افزایش حلالیت و فراهمی زیستی کورکومین از طریق نانوحامل جدید مبتنی بر دندریمر: رویکردی امیدوارکننده برای اثربخشی درمانی

افروز علی‌یاری[۱]، شهلا کیان‌امیری[۲]، حسین نادری‌منش[۱،۳]*

۱- گروه نانوبیوتکنولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

۲-استادیار گروه نانوبیوتکنولوژی، دانشکده علوم زیستی،دانشگاه تربیت مدرس، تهران،ایران

۳- استاد، بیوفیزیک، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

*صندوق پستی ۱۷۵-۱٤۱۱٥، تهران، ایران

naderman@modares.ac.ir

دریافت: ۱٤۰۲/۰۳/۲۲ پذیرش: ۱٤۰۳/۰۳/۲۷

چکیده

کورکومین، یک آنتی اکسیدان قوی استخراج شده از گیاه زردچوبه، به‌دلیل توانایی خود در سرکوب گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) از طریق فعال‌سازی عناصر پاسخ آنتی‌اکسیدانی شناخته شده است. با این حال، کاربرد بالینی آن به‌دلیل حلالیت ضعیف و حذف سریع آن محدود شده است. در این مطالعه، هدف ما افزایش حلالیت و فراهمی زیستی کورکومین با کپسوله کردن آن در نانوذرات دندریمر پلی آمیدوآمین نسل پنجم بود. طیف سنجی UV- Vis و فلور سانس کپسوله سازی موفقیت‌آمیز را با اندازه متوسط نانوذرات ۲۷۵ نانومتر و بار سطحی مثبت ۸ میلی‌ولت تأیید کردند. نانوحامل ظرفیت بارگیری تقریباً ٦ مول کورکومین در هر ۱مول دندریمر را نشان داد و در عرض ۷۲ ساعت به آزادسازی کامل دارو دست یافت. سنجش جذب سلولی با استفاده از روش زنده/مرده، جذب برتر نانوحامل را در مقایسه با کورکومین آزاد نشان داد که منجر به کاهش قابل‌توجهی در سطوح ROS سلولی و آپوپتوز شد. علاوه بر این، در مدل استرس اکسیداتیو القایی با استفاده از H_2O_2، نانوذرات دندریمر بارگذاری شده با کورکومین به‌طور قابل توجهی سطوح ROS سلولی را در مقایسه با کورکومین آزاد کاهش داد. این یافته‌ها پتانسیل این نانوحامل را به‌عنوان یک سیستم مؤثر و هوشمند برای ارائه داروهای نامحلول در آب برجسته می‌کند و رویکردی امیدوارکننده برای بهبود کارایی درمانی کورکومین ارائه می‌دهد.

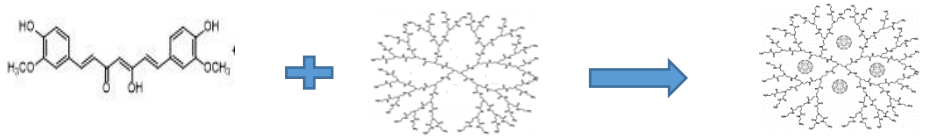
کلید واژگان: دندریمر، کورکومین، آنتی‌اکسیدان، گونه‌های اکسیژن واکنشی، استرس‌اکسیداتیو

زیست فناوری دانشگاه تربیت مدرس ـــــــ

برای ر سم منحنی ا ستاندارد کورکومین، محلولی با غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از آن دارو در حلال متانول تهیه و سپس به روش رقیق‌سازی غلظت‌هایی از کورکومین در دامنه غلظت ۱۰ – ۳۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر تهیه شد و در ادامه با استفاده از دستگاه طیف سنجی مرئی- فرابنفش جذب ترکیب اندازه‌گیری شد.

۲-۲ کپسوله کردن کورکومین در دندریمر

برای این کار، ۲ میلی‌لیتر کورکومین (۲میلی‌گرم /میلی‌لیتر) محلول در اب به ۱ میلی‌لیتر دندریمر (PAMAM) (۲ میلی‌گرم/میلی‌لیتر) در حلال متانول اضافه شد. سپس، محلول به مدت ٤٨ ساعت شیک شد.طی این مدت زمان اجازه داده شد که متانول تبخیر شود. بعد از گذ شت ٤٨ ساعت برای حذف کورکومین‌های آزاد محلول ۱۰ دقیقه با دور rpm ۱۰۰۰۰ سانترفیوژ شد ومحلول رویی برداشته شد و با ا ستفاده از فریزدرای خ شک شد و برای مراحل بعدی در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد و محیط تاریک نگه داری شد.(شکل ۱)



شکل ۱ شماتیک کپسوله شدن کورکومین در دندریمر

۲-۳ بررسی خواص فتوفیزیکی کورکومین

کورکومین خاصیت فلورسانس ذاتی دارد که در طول موج ٤٢٥ نانومتر برانگیخته می‌شود. درنتیجه مطالعات ا سپکترو سکوپی برای برر سی احتمال تغییر خواص نوری کورکومین در حین پروسه ی کپسولاسیون انجام شد. کورکومین آزاد و نانوسامانه کورکومین-دندریمر به‌طور جداگانه در حلال متانول، آب (به نسبت ۵۰:۵۰،حجمی/حجمی) با غلظت ۱۰۰میکروگرم بر میلی لیتر تهیه شد. میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ٤٢٥ نانومتر توسط نانودراپ اندازه‌گیری شد، همچنین، طیف بازتابش فلورسانس در طول موج ٤٥٠-٧٠٠ نانومتر ثبت شد.

۲-٤ برر سی میزان کپسوله شدن مولکولهای کورکومین در دندریمر PAMAM

در این مرحله برای به‌دست آوردن میزان کپسوله شدن کورکومین در دندریمر به رسوب به جا مانده از مرحله‌ی پیشین ۱ میلی‌لیتر متانول ا ضافه شد و جذب با ا ستفاده از د ستگاه ا سپکتروفتومتری UV-Vis در طول موج ٤٢٥ نانو متر خوانده شد. نتایج به‌دست آمده با و فرمول زیر محاسبه شد.

= درصد راندمان بارگزاری کورکومین

$$\frac{\text{مقدار کورکومین کپسوله}}{\text{مقدار کورکومین اولیه}} \times 100$$

= درصد میزان بارگیری

$$\frac{\text{مقدار کورکومین کپسوله}}{\text{مقدار حامل دندریمر} - \text{مقدارکورکومین کپسوله}} \times 100$$

۲-۵ برر سی میزان رهایش کورکومین از دندریمر ن سل پنجم

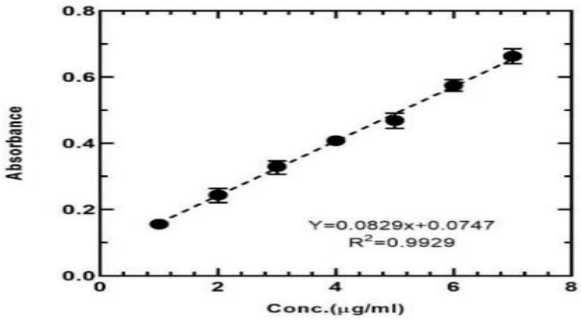
مقدار ۵ میلی‌لیتر از نانوسامانه کورکومین-دندریمر حل شده در آب، در کیسه د یالیز با قطر منافذ ۱۰۰۰۰ (MWCO) ریخته شد و در فسفات بافر سالین (PBS) با pH ٧,٤ وبافر استات با pH ۵ به‌صورت جداگانه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به حالت تعلیق در آمد. سپس، از

زیست فناوری دانشگاه تربیت مدرس ـــــــ

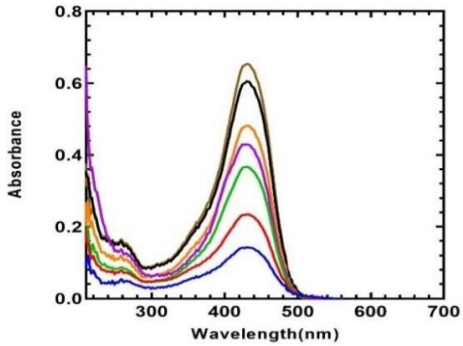
محیط سلولی باعث اکسید شدن ۲،۷دی کلرو دی هیدروفلورسین دی‌استات و تبدیل آن به دی کلروفلورسین می‌شوند که نشر توسط دستگاه فلوسیتومتری خوانش می‌شود. آب اکسیژنه (H_2O_2)با غلظت ۴۰۰ میکرومولار مطابق تحقیقات پیشین [۱۳] به‌عنوان کنترل مثبت و سلول بدون تیمار دارویی به‌عنوان کنترل منفی در نظر گرفته شد.

۲-۱۰ تعیین میزان بارگذاری و ظرفیت بارگیری

برای تعیین میزان بارگذاری و ظرفیت بارگیری دارو در نانوسامانه، ابتدا نمودار استاندار کورکومین برای تعیین غلظت های نامعین آن تهیه و معادله خط رگرسیون و ضریب تعیین (R2) برای ترسیم خط عبوری تعیین شد (شکل۲). ترسیم منحنی استاندارد برای اندازه‌گیری غلظت کورکومین به روش ا سپکترو سکوپی نور مرئی انجام شد. محدوده خطی با تجزیه‌وتحلیل جذب غلظت‌های استاندارد کورکومین ۱۰-۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر در ۴۲۵ نانومتر در برابر محلول آب و متانول به نسبت 50:50 حجمی/حجمی، به‌عنوان Blank تعیین شد. منحنی ا ستاندارد با ا ستفاده از غلظت در برابر جذب تر سیم شد (نمودار ۱). سپس، معادله رگر سیون و ضریب همبستگی کورکومین تعیین شد. درصد بارگذاری کورکومین با احتساب فاکتور رقت به کاررفته و با کمک نمودار استاندارد مربوط به آن تعیین شده است.



شکل ۲ نمودار استاندارد کورکومین

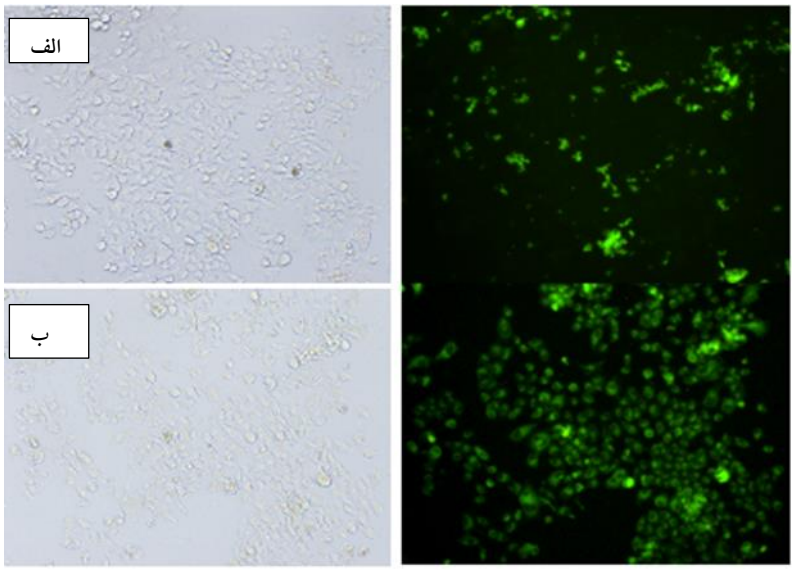


نمودار ۱ منحنی استاندارد کورکومین

زیست فناوری دانشگاه تربیت مدرس ـــــــ

افزایش حلالیت و فراهمی زیستی ...ـــــــ

زیست فناوری دانشگاه تربیت مدرس ـــــــ



شکل ۳ تصاویر سلول های Hela. الف) مربوط به تیمار سلول با کورکومین ازا د با غلظت ۵ میکرومولار. ب) مربوط به سامانه دارویی کورکومین دندریمر بار غظت ۵ میکرومولار کورکومین است که در دوحالت نور معمولی و نور فلورسنت تهیه شده است.

۲-۱۶ ارزیابی میزان ROS سلولی

میزان ROS ایجاد شده در سلول‌های تیمار شده با سامانه های دارویی با استفاده از فلوسایتومتری ارزیابی شد. همان طور که در نمودار ٦ مشاهده می‌شود بیشترین میزان ROS سلولی در غلظت ٤٠٠ میکرومولار H_2O_2 مشاهده می‌شود. همچنین، کورکومین آزاد با غلظت ۵ میکرومولار میزان ROS را کاهش داد و همچنین مقایسه رفتار نانوسامانه کورکومین- دندریمر با کورکومین آزاد در بازه زمانی ۱۲ ساعت، تفاوت معناداری در کاهش ROS ایجاد شده در اثر استرس اکسیداتیو القا شده با H_2O_2 نشان داده است. به‌طوری که، پس از سپری شدن این زمان، کاهش تولید رادیکال آزاد ناشی از نانوسامانه کورکومین دندریمر در مقایسه با کورکومین آزاد حدود ٤٠ درصد بوده است. همچنین، مقایسه تیمارهای دارویی با آب اکسیژنه، به‌عنوان کنترل مثبت درالقای ROS تولیدی توسط سلول، نشان داده است که تاثیر آب اکسیژنه در تولید رادیکال آزاد در رده‌ی سلولی بالا بوده است.

۳- بحث

هدف از انجام این مطالعه بررسی بهبود خواص بیولوژیکی و فیزیکوشیمیایی کورکومین است. برای این کار، نانو سامانه کورکومین –دندریمر ساخته شد. کورکومین تاثیرات درمانی در بسیاری از بیماری‌ها از جمله سرطان، دیابت و...نشان داده است[١٤]. با این‌حال، به‌دلیل فراهمی زیستی بسیار کم، حلالیت ضعیف در آب، جذب ضعیف، نرخ متابولیک بالا و پاکسازی سریع بدن، کاربردهای کورکومین در فارماکولوژیک محدود شده است[۵]. حامل های متفاوتی برای انتقال این ترکیب دارویی استفاده شده است. با این وجود دندریمرها از حامل‌های پلیمری هستند که دارای خصوصیات بارزی همچون زیست‌تخریب پذیری، زیست سازگاری، عدم سمیت، پایداری بالا، رهایش کنترل شده ترکیبات و غیره هستند، که آنها را از دیگر نانو حامل‌ها متمایز می‌کند.

زیست فناوری دانشگاه تربیت مدرس ـــــــ

در دو فرم آزاد و بارگذاری شده در نانوسامانه کورکومین-دندریمر، مطابق تحقیقات پیشین سمیت قابل توجه‌ای نداشته است[۱۳]. اما با افزایش غلظت سمیت قابل ملاحظه‌ای در رده سلولی هلا مشاهده شده است[۱۷]. از سویی، میزان ROS تولید شده توسط کورکومین بارگذاری شده در سامانه نانوابعاد در غلظت ۵ میکرومولار به‌طور قابل ملاحظه‌ای کمتر از فرم آزاد کورکومین بوده است. از سوی دیگر، در غلظت ۲۰ میکرومولار افزایش میزان ROS سلولی را شاهد هستیم[۲۰].

٤- نتیجه‌گیری

نشان داده شده کورکومین بارگذاری شده در نانو سامانه دندریمر -کورمین در کاهش القای تولید ROS موفق عمل کرده است. این در حالی است که در هر دو بازه زمانی میزان ROS تولید شده ناشی از کورکومین آزاد بیشتر بوده است. با توجه به تاثیر بیشتر داروی بارگذاری شده در سامانه نانوابعاد کورکومین- دندریمر می‌توان اینگونه تصور کرد بهبود خواص فیزیکوشیمیایی وافزایش محلولیت کورکومین در این سامانه موجب افزایش پایداری و بهبود اثرات بیولوژیکی و نهایتاً باعث ورود داروی بیشتر به داخل سلول و متعاقباً القای تولید ROS کمتر میشود[۲۱و۱۳]. این نانو سامانه قابلیت رسانش هدفمند انواع داروها را داردو می‌تواند مسیر جدیدی برای رسانش هدفمند داروها به سلول‌ها و بافت‌های مورد نظر باز کند.

٥- منابع

[1] Gupta, R. K., Patel, A. K., Shah, N., Choudhary, A. K., Jha, U. K., Yadav, U. C., ... & Pakuwal, U. (2014). Oxidative stress and antioxidants in disease and cancer: a review. *Asian Pacific journal of cancer prevention*, *15*(11), 4405-4409.Curcumin Derivative C210. *Pharmaceutics*, *15*(5), 1546.

[2] Ammon HP, Wahl MA (1991) Pharmacology of Curcuma longa.Planta Med 57:1–7.

[3] An, H., Deng, X., Wang, F., Xu, P., & Wang, N. (2023). Dendrimers as Nanocarriers for the Delivery of Drugs Obtained from Natural Products. *Polymers*, *15*(10), 2292.

[4] Aravind, M., Kumar, S. P., & Begum, A. S. (2023). An overview of dendrimers as novel carriers in drug delivery. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, *16*(4), 2051-2056.

[5] Wang, L., Xu, X., Zhang, Y., Zhang, Y., Zhu, Y., Shi, J., ... & Huang, Q. (2013). Encapsulation of curcumin within poly (amidoamine) dendrimers for delivery to cancer cells. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, *24*, 2137-2144.

[6] Nikzamir, M., Hanifehpour, Y., Akbarzadeh, A., & Panahi, Y. (2021). Applications of dendrimers in nanomedicine and drug delivery: A review. *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*, *31*, 2246-2261

[7] Ghalandarlaki, N., Alizadeh, A. M., & Ashkani-Esfahani, S. (2014). Nanotechnology-applied curcumin for different diseases therapy. *BioMed research international*, *2014*.

[8] Ben-Zichri, S., Meltzer, M., Lacham-Hartman, S., Kolusheva, S., Hadad, U., Papo, N., & Jelinek, R. (2022). Synergistic Activity of Anticancer 5)Polyphenols Embedded in Amphiphilic Dendrimer Nanoparticles. *ACS Applied Polymer Materials*, *4*(12), 8913-8925.

[9] Babu, A., Templeton, A. K., Munshi, A., & Ramesh, R. (2014). Nanodrug delivery systems: a promising technology for detection, diagnosis, and treatment of cancer. *Aaps Pharmscitech*, *15*, 709-721.

[10] Hafez Ghoran, S., Calcaterra, A., Abbasi, M., Taktaz, F., Nieselt, K., & Babaei, E. (2022). Curcumin-based nanoformulations: A promising adjuvant towards cancer treatment. *Molecules*, *27*(16), 5236.

[11] Shen, D., Chen, H., Li, M., Yu, L., Li, X., Liu, H., ... & Lu, Y. (2023). Effects of Different Molecular Weight Oxidized Dextran as Crosslinkers on Stability and Antioxidant Capacity of Curcumin-Loaded Nanoparticles. *Foods*, *12*(13), 2533.

[12] Mahalakshmi, L., Choudhary, P., Moses, J. A., & Anandharamakrishnan, C. (2023). Emulsion electrospraying and spray drying of whey protein nano and microparticles with curcumin. *Food Hydrocolloids for Health*, *3*, 100122

زیست فناوری دانشگاه تربیت مدرس ـــــــ

Enhancing Solubility and Bioavailability of Curcumin through Novel Dendrimer-based Nanocarrier: A Promising Approach for Therapeutic Efficacy

Afruz Aliyari[1]، Shahla Kiyan Amiri[2] Hossein Naderi Manesh[1,3]*

1- Nanobiotechnology Department, Biological Sciences Faculty, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
2- Nanobiotechnology Department, Biological Sciences Faculty, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
3- Professor Biophysics Department, Biological Sciences Faculty, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

naderman@modares.ac.ir

Receipt: 2024/05/11 Accepted: 2024/06/16

Abstract
Curcumin, a potent antioxidant extracted from the turmeric plant, is known for its ability to suppress reactive oxygen species (ROS) through activation of antioxidant response elements. However, its clinical utility is limited by poor solubility and rapid elimination. In this study, we aimed to enhance the solubility and bioavailability of curcumin by encapsulating it in fifth-generation polyamidoamine dendrimer nanoparticles. UV-Vis and fluorescence spectroscopy confirmed successful encapsulation, with an average nanoparticle size of 275 nm and a positive surface charge of 8 mV. The nanocarrier exhibited a loading capacity of approximately curcumin 6mol per dendrimer1 mol and achieved complete drug release within 72 hours. Cellular uptake assays using a live/dead assay revealed superior uptake of the nanocarrier compared to free curcumin, leading to a significant reduction in cellular ROS levels. Furthermore, in a model of induced oxidative stress using H2O2, curcumin-loaded dendrimer nanoparticles significantly reduced cellular ROS levels compared to free curcumin. These findings highlight the potential of this nanocarrier as an effective and intelligent system for delivering water-insoluble drugs, offering a promising approach for improving the therapeutic efficacy of curcumin.

Keywords: Dendrimer; Curcumin, Antioxidant; Reactive Oxygen Species; Oxidative stress