5'-CGTCTGCCCTATCAACTTTCG-3' و معکوس 5'-CATTTCAGCTG-3' بود ۲۲.

تحلیل آماری

تمامی آزمون‌های این مطالعه ۳ بار تکرار شد و نتایج با نرم‌افزار GraphPad Prism نسخه ۸ با استفاده از روش One-Way ANNOVA آنالیز شد و $p<0/05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

سنتز نیوزوم‌های بارگذاری شده با استامینوفن و بررسی ویژگی‌های ساختاری

در این مطالعه، فرمولاسیون‌های مختلف نیوزوم‌های حاوی استامینوفن سنتز شد (جدول ۱) و بر این اساس فرمولاسیون F1 به عنوان فرمولاسیون برتر جهت ادامه مطالعه انتخاب گردید به طوری که دارای درصد EE بالاتر و اندازه کوچکتر در مقایسه با فرمولاسیون های دیگر بود (جدول ۲). نتایج SEM نشان می دهد که نیوزوم‌های سنتز شده دارای ساختار کروی هستند (شکل ۱) و همچنین نتایج DLS نشان داد که اندازه بهینه نیوزوم‌های سنتز شده ۶/۲۸۹ نانومتر است (شکل ۲).

جدول ۱. سنتز چند فرمولاسیون نیوزومی از استامینوفن

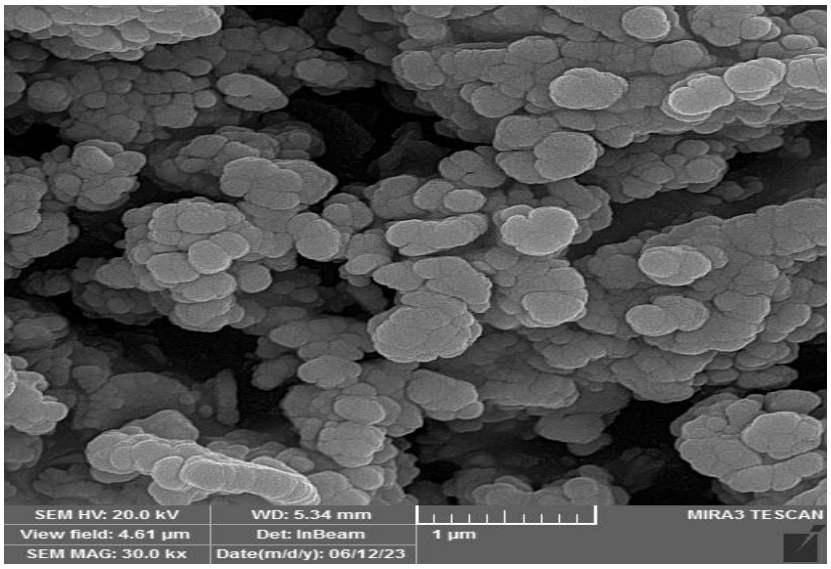
فرمولاسیون	غلظت استامینوفن (mg/ml)	نوع سورفکتانت	مقدار لیپید (µmol)	نسبت مولی سورفکتانت به کلسترول	نسبت مولی اسپن ۶۰/توئین ۶۰	زمان سونیکاسیون (min)
Nio۱	۱	اسپن ۶۰	۲۰۰	۱:۱	۱۰۰:۰	۶
Nio۲	۱	اسپن ۶۰	۲۰۰	۱:۱	۵۰:۵۰	۶
Nio۳	۱	اسپن ۶۰	۲۰۰	۱:۱	۰:۱۰۰	۶
Nio٤	۱	اسپن ۶۰	۲۰۰	۲:۱	۱۰۰:۰	۶
Nio۵	۱	اسپن ۶۰	۲۰۰	۲:۱	۰:۱۰۰	۶
Nio۶	۱	اسپن ۶۰	۲۰۰	۲:۱	۵۰:۵۰	۶
Nio۲-B	–	اسپن ۶۰	۲۰۰	۱:۱	۵۰:۵۰	۶

جدول ۲. خصوصیات ساختاری فرمولاسیون های مختلف سنتز شده نیوزوم که در آن استامینوفن لود شده است

Formulation	Size (nm)	PDI	EE (%)
Nio1	۲۸۹.۶	۰.۱۱۹	۹۱.٤٤
Nio2	۳۱۲.۵	۰.۲۶۶	۶۰.۸۵
Nio3	۲۹۵.۳	۰.۲۸۷	۵۱.۷٤
Nio4	۳۲۲.۷	۰.۲٤٤	۷۰.۲۶
Nio5	۳۵۰.۶	۰.۱۹۷	۶۱.۵۷
Nio6	٤۱۵.۱	۰.۳۲۵	۵۲.۷۳

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2026-11-23]

[DOI: 10.61186/aums.14.1.59]



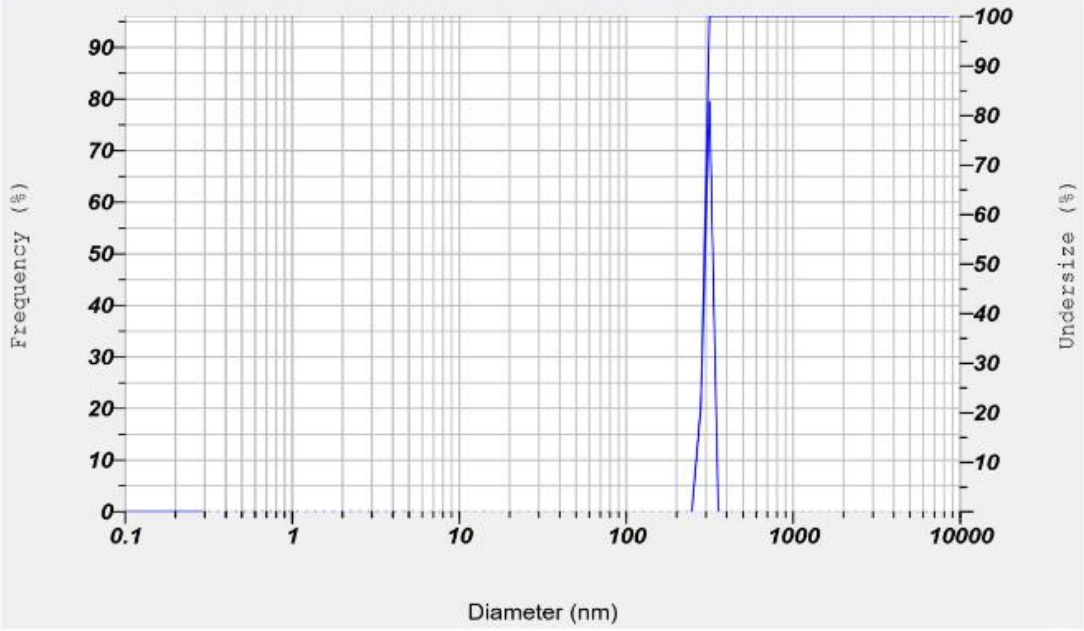
شکل ۱. میکروگراف میکروسکوپ الکترونی روبشی از نیوزوم‌های سنتز شده (نتایج نشان میدهد که نیوزوم‌های سنتز شده کروی هستند)

Calculation Results

Peak No.	S.P.Area Ratio	Mean	S. D.	Mode
1	1.00	289.6 nm	13.8 nm	292.0 nm
2	---	--- nm	--- nm	--- nm
3	---	--- nm	--- nm	--- nm
Total	1.00	289.6 nm	13.8 nm	292.0 nm

Cumulant Operations

Z-Average : 2437.1 nm
PI : 1.657

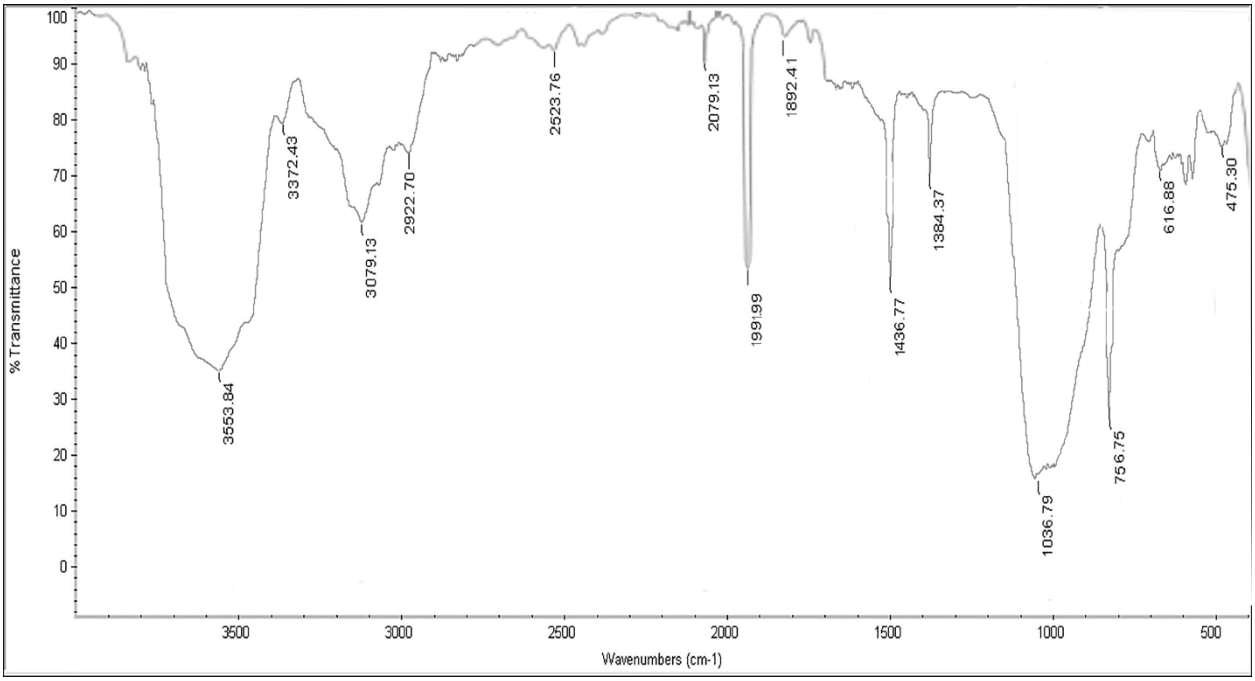


شکل ۳. نتایج DLS جهت اندازه گیری سایز نیوزوم‌های سنتز شده

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2026-11-23]
[DOI: 10.61186/aums.14.1.59]

FTIR نیوزوم حاوی استامینوفن

در این طیف پیک مشاهده شده در عدد موج حدود cm^{-1} ۳۳۷۲ مربوط به ارتعاش کششی پیوندهای O-H موجود در ساختارهای هیدروکسیلی استامینوفن است. همچنین ارتعاش کششی نامتقارن و متقارن پیوندهای C-H در ساختار این ماده پیک‌های جذبی در عدد موج‌های حدود cm^{-1} ۲۹۲۲، cm^{-1} ۲۵۲۳ و cm^{-1} ۲۰۷۹ نشان داده است. به‌علاوه پیک مربوط به ارتعاش خمشی مولکول‌های آب یا پیوندهای هیدروکسیلی در عدد موج حدود cm^{-1} ۱۸۹۲ و پیک مربوط به ارتعاش کششی پیوندهای C=C در حلقه‌های آروماتیکی در عدد موج حدود cm^{-1} ۱۴۳۶ واقع شده است. همچنین پیک‌های مربوط به ارتعاش خمشی پیوندهای C-H در ساختارهای متیلی و متیلنی در این ماده به ترتیب در عدد موج‌های حدود cm^{-1} ۱۰۳۶ واقع شده است (شکل ۳).



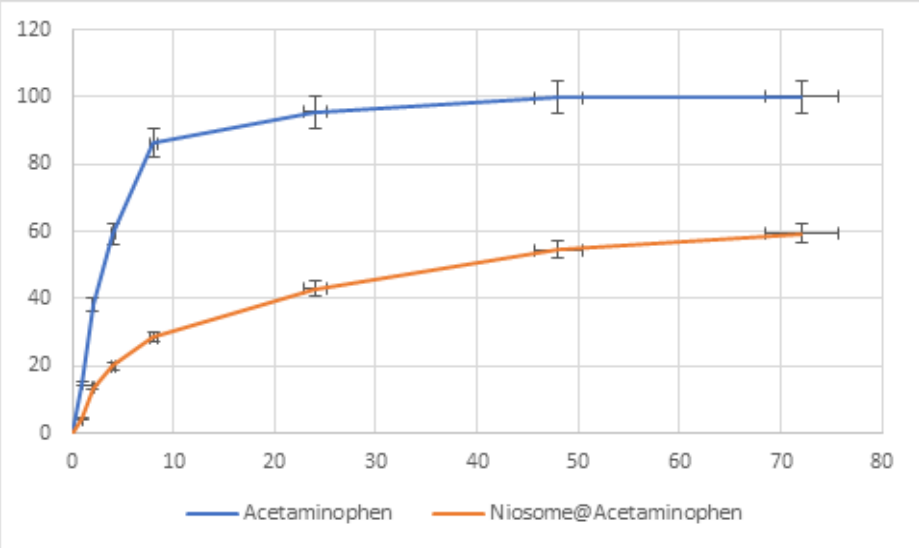
شکل ۳. FTIR **نیوزوم‌های حاوی استامینوفن سنتز شده**

تست میزان آزادسازی دارو

شکل ۴ فرآیند آزادسازی تجمعی شکل آزاد دارو و نیوزوم‌های بارگذاری شده با دارو را در محیط آزادسازی فسفات بافر سالین (PBS) به مدت ۷۲ ساعت نشان می دهد. برای شبیه‌سازی و نزدیک‌تر کردن محیط انتشار به شرایط واقعی و in vivo، از محیط انتشار PBS برای فاز گیرنده استفاده شد، آزادسازی دارو از شکل نیوزومی (۵۹٪) کمتر از دارو آزاد (۱۰۰) است (۷۲ ساعت). در انتشار داروی آزاد، ۸۶ درصد از دارو در ۸ ساعت اول در محیط آزاد شدند، اما برای نیوزوم‌های حاوی استامینوفن، ۲۸ درصد از دارو از شکل نیوزومی در ۸ ساعت پس از انتشار آزاد شدند. بر اساس نتایج، رهاسازی دارو از حالت نیوزومه در ۲ مرحله انجام می شود. مرحله اولیه ۰ تا ۸ ساعت، زمانی که انتشار دارو بسیار سریع و انفجاری است، دارو را به محیط انتشار منتشر می کند. مرحله دوم مرحله آهسته رهش است که در آن دارو به مدت ۷۲ ساعت به آرامی در محیط آزاد پخش می شوند (شکل ۴).

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2026-11-23]

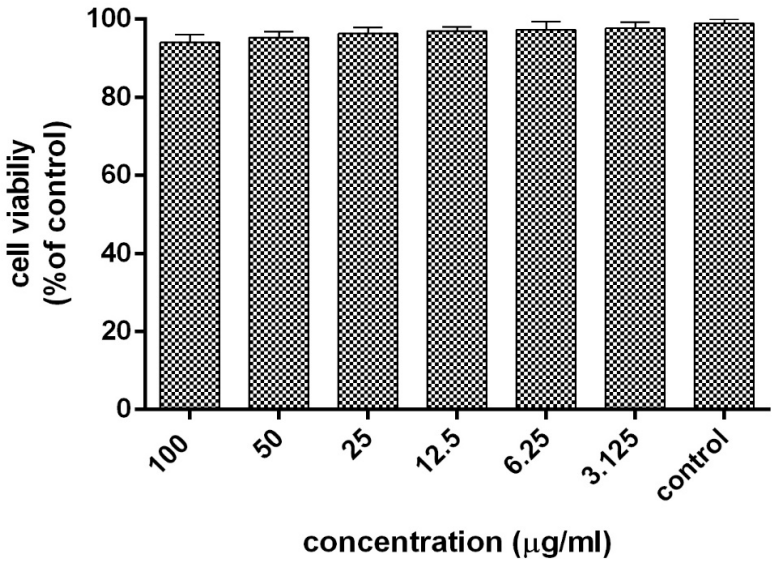
[DOI: 10.61186/aums.14.1.59]



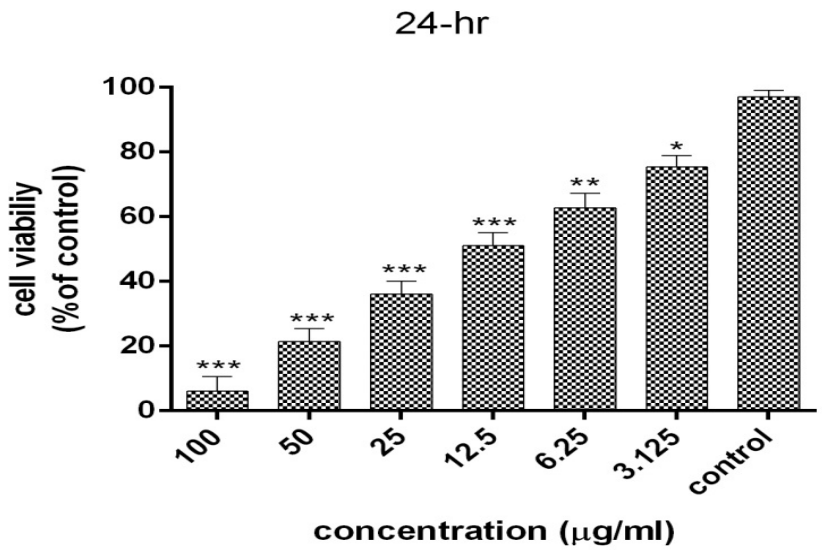
شکل ٤. تست آزادسازی دارو از نیوزوم در مدت زمان ۷۲ ساعت (داروی آزاد با نیوزوم حاوی دارو مقایسه شده است)

نتایج تیمار سلول‌ها با نیوزوم‌ها

جهت بررسی اثرات سمیت نیوزوم‌های حاوی استامینوفن و نیوزوم آزاد علیه رده سلولی HT۲۹ از روش رنگ‌سنجی MTT استفاده شد که میزان بقای سلولی بررسی شد. در این تست، غلظت‌های مختلفی از نیوزوم‌ها شامل ۳/۱۲۵-۱۰۰ µg/ml استفاده شد که پس از تیمار سلول‌ها در مدت‌زمان ۲۴ ساعت میزان بقای سلولی محاسبه شد. نتایج میزان بقای سلولی نشان داد که در غلظت‌های ذکر شده به ترتیب میزان بقای سلولی ۷۲/۲۳±۰/۳۲ ($p<0/05$)، ۵۵/۳۲±۰/۲۳، ۴۵/۱۲±۰/۲۳، ۳۱/۳۶±۰/۴۱، ۱۸/۶۹±۰/۵۱، ۱۰/۲۵ ±۰/۱۶ ($p<0/001$) بود (شکل 5a). هم چنین اثرات سمیت سلولی نیوزوم‌های آزاد نشان داد که دارای سمیت سلولی معناداری نسبت به گروه کنترل (تیمار نشده) ندارند ($p<0/05$).



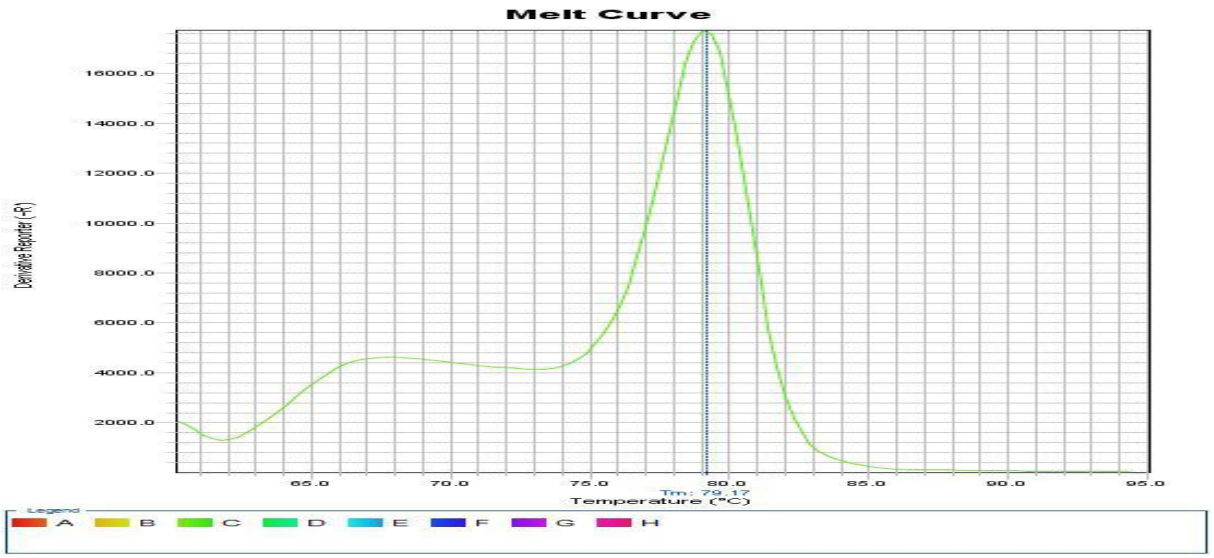
[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2026-11-23]
[DOI: 10.61186/aums.14.1.59]



شکل ۵. درصد بقای سلول‌های رده HT۲۹ در برابر غلظت های مختلف نیوزوم‌های حاوی استامینوفن (a) و نیوزوم آزاد (b)؛ میزان بقای سلولی با در نظر گرفتن گروه کنترل محاسبه شده است (*: P ۰/۰۵ >، **: P >۰/۰۱، * n/۰۰۱ : P <۰=۳).**

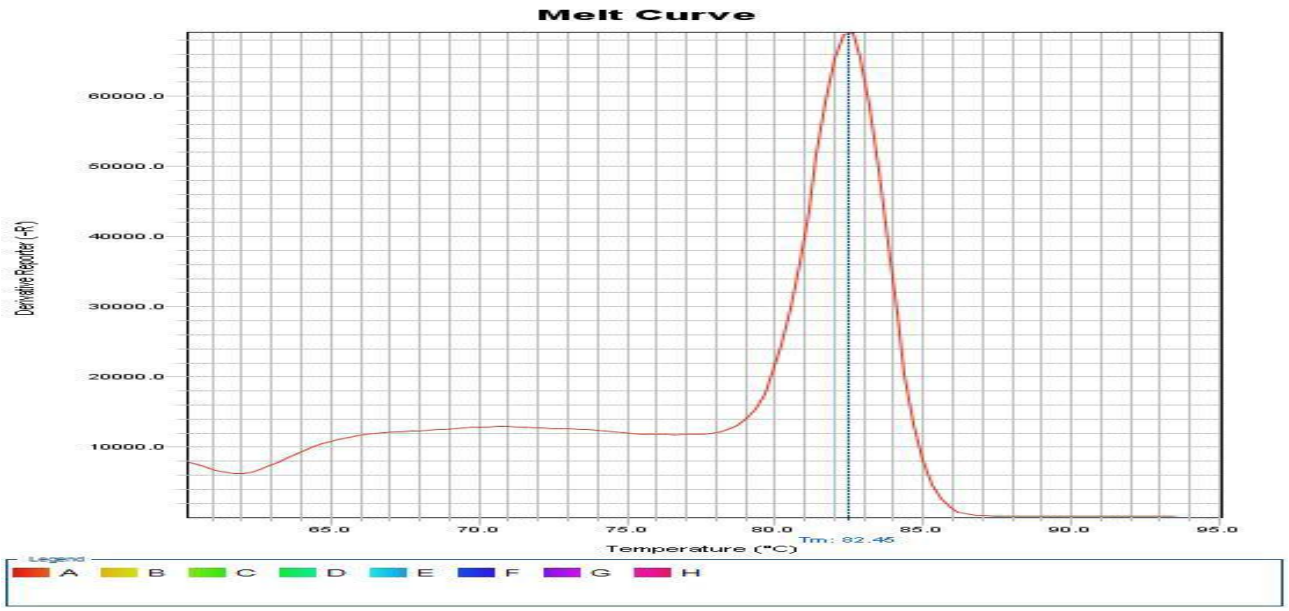
بررسی بیان ژن‌های مرتبط با آپوپتوز

در ایـــن تست، جهت تأیید از تکثیر ژن موردنظر، عدم ایجاد پرایمر دایـــمر و عدم تکثیریافتن سایر ژن‌های غیرمرتبط، از آنالیز منحنی ذوب استفاده شده (شکل ۶). در شکل ۶ منحنی ذوب ژن‌های *Bax* و *Bcl۲*، در رده سلولی HT۲۹ نشان داده شده است. ۱- الگوی منحنی ذوب ژن *Bcl* ۲ در دمای C^{o} ۸۰، ۳-الگوی منحنی ذوب ژن *Bax* در دمای C^{o} ۸۲ می‌باشد. تغییر در بیان ژن‌ها در سلول‌های HT۲۹ تیمار شده با نیوزوم‌ها طی ۲۴ ساعت ارزیابی شد. نسبت بیان ژن *Bax* به ژن مرجع در رده سلولی سرطانی HT۲۹ تیمار شده با نیوزوم‌ها نسبت به ژن مرجع Beta-actin در رده سلولی HT۲۹ تیمار شده با نیوزوم‌ها طی ۲۴ ساعت به ترتیب به میزان (p> ۰/۰۱) ۲/۱۴±۰/۳۴ افزایش یافت در صورتیکه میزان بیان ژن *Bcl۲* در سلول‌های HT۲۹ تیمار شده با استامینوفن نسبت به ژن مرجع ۰/۴۶±۰/۱۱ کاهش یافت (شکل ۷).



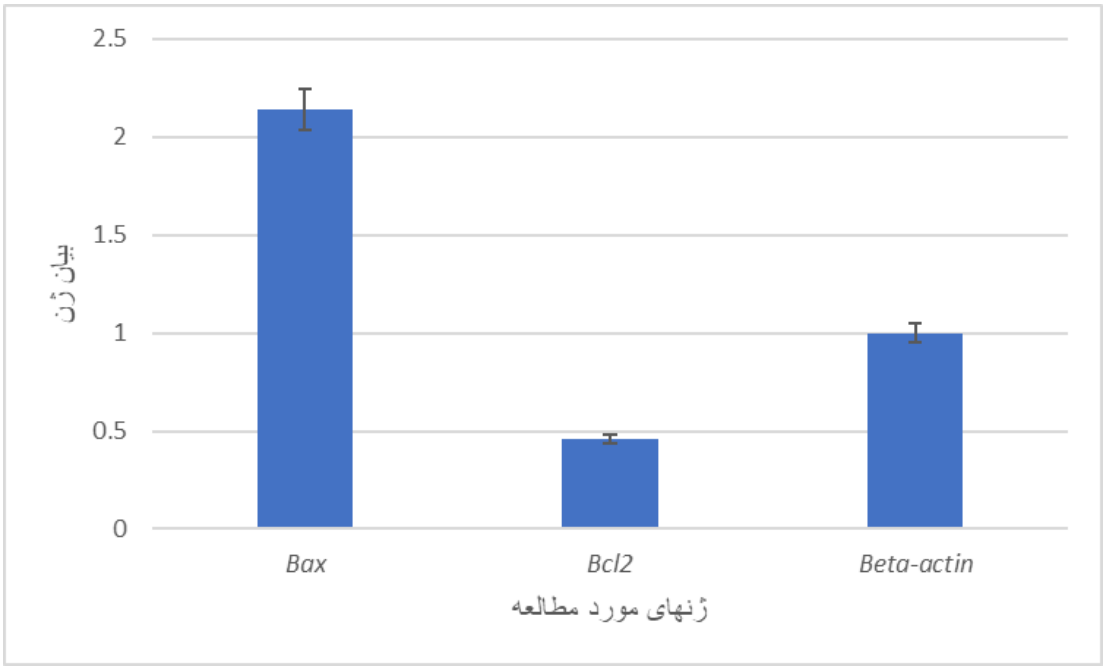
[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2026-11-23]

[DOI: 10.61186/aums.14.1.59]



***

شکل ٦. منحنی ذوب ژن ۸۲) Bax درجه سانتی گراد) و ۸۰) Bcl۲ درجه سانتی گراد).



شکل ۷. میزان بیان ژن‌های *Bax* و *Bcl*۲ نسبت به ژن مرجع بتااکتین. نتایج به صورت مقایسه با ژن کنترل گزارش شده است (* n/۰۰۱ : P < ۰/۰۰۳).**

بحث

مطالعات نشان می‌دهد که بیماری سرطان به‌عنوان یک عامل مرگ‌ومیر شایع در کل دنیا محسوب می‌شود که تاکنون از روش‌های اشعه‌درمانی و شیمی‌درمانی استفاده می‌شود که این روشها دارای معایب هستند [۲۳]. از ایـــن معایب، می‌توان به اثرات جانبی این روش‌ها بر سایر سلول‌های سالم می‌باشد. محققان در پی یافتن راهکارهای جدید درمانی می‌باشند که یکی از ایـــن روش‌ها، روش‌های مبتنی بر نانوتکنولوژی می‌باشد که مطالعات و پیشرفت های زیادی در این حوزه مشاهده شده است[۲۴]. بسیاری از این

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2026-11-23]
[DOI: 10.61186/aums.14.1.59]

پیشرفت‌ها در حوزه استفاده از سیستمهای نانو حمل دارو میباشد. داروهای ضدسرطان رایج مورد استفاده در درمان سرطان، میتوانند علاوه بر سلول‌های سرطانی، سلول‌های نرمال ر نیز تاثیر قرار دهند. با توجه به اینکه داروهای ضدسرطان در دوزهای بالا استفاده می شوند منجر به ایجاد اثرهای جانبی زیادی می شوند. [۲۵]. یکی از ویژگیهای استفاده از سیستم‌های نانوحمل دارو، افزایش میزان پایداری داروها در سیستم گردش خون می باشد. نکته دیگر، نانوذرات که دارای سایز نانومتر هستند می‌توانند از سیستم ایمنی میزبان و فاگوسیته شده در امان باشند[۲۶].

در ایـــن مطالعه از سیستم نیوزوم جهت انکپسولاسیون داروی استامینوفن استفاده شد، طوری که فرمولاسیون‌های مختلفی از نیوزوم‌ها سنتز شد و خصوصیات سایز و درصد EE آن محاسبه شد. نتایج نشان داد که فرمولاسیون Nio۱، فرمولاسیون برتر بود و دارای درصد EE بالاتر و اندازه کوچک‌تر در مقایسه با فرمولاسیون‌های دیگر بود. هم چنین جهت بررسی شکل ظاهری و اندازه نیوزوم‌های سنتز شده از روش میکروسکوپ الکترونی روبشی و DLS استفاده شد. نتایج نشان داد که نیوزوم‌های سنتز شده دارای شکل ظاهری کروی با اندازه ۲۸۹/۶ نانومتر بودند. مطالعات مختلفی در زمینه سنتز نیوزوم‌های حاوی دارو و بررسی خصوصیات آن انجام شده است. Sharjeel Abid و همکارانش نانوفیبرهای حاوی استامینوفن سنتز کردند و خصوصیات فیزیکی و شیمیایی نانوفیبرها را بررسی نمودند. نتایج نشان داد که قطر نانوذرات بین ۱۸۵ تا ۳۷۵ نانومتر است Swati De .[۲۷] و همکارانش، نیوزوم‌های لود شده با نانوذرات طلا را سنتز کردند و خواص آنها را با استفاده از میکروسکوپ الکترونی و DLS بررسی کردند. نتایج آنها نشان داد که نیوزوم‌های سنتز شده کروی هستند و اندازه نیوزوم‌های سنتز شده بین ۱۰۰ تا ۲۰۰۰ نانومتر است[۲۸]. Nusaiba K Al-Nemrawi فرمولاسیون‌هایی از نانوپارتیکل PLGA حاوی استامینوفن سنتز نمودند و سایز و میزان EE٪ محاسبه گردید. نتایج این مطالعه نشان داد که نانوپاتیکل‌های سنتز شده دارای اندازه متوسط ۱۰ تا ۱۰۰۰ نانومتر و میزان EE٪ برابر با ۹۰٪ است [۲۹]. در ادامه مطالعه، میزان رهایش دارو توسط کیسه دیالیز مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که میزان رهایش دارو از نیوزوم آهسته روش بوده و در ساعات اولیه آزادسازی انفجاری است. سرعت رهاسازی دارو از نیوزوم به ترکیب آن بستگی دارد، نیوزوم‌هایی که دارای سیالیت غشای سفت‌تری هستند، رهایش آهسته‌تری دارند. همچنین چندین مطالعه نشان داده است که استفاده از توئین ۸۰ در تهیه نیوزوم‌ها باعث سیالیت آنها و افزایش سرعت رهاسازی غشای وزیکول می‌شود[۳۰].

یکی دیگر از اهداف این مطالعه، بررسی اثرات سمیت سلولی و آپوپتوزی نیوزوم‌های حاوی استامینوفن بود. نتایج نشان داد که نیوزوم‌های حاوی استامینوفن دارای سمیت سلولی معناداری علیه رده سلولی HT۲۹ بود طوری که در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میکرولیتر در میلی لیتر میزان کاهش بقای سلولی ۱۸/۶۹±۰/۵۱ (P<۰/۰۰۱) ۱۰/۲۵ ±۰/۱۶ (P<۰/۰۰۱) بود. هم چنین نتایج نشان داد که نیوزوم‌های حاوی استامینوفن طی ۲۴ ساعت میزان بیان ژن *Bax* را به میزان (P>۰/۰۱) ۲/۱۴±۰/۳۴ افزایش داد در صورتیکه میزان بیان ژن *Bcl*۲ در سلول‌های HT۲۹ تیمار شده با استامینوفن نسبت به ژن مرجع ۰/۴۶±۰/۱۱ کاهش یافت. مطالعات مختلفی در زمینه بررسی اثرات سمیت سلولی نیوزوم‌ها انجام شده است. رضایی و همکارانش نانوذرات طلا را در نیوزوم‌ها بارگذاری کرد و اثرات سیتوتوکسیک آن‌ها را بر روی رده سلولی سرطان تخمدان انسان ارزیابی کرد. نتایج این مطالعه نشان داد که نانوذرات طلای بارگذاری شده با نیوزوم دارای اثرات سمیت سلولی وابسته به دوز بوده و اثرات سیتوتوکسیک معنی‌داری نسبت به نانوذرات طلای آزاد دارند. مطالعات نشان داده است که اثر کشندگی سلول‌ها، بستگی به زمان و غلظت نانوذرات دارد ۳۱. القا آپوپتوز یا مرگ برنامه ریزی شده سلولی در سلول‌های تیمار شده با نانوذرات، یکی از مکانیسم‌های مورد توجه محققان می‌باشد بطوریکه اثرات سمیت سلول‌های نانوذرات به دلیل تاثیر آنها بر روی متابولیسم تنفسی سلولی نیز می‌باشد. هم چنین افزایش بیان ژن‌های آپوپتوزی در سلول‌های تیمار شده با نانوذرات و راه افتادن آبشار آپوپتوزی توسط بسیاری از محققان به اثبات رسیده است ۳۲.

نتیجه‌گیری

در ایـــن مطالعه، سنتز نیوزوم‌های حاوی استامینوفن، خصوصیات ساختاری، اثرات سمیت سلولی و آپوپتوزی آن مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که نیوزوم‌های سنتز شده دارای ساختار کروی و دارای اندازه میانگین ۲۸۹/۶ نانومتر می‌باشد. هم چنین نتایج نشان داد که نیوزوم‌های سنتز شده دارای اثرات سمیت سلولی معنادار علیه رده سلولی HT۲۹ بوده و می‌تواند آپوپتوز را القا کند. با توجه به نتایج میتوان پیشنهاد داد که نیوزوم‌ها میتوانند اثرات سمیت سلولی را افزایش دهند و به عنوان یک سیستم رهایش دارو جهت اهداف درمانی در آینده مورد استفاده قرار گیرد

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2026-11-23]

[DOI: 10.61186/aums.14.1.59]

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از تمامی همکاران که در انجام این پروژه و در دسترس قراردادن تجهیزات آزمایشگاهی همیاری نمودند، تشکر و قدردانی میگردد

تعارض منافع

نویسندگان تعارضی اظهار نکرده اند.

ملاحظات اخلاقی

ملاحظات اخلاقی مطابق کدهای مصوب دانشگاه رعایت شده است.

مشارکت نویسندگان

نویسندگان به طور مساوی در این مطالعه نقش داشتند.

References

1. WHO Cancer. [(accessed on 14 July 2021)]. Available online: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer
2. Ferlay J., Ervik M., Lam F., Colombet M., Mery L., Piñeros M., Znaor A., Soerjomataram I., Bray F. Global Cancer Observatory: Cancer Today. [(accessed on 14 July 2021)]. Available online:
3. Papamichael D., Audisio R.A., Glimelius B., de Gramont A., Glynne-Jones R., Haller D., Kohne C.H., Rostoft S., Lemmens V., Mitry E., et al. Treatment of colorectal cancer in older patients: International Society of Geriatric Oncology (SIOG) consensus recommendations 2013. Ann. Oncol. Off. J. Eur. Soc. Med. Oncol. 2015;26:463–476.
4. Triantafillidis J.K., Nasioulas G., Kosmidis P.A. Colorectal cancer and inflammatory bowel disease: Epidemiology, risk factors, mechanisms of carcinogenesis and prevention strategies. Anticancer Res. 2009;29:2727–2737.
5. Edwards B.K., Ward E., Kohler B.A., Eheman C., Zauber A.G., Anderson R.N., Jemal A., Schymura M.J., Lansdorp-Vogelaar I., Seeff L.C., et al. Annual report to the nation on the status of cancer, 1975–2006, featuring colorectal cancer trends and impact of interventions (risk factors, screening, and treatment) to reduce future rates. Cancer. 2010;116:544–573.
6. Navarro M., Nicolas A., Ferrandez A., Lanas A. Colorectal cancer population screening programs worldwide in 2016: An update. World J. Gastroenterol. 2017;23:3632–3642.
7. Wilson J.M., Jungner Y.G. Principles and practice of mass screening for disease. Bol. Oficina Sanit. Panam. 1968;65:281–393.
8. Neuwelt AJ, Wu YJ, Knap N, Losin M, Neuwelt EA, Pagel MA, Warmann S, Fuchs J, Czauderna P, Wozniak M. Using acetaminophen's toxicity mechanism to enhance cisplatin efficacy in hepatocarcinoma and hepatoblastoma cell lines. Neoplasia. 2009;11:1003–1011.
9. Kobrinsky NL, Hartfield D, Horner H, Maksymiuk A, Minuk GY, White DF, Feldstein TJ. Treatment of advanced malignancies with high-dose acetaminophen and N-acetylcysteine rescue. Cancer Invest. 1996;14:202–210.
10. Wu YJ, Neuwelt AJ, Muldoon LL, Neuwelt EA. Acetaminophen enhances cisplatin- and paclitaxel-mediated cytotoxicity to SKOV3 human ovarian carcinoma. Anticancer Res. 2013;33:2391–2400.
11. Allen TM. Liposomal drug formulations: Rationale for development and what we can expect for the future. Drugs. 1998;56:747–56.
12. Malhotra M, Jain NK. Niosomes as drug carriers. Indian Drugs. 1994;31:81–6.
13. Udupa N. Niosomes as drug carriers. In: Jain NK, editor. Controlled and novel drug delivery. 1st edition. New Delhi: CBS Publishers and Distributors; 2002.
14. Baillie AJ, Florence AT, Hume LR, Muirhead GT, Rogerson A. The Preparation and propereties of Niosomes-Non ionic surfactant vesicles. J Pharm Pharmacol. 1985;37:863–8.
15. Kaur IP, Garg A, Singla AK, Aggarwal D. Vesicular systems in ocular drug delivery: An overview. Int J Pharm. 2004;269:1–14.

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2026-11-23]

[DOI: 10.61186/aums.14.1.59]

16. Hu C, Rhodes DG. Proniosomes: A Novel Drug Carrier Preparation. Int J Pharm. 1999;185:23–35.

17. Azmin MN, Florence AT, Handjani-Vila RM, Stuart JF, Vanlerberghe G, Whittaker JS. The effect of non-ionic surfactant vesicle (noisome) entrapment on the absorption and distribution of methoterxate in mice. J Pharm Pharmacol. 1985;37:237–42.

18. Szoka F, Jr, Papahadjopoulos D. Comparative properties and methods of preparation of lipid vesicles (liposomes) Annu Rev Biophys Bioeng. 1980;9:467–508. [PubMed] [Google Scholar]

19. Jadon PS, Gajbhiye V, Jadon RS, Gajbhiye KR, Ganesh N. Enhanced oral bioavailability of griseofulvin via niosomes. AAPS PharmSciTech. 2009;10:1186–92.

20. Sheena IP, Singh UV, Kamath R, Uma Devi P, Udupa N. Niosomal withaferin A, with better tumor efficiency. Indian J Pharm Sci. 1998;60:45–8.

21. Baillie AJ, Coombs GH, Dolan TF, Laurie J. Non-ionic surfactant vesicles, niosomes, as delivery system for the anti-leishmanial drug, sodium stibogluconate. J Pharm Pharmacol. 1986;38:502–5.

22. Gregoriadis G. Targeting of drugs: Implications in medicine. Lancet. 1981;2:241–6.

23. Morson B.C. The evolution of colorectal carcinoma. Clin. Radiol. 1984;35:425–431.

24. Zoetemelk M., Ramzy G.M., Rausch M., Nowak-Sliwinska P. Drug-drug interactions of irinotecan, 5-fluorouracil, folinic acid and oxaliplatin and its activity in colorectal carcinoma treatment. Molecules. 2020;25:2614. doi: 10.3390/molecules25112614.

25. Petrelli F., Coinu A., Ghilardi M., Cabiddu M., Zaniboni A., Barni S. Efficacy of oxaliplatin-based chemotherapy+ bevacizumab as first-line treatment for advanced colorectal cancer. Am. J. Clin. Oncol. 2015;38:227–233.

26. Ibrahim A., Hirschfeld S., Cohen M.H., Griebel D.J., Williams G.A., Pazdur R. FDA drug approval summaries: Oxaliplatin. Oncologist. 2004;9:8–12. doi: 10.1634/theoncologist.9-1-8.

27. Zhu L., Chen L. Progress in research on paclitaxel and tumor immunotherapy. Cell. Mol. Biol. Lett. 2019;24:40. doi: 10.1186/s11658-019-0164-y.

28. Semrad T.J., Fahrni A.R., Gong I.Y., Khatri V.P. Integrating chemotherapy into the management of oligometastatic colorectal cancer: Evidence-based approach using clinical trial findings. Ann. Surg. Oncol. 2015;22:855–862. doi: 10.1245/s10434-015-4610-4.

29. Ahmed F., Kumari S., Kondapi A.K. Evaluation of antiproliferative activity, safety and biodistribution of oxaliplatin and 5-fluorouracil loaded lactoferrin nanoparticles for the management of colon adenocarcinoma: An in vitro and an in vivo study. Pharm. Res. 2018;35:178.

30. Zhou J., Chang L., Guan Y., Yang L., Xia X., Cui L., Yi X., Lin G. Application of circulating tumor DNA as a non-invasive tool for monitoring the progression of colorectal cancer. PLoS ONE. 2016;11:e0159708. doi: 10.1371/journal.pone.0159708.

31. Lv C., Qu H., Zhu W., Xu K., Xu A., Jia B., Qing Y., Li H., Wei H.-J., Zhao H.-Y. Low-dose paclitaxel inhibits tumor cell growth by regulating glutaminolysis in colorectal carcinoma cells. Front. Pharmacol. 2017;8:244. doi: 10.3389/fphar.2017.00244.

32. Einzig A.I., Neuberg D., Wiernik P.H., Grochow L.B., Ramirez G., O'Dwyer P.J., Petrelli N.J. Phase II trial of paclitaxel in patients with advanced colon cancer previously untreated with cytotoxic chemotherapy: An eastern cooperative oncology group trial (PA286) Am. J. Ther. 1996;3:750–754.

33.Laraib U., Sargazi S., Rahdar A., Khatami M., Pandey S. Nanotechnology-based approaches for effective detection of tumor markers: A comprehensive state-of-the-art review. Int. J. Biol. Macromol. 2021;195:356–383

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2026-11-23]

[DOI: 10.61186/aums.14.1.59]