



Synthesis and Evaluation of Physicochemical Properties of a Solid Lipid Nanocarrier Containing a Sulfonamide Derivative and Investigation of Its Effect on Breast Cancer Cells

Rahdari T^a, Ghafouri H^{a*}, Asghari SM^{b*}

^aDepartment of Biology, Faculty of Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran.

^bInstitute of Biochemistry and Biophysics, University of Tehran, Tehran, Iran.

Original Article

Use your device to scan and read the article online



Citation: Rahdari T, Ghafouri H, Asghari SM Synthesis and Evaluation of Physicochemical Properties of a Solid Lipid Nanocarrier Containing a Sulfonamide Derivative and Investigation of Its Effect on Breast Cancer Cells. Journal of Cell and Tissue . 2025; 15(4):299-316

 <https://10.61186/JCT.15.4.299>.

KEYWORDS

Drug Delivery
Solid Lipid Nanoparticles
Sulfonamide Derivative
Breast Cancer.

ABSTRACT

Aim: Breast cancer remains a significant health challenge, being one of the most common cancers among women and a leading cause of cancer-related deaths globally. The need for effective treatment options is paramount, and recent research has spotlighted sulfonamide derivatives for their notable antitumor properties. These compounds have shown considerable cytotoxic effects against various cancer cell lines, including breast cancer, through mechanisms such as apoptosis induction and inhibition of heat shock protein 70 (HSP70), which is crucial for cancer cell survival. This study focuses on synthesizing a solid lipid nanocarrier that incorporates a sulfonamide derivative, aiming to enhance its anticancer efficacy against the MCF-7 breast cancer cell line. The encapsulation of sulfonamide within these nanoparticles is expected to improve its bioavailability by increasing solubility and stability, thereby allowing higher concentrations to effectively reach tumor sites. Additionally, these nanoparticles are designed to minimize systemic toxicity and protect healthy tissues from adverse effects, resulting in enhanced therapeutic efficacy.

methods: The research involved synthesizing solid lipid nanoparticles (SLNs) containing the sulfonamide derivative, followed by a comprehensive analysis of their physicochemical properties. Key parameters assessed included drug loading capacity, morphology, size distribution, and release profile using techniques such as Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR), Dynamic Light Scattering (DLS), Atomic Force Microscopy (AFM), and dialysis methods. The cytotoxicity of the nanocarrier was evaluated on MCF-7 cells through the MTT assay, alongside assessments of cell proliferation and migration using scratch assays.

Results: The synthesized nanocarrier had an average size of 315 nanometers with a Polydispersity Index (PDI) of 0.3, indicating good uniformity. AFM analysis confirmed its spherical morphology. The nanocarrier demonstrated a high drug loading

* Corresponding author. Tel.013-33333647; Fax: 013-33333647

E-mail address: h.ghafouri@guilan.ac.ir

DOI: : <https://10.61186/JCT.15.4.299>

Received: 30 Nov. 2024; Received in revised form: 20 Dec. 2024; Accepted: 22. Dec. 2024

Original Article

© Author



capacity of approximately 82% for the sulfonamide derivative and facilitated a controlled release over time. Cytotoxicity assays revealed that while the blank nanocarrier was safe, the formulation containing the sulfonamide derivative exhibited significantly enhanced cytotoxic effects on MCF-7 cells at lower concentrations compared to the free sulfonamide alone. This improvement in efficacy is attributed to the controlled release mechanism that allows for sustained exposure of cancer cells to the active compound. Moreover, the nanocarrier was more effective in inhibiting both growth and migration of cancer cells than treatments with free sulfonamide, as evidenced by scratch assays.

Conclusion: This research highlights the potential of solid lipid nanoparticles in improving the therapeutic effectiveness of sulfonamide derivatives against breast cancer. The synthesized nanocarrier demonstrates favorable physicochemical properties, including high drug loading capacity and controlled release, which are essential for effective treatment outcomes. Notably, encapsulating sulfonamide derivatives significantly enhances cytotoxicity against MCF-7 cells at lower doses compared to their unencapsulated counterparts, emphasizing its promise for improved therapeutic strategies. Furthermore, these nanoparticles effectively inhibit cell proliferation and migration, contributing to tumor growth suppression. This innovative approach aims not only to enhance treatment efficacy but also to minimize systemic toxicity and protect healthy tissues from adverse effects. Future research should focus on innovative clinical applications and further optimization of these nanocarriers to maximize their potential in oncology, paving the way for more effective treatments for breast cancer.



سنتز و ارزیابی خصوصیات فیزیکی-شیمیایی نانوحامل لیپیدی جامد حاوی مشتق سولفونامید و بررسی عملکرد آن بر سلول‌های سرطانی پستان

طاهره راهداری^۱، حسین غفوری^{۲*}، سید محسن اصغری^۳

^۱دکتری بیوشیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان، رشت، ایران، rahdari@phd.guilan.ac.ir

^۲دانشیار، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان، رشت، ایران، h.ghafoori@guilan.ac.ir

^۳دانشیار، مرکز تحقیقات بیوشیمی-بیوفیزیک، دانشگاه تهران، ایران، sm.asghari@ut.ac.ir

چکیده	واژگان کلیدی
<p>هدف: سرطان پستان یکی از شایع‌ترین سرطان‌ها در زنان است و از عوامل اصلی مرگ و میر در جهان محسوب می‌شود. توسعه روش‌های درمانی موثر، به‌ویژه با استفاده از نانوذرات دارورسان، اهمیت بالایی دارد. نانوذرات به دلیل قابلیت دارورسانی هدفمند و کاهش عوارض جانبی، می‌توانند اثربخشی درمان‌های سرطان را بهبود بخشند. هدف از این مطالعه سنتز نانوحامل لیپیدی جامد حاوی مشتق سولفونامید، بررسی خصوصیات فیزیکی-شیمیایی و ارزیابی اثرات ضدسرطانی آن بر سلول‌های سرطان پستان انسانی رده‌ی MCF-7 است.</p> <p>مواد و روش‌ها: در این مطالعه، نانوذره‌ی لیپیدی جامد حاوی مشتق سولفونامید سنتز و خصوصیات فیزیکی-شیمیایی آن شامل بارگذاری دارو، مورفولوژی، اندازه و رهایش با استفاده از روش‌های FTIR، DLS، میکروسکوپ AFM و دیالیز بررسی شد. سمیت سلولی نانوحامل بر سلول‌های سرطانی رده‌ی MCF-7 و اثر آن بر تکثیر و مهاجرت این سلول‌ها نیز مورد ارزیابی قرار گرفت. نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که نانوحامل دارای میانگین اندازه‌ی ۳۱۵ نانومتر، $PDI=0.3$ و مورفولوژی کروی و یکنواخت است. نانوحامل سنتز شده قادر است حدود ۸۲ درصد از مشتق سولفونامید را در خود بارگذاری کند و رهاسازی کنترل‌شده‌ای از دارو را فراهم آورد. این نانوحامل ایمن بوده و با تحویل تدریجی مشتق سولفونامید به سلول‌های سرطانی منجر به اثر کشندگی بیشتر در غلظت‌های کمتر نسبت به مشتق سولفونامید شد. همچنین نانوحامل حاوی مشتق سولفونامید در مقایسه با سولفونامید توانست به طور مؤثرتری از تکثیر و پیشروی سلول‌های سرطانی ممانعت کند. این یافته‌ها نشان‌دهنده‌ی پتانسیل بالای این نانوحامل مهندسی شده در مهار سلول‌های سرطانی پستان است.</p>	<p>دارورسانی، نانوذره لیپیدی جامد، مشتق سولفونامید، سرطان پستان.</p> <p>تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۹/۱۰ تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۰۹/۳۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۰/۰۲</p>

۱- مقدمه:

سرطان پستان یکی از شایع‌ترین انواع سرطان‌ها در میان زنان است. این بیماری به دلیل رشد غیرقابل کنترل سلول‌ها ایجاد می‌شود و از بافت پستان آغاز شده و در صورت متاستاز به سایر بافت‌ها سرایت می‌کند. عوامل مختلفی از جمله ژنتیک و سبک

زندگی در بروز آن نقش دارند. با این که پیشرفت‌های قابل توجهی در زمینه مهار سرطان طی چند دهه گذشته صورت گرفته، اما متأسفانه میزان مرگ و میر ناشی از سرطان نسبت به جمعیت افزایش یافته است. تشخیص زود هنگام و درمان مناسب می‌تواند منجر به کنترل و درمان بیماری شود (۱).

طبق دستورالعمل‌های سازمان جامع سرطان ملی، در حال حاضر شیمی درمانی اصلی‌ترین روش برای درمان بیماری پیشرفته یا متاستاتیک در سرطان است (۲). کارایی عوامل شیمی درمانی نظیر دکسوروبیسیک و پاکلیتاکسل به دلیل مقاومت شیمیایی که در تومورها به تدریج در طول درمان‌های طولانی مدت ایجاد می‌شود، کاهش می‌یابد. در صورت ایجاد مقاومت دارویی، دوزهای بالایی از داروهای ضدتومور تزریق می‌شود. این راهبرد قطعاً باعث اثرات جانبی مضر در بافت‌های سالم می‌شود. به منظور رفع کاستی‌های شیمی‌درمانی محققان به رده‌های مختلفی از عوامل درمانی سرطان پرداخته‌اند که هر کدام از جنبه‌های خاص و با مکانیسم‌های مختلف با تومور مبارزه می‌کنند (۳، ۴). یکی از ترکیبات ضدسرطان که در مطالعات مورد توجه قرار گرفته‌اند، سولفونامیدها هستند. مطالعات نشان داده است سولفونامیدها و مشتقات آن‌ها نقش مهمی در القای آپوپتوزیس در سلول‌های سرطانی دارند. این ترکیبات می‌توانند با مهار پروتئین‌های چپرون مانند پروتئین شوک حرارتی (۷۰) HSP70، که نقش مهمی در بقا و مقاومت سلول‌های سرطانی دارند، مسیرهای آپوپتوزیس سلولی را فعال کنند. موتیف آروماتیک/هتروسیکلیک سولفونامیدها نقش موثری در اثرات ضدتوموری آن‌ها دارد (۵). Leu و همکاران (۶) تاثیر ترکیب مشتق از سولفونامید به نام «2-phenylethynylsulfonamide» بر پروتئین HSP70 مطالعه کردند. در این مطالعه گزارش شده است که این ترکیب سولفونامیدی قادر است به طور اختصاصی با پروتئین HSP70 برهمکنش داشته باشد و عملکردهای آن را مهار کند. تیمار سلول‌های سرطانی با این ترکیب سولفونامیدی نشان داد که مرگ سلول‌های سرطانی به شدت افزایش یافته است. آپوپتوزیس رخ داده شده در سلول‌های سرطانی با تجمع پروتئینی، اختلال اتوفاجی و مهار عملکرد لیزوزومی همراه بود. Ahmet و Cumaoglu و همکاران (۷) مشتقاتی از سولفونامید را سنتز کردند و اثر القا کنندگی آپوپتوزیس توسط آن‌ها را بر سلول‌های سرطانی بررسی نمودند. نتایج نشان داد ترکیبات مشتق از سولفونامید می‌توانند تکثیر سلول‌های سرطانی را کاهش دهند و بیان ژن‌های القا کننده‌ی آپوپتوزیس (کاسپاز ۳، کاسپاز ۸ و کاسپاز ۹) را در سطح mRNA افزایش دهند. وها اکبری مقدم و همکاران (۸) به مطالعه‌ی مشتق سولفونامیدی سنتزی به نام ZM-093 و تأثیر آن بر فعالیت HSP70 پرداختند. ZM-093 مشتقی جدید از سولفونامید سولفونامید) است. در این مطالعه ساختار مولکولی ZM-093 با روش‌های اسپکتروسکوپی NMR و FTIR تایید شد. آنالیزهای داکینگ مولکولی اتصال ZM-093 به جایگاه سوبسترا در پروتئین HSP70 را تایید کرد. فعالیت ATPase پروتئین HSP70 با استفاده از کیت آزمون ATPase/GTPase اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که ZM-093 با اتصال به جایگاه سوبسترا در پروتئین HSP70 فعالیت چپرونی آن را مهار می‌کند.

اگر چه ترکیبات ضدسرطان برای از بین بردن سلول‌های توموری طراحی شده‌اند، اما سمی بودن آن‌ها برای بافت‌های سالم به کارایی درمانی آن‌ها آسیب می‌زند؛ بنابراین دارو باید با غلظت کم و به طور موثر به بافت تومور برسد تا کارایی ضدتوموری آن‌ها افزایش یابد. به همین دلیل استفاده از حامل‌های دارورسان به منظور کاهش سمیت و دوز مصرفی، افزایش نفوذپذیری و تجمع داروهای درمانی در بافت‌های هدف، رفع مشکل حلالیت ضعیف ترکیبات آب‌گریز در محیط آبی، افزایش نیمه عمر و کنترل رهایش دارو مورد نیاز است (۶). تاکنون نانوذرات دارورسان (Drug delivery nanoparticles) متنوعی متشکل از مواد آلی و غیر آلی به منظور تحویل دارو به محل تومور مهندسی شده است. نانوذرات لیپیدی جامد به عنوان حامل‌های لیپیدی نانو برای تحویل ترکیبات آب‌گریز ضدتوموری، نویدهای قابل توجهی را نشان داده‌اند (۷). محصور کردن این ترکیبات درون نانوحامل ذکر شده مزایای متعددی را به همراه دارد، از جمله افزایش زیست‌دسترسی پذیری داروهای آب‌گریز از طریق بهبود حل‌پذیری و

پایداری، که باعث می‌شود غلظت‌های موثری به محل تومور برسد؛ همچنین با تسهیل تحویل دارو به تومورها، سمیت سیستمیک و عوارض جانبی رایج را کاهش می‌دهند. مکانیسم رهایش کنترل‌شده‌ی نانوحامل لیپیدی جامد نیز نقش موثری در بهبود کارایی داروها دارد (۸-۱۰).

در این مطالعه، مشتق سولفونامید ZM-093 که توسط محققان پیشین طراحی شده است (۱۱)، به‌منظور رفع کاستی‌ها و افزایش عملکرد ضدسرطانی، درون نانوحامل لیپیدی جامد بارگذاری شد. سپس، خصوصیات فیزیکی-شیمیایی، رهایش دارو و تاثیر آن بر زنده‌مانی، تکثیر و مهاجرت سلول‌های سرطانی پستان رده‌ی MCF-7 ارزیابی شد.

۲- مواد و روش‌ها

سنتز ترکیب مشتق سولفونامید: مشتقی از سولفامتوکسازول به‌طریق واکنش‌های متداول دیازوتیزاسیون - جفت‌سازی سنتز شد. در این فرآیند، ابتدا مخلوطی از سولفامتوکسازول، استونیتریل و چند قطره اسید استیک به همراه مقادیر مناسبی از NaNO_2 و HCl تهیه شد تا نمک دیازونیوم به‌دست آید. سپس، نمک دیازونیوم به محلول حاوی معرف جفت (-N-phenyl-2,2'-imino diethanol) در اتانول و در دمای پایین افزوده شد و محلول به‌مدت معینی هم زده شد تا واکنش به‌خوبی انجام شود. پس از این مرحله، pH محلول در محدوده خنثی حفظ شد. در نهایت به منظور حذف ناخالصی‌ها، محصول خام فیلتر شد (۱۱).

بررسی جذب مشتق سولفونامید با استفاده از طیف‌سنجی مرئی-فرابنفش و به‌دست آوردن منحنی کالیبراسیون: برای بررسی جذب مشتق سولفونامید ابتدا غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در اتانول مطلق تهیه شد. سپس غلظت‌های ۱/۵-۰/۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از آن تهیه و در بافر فسفات به حجم یک میلی‌لیتر رسانده شدند. آن‌گاه جذب نمونه‌ها در طول موج ۲۰۰-۸۰۰ نانومتر به‌وسیله دستگاه طیف‌سنجی مرئی-فرابنفش بررسی شد. بدین‌طریق منحنی کالیبراسیون، ضریب جذب مولی و معادله‌ی استاندارد مشتق سولفونامید به‌دست آمد. این معادله برای به‌دست آوردن غلظت‌های مجهول مشتق سولفونامید از طریق جذب کاربرد دارد.

سنتز نانوذره لیپیدی جامد حاوی مشتق سولفونامید: ابتدا فاز لیپیدی تهیه شد. برای تهیه فاز لیپیدی ۱۰۰ میلی‌گرم استئاریک اسید و ۵۰ میلی‌گرم پرسیرول در حمام آب داغ حدود ۸۰ درجه سانتی‌گراد ذوب شد. سپس ۶ میلی‌گرم مشتق سولفونامید در ۵۰۰ میلی‌لیتر اتانول مطلق حل شد و به لیپید مذاب اضافه شد. سپس فاز آبی تهیه شد. برای تهیه‌ی فاز آبی ابتدا ۵۰ میلی‌گرم لستین سویا در ۵ میلی‌لیتر آب دیونیزه ریخته شد. سپس درون حمام آب داغ قرار داده شد و پروب سونیکه شد تا ذوب شود و محلول یک‌دستی به‌دست آید. آن‌گاه ۱۰۰ میلی‌گرم پلوکسامر ۴۰۷ به آن اضافه شد و روی هیتر استیرر دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد و دور rpm ۱۲۰۰ قرار داده شد تا کاملاً ذوب شود. در مرحله‌ی بعد فاز آبی قطره قطره به فاز لیپیدی در حمام آب داغ و زیر هموژنایزر با قدرت rpm ۱۲۰۰، اضافه شد. سپس به‌مدت ۵ دقیقه توسط هموژنایزر هموژن گردید. پس از آن، حدود ۲۰ دقیقه در حمام آب داغ روی هیتر استیرر با دور بالا قرار داده شد. در مرحله‌ی آخر در حمام آب داغ به‌مدت ۱۵ دقیقه و با توان ۷۰ وات پروب سونیکه شد. سپس به‌مدت ۲۴ ساعت در یخچال قرار داده شد تا نانوذرات به‌خوبی شکل بگیرد. برای جداسازی مشتق سولفونامید کپسوله‌نشده، نانوذرات تشکیل‌شده به‌مدت ۲۰ دقیقه با سرعت rpm ۱۴۰۰ سانتریفیوژ شد. محلول رویی که حاوی داروی آزاد است جدا شد و رسوبات در آب دیونیزه حل شدند. نانوذرات جهت نگه‌داری طولانی‌مدت و افزایش پایداری محیطی با استفاده از دستگاه فریزدرایر فریزدراى شدند و در فریزر نگه‌داری شدند (۱۲).

محاسبه‌ی درصد کپسوله‌سازی مشتق سولفونامید: برای محاسبه‌ی درصد کپسوله‌سازی، پس از جداسازی محلول رویی جذب آن در طول موج ۲۰۰-۸۰۰ نانومتر خوانده شد و با استفاده از معادله‌ی استاندارد غلظت موجود در محلول رویی مشخص شد. بر اساس فرمول زیر درصد کپسوله‌سازی مشتق سولفونامید درون نانوحامل مشخص شد:

$$(۱) \text{ درصد کپسوله‌سازی مشتق سولفونامید} = \frac{\text{غلظت کل ترکیب سولفونامید بارگذاری شده حین سنتز} - \text{غلظت ترکیب سولفونامید آزاد موجود در محلول رویی}}{۱۰۰ \times \text{غلظت کل ترکیب سولفونامید بارگذاری شده حین سنتز}}$$

بررسی خصوصیات فیزیکی-شیمیایی نانوذره:

ارزیابی اندازه، شاخص پراکندگی و بار سطحی نانوذره: مقداری از پودر فریزدرای نانوذره حاوی مشتق سولفونامید و نانوذره‌ی تنها در آب دیونایز پروب سونیکیت شد و محلول رقیقی از آن‌ها به دست آمد. سایز، شاخص پراکندگی (PDI) و بار سطحی آن‌ها توسط دستگاه طیف‌سنجی دینامیکی ((Dynamic light scattering Spectroscopy (DLS)) نور بررسی شد. **بررسی گروه‌های عاملی:** برای تعیین گروه‌های عاملی و تعاملات میان ترکیبات طیف‌سنجی تبدیل فوریه فروسرخ Spectroscopy (FTIR)(Fourier-transform Infrared) انجام شد. مقداری از نمونه‌ها شامل پودر مشتق سولفونامید و پودر فریزدرای شده‌ی نانوذره‌ی تنها و نانوذره‌ی بارگذاری شده با KBr مخلوط شد و به‌صورت قرص فشرده درآمد. سپس در محدوده‌ی از 4000 تا 400 cm^{-1} طیف‌سنجی انجام شد.

ارزیابی مورفولوژی: مورفولوژی نانوذره و نانوذره بارگذاری شده توسط میکروسکوپ نیروی اتمی (Atomic Force Microscopy (AFM)) بررسی شد.

بررسی رهائش دارو: به‌منظور بررسی رهائش مشتق سولفونامید از نانوحامل در شرایط آزمایشگاه محیطی مشابه شرایط بدن و محیط تومور شبیه‌سازی شد. سولفونامید آزاد، سوسپانسیون نانوذره و نانوذره‌ی حاوی مشتق سولفونامید به‌طور جداگانه با غلظت یک میلی‌گرم بر میلی‌لیتر درون کیسه دیالیز ۱۲ کیلودالتون ریخته شدند. هر کیسه به صورت شناور در بافر فسفات با $\text{pH}=7.4$ و $\text{pH}=5.5$ قرار داده شد. سپس کیسه‌های شناور درون شیکر انکوباتور با دمای 37°C درجه سانتی‌گراد و دور 100 rpm قرار داده شدند. در فواصل زمانی مختلف نمونه از محلول‌های بیرونی برداشته و جهت ثابت نگه داشتن حجم به همان میزان بافر اضافه شد. جذب نمونه‌ها در طول موج ۲۰۰-۸۰۰ نانومتر بررسی و درصد سولفونامید رها شده در طول زمان محاسبه شد.

تست‌های سلولی: بررسی سمیت سلولی: کشت سلول‌های MCF-7 در فلاسک‌های کشت سلولی چسبنده ۲۵ میلی‌لیتر انجام شد. برای کشت سلول از محیط حاوی ۱۰ درصد سرم جنین گاو و ۱ درصد پنی سیلین استفاده شد. سلول‌ها در دمای 37°C درجه سانتی‌گراد در محیط کنترل شده‌ی انکوباتور با ۵ درصد CO_2 نگهداری شدند. سمیت سلولی تیمارهای مختلف با استفاده از روش MTT مبتنی بر رنگ سنجی تعیین شد. بدین‌منظور هنگامی که غلظت سلولی به ۸۰ درصد رسید، محیط از فلاسک خارج شد و سلول‌ها با افزودن تریپسین به‌میزان ۷۰۰ میکرولیتر و قرار دادن به‌مدت یک دقیقه در انکوباتور، از ته فلاسک جدا شدند. سپس مجدد با محیط رقیق شدند و با سرعت ۱۴۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند. مابع رویی دور ریخته شد و رسوبات سلولی در محیط حاوی ۱۰ درصد سرم حل شدند. سپس سلول‌ها در پلیت ۹۶ چاهک با تراکم ۱۰۰۰۰-۱۵۰۰۰ ریخته شدند و یک شبانه روز انکوبه شدند تا سلول‌ها چاهک‌ها را به طور کامل بپوشانند. پس از آن، هر چاهک با یک محیط تازه حاوی دوزهای مختلف مشتق سولفونامید، نانوذره، نانوذره‌ی حاوی مشتق سولفونامید و محیط کشت تنها (کنترل منفی) به‌مدت ۲۴ ساعت جایگزین شدند. پودر MTT به‌میزان ۵ میلی‌گرم / میلی‌لیتر در بافر فسفات حل شد و ۱۰ میکرولیتر از این

محلول بهر چاهک اضافه شد. سپس سلول‌ها به مدت ۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. پس از حذف محیط کشت، ۱۰۰ میکرولیتر DMSO به هر چاهک برای حل کردن بلورهای فورمازان افزوده شد. پلیت روی شیکر با سرعت ۱۰۰ دور در دقیقه انکوبه شد تا از اختلاط کامل اطمینان حاصل شود. سپس جذب در طول موج ۵۹۵ نانومتر ثبت شد. سلول‌های تیمار نشده به عنوان گروه کنترل عمل کردند که نشان دهنده ۱۰۰ درصد زنده ماندن بودند. مقدار IC₅₀، نشان‌دهنده غلظت مورد نیاز برای مهار ۵۰ درصد رشد سلولی نسبت به شاهد، از طریق منحنی داده‌های زنده‌مانی سلول و معادله کالیبراسیون حاصل تعیین شد. محاسبه درصد زنده‌مانی سلول از طریق فرمول زیر محاسبه شد:

$$(۲) \text{ درصد زنده‌مانی سلول} = \frac{\text{میزان جذب تیمار سلولی}}{\text{میزان جذب سلول تیمار نشده (کنترل)}} \times ۱۰۰$$

بررسی مهاجرت سلولی: ارزیابی مهاجرت سلولی با استفاده از روش خراش انجام شد. در ابتدا، در مجموع ۲۰۰۰۰۰ سلول در هر چاهک پلیت ۲۴ چاهکی ریخته شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد با ۵ درصد CO₂ انکوبه شد تا به ۹۰ درصد رشد برسند و تک لایه سلولی تشکیل دهند. سپس، محیط سلولی برداشته شد و چاهک‌ها با بافر فسفات شستشو داده شدند تا سلول‌های غیر چسبیده حذف شوند. در مرحله‌ی بعد با استفاده از نوک سر سمپلر پلاستیکی استریل ۱۰-۱۰۰ میکرولیتری، یک خراش در وسط چاهک‌ها ایجاد شد. پس از شستشو مجدد چاهک‌ها با بافر فسفات برای حذف سلول‌های جدا شده، سلول‌ها با ۷۰ درصد غلظت‌های IC₅₀ از مشتق سولفونامید، نانوذره و نانوذره حاوی سولفونامید در محیط ۱ میلی‌لیتری حاوی ۱۰ درصد FBS تیمار شدند. سلول‌های تیمار شده با محیط حاوی سرم به تنهایی به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شدند. چاهک‌ها با میکروسکوپ معکوس با بزرگنمایی ۴× برای ثبت خراش اولیه (T₀) تصویربرداری شدند. سپس سلول‌ها به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند و خراش‌ها پس از ۲۴ ساعت نیز تصویربرداری شدند و میزان مهاجرت سلولی در مناطق خراش با یکدیگر مقایسه شد.

۳- آنالیز آماری

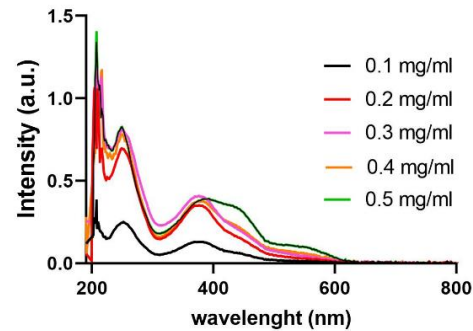
محاسبه‌ی تفاوت‌های معنی‌داری میان گروه‌ها (P value) در نتایج MTT با استفاده از نرم افزار GraphPad Prism و به صورت واریانس دو طرفه آنالیز شدند. داده‌ها به صورت میانگین \pm SEM ارائه شد. معنی‌داری آماری با سطح اطمینان ۹۵ درصد ($p < 0.05$) تعیین شد. با استفاده از نرم افزار ImageJ تصاویر مربوط به آزمون خراش کمی‌سازی شدند.

۴- نتایج

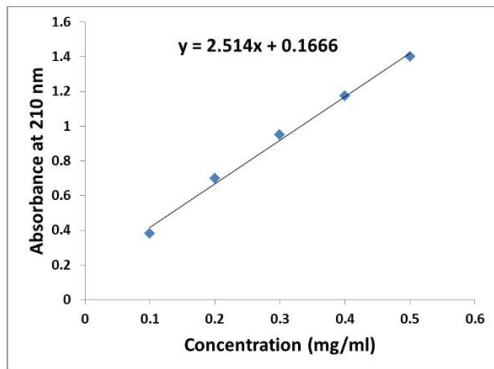
بررسی جذب، منحنی کالیبراسیون و معادله استاندارد مشتق سولفونامید

طیف جذب مرئی-فرابنفش مشتق سولفونامید در شکل ۱-الف نشان داده شده است. طیف جذبی به دست آمده مطابق با سایر مطالعات است. مشتقات سولفونامید دارای یک حلقه بنزن هستند که حداکثر جذب آن در حدود ۲۵۵ نانومتر مشاهده می‌شود. همچنین، به دلیل وجود گروه‌های آمینی، جفت‌های الکترون آزاد ناشی از نیتروژن و گروه سولفونیل در نواحی ۲۱۰ و ۴۰۰ نانومتر نیز جذب نشان می‌دهند (۱۳-۱۵). شکل ۱-ب نیز منحنی کالیبراسیون و معادله استاندارد ترکیب مشتق سولفونامید را نشان می‌دهد.

الف



ب

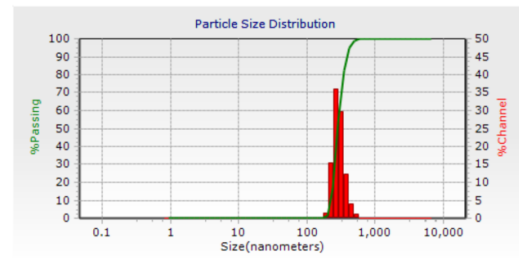


شکل ۱: الف: بررسی جذب مشتق سولفونامید. ب: منحنی کالیبراسیون و معادله استاندارد مشتق سولفونامید

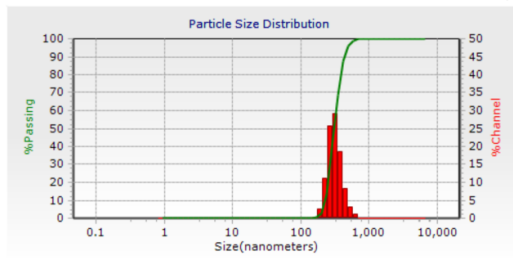
بررسی اندازه، شاخص پراکندگی و بار سطحی نانوذرات

بررسی اندازه، شاخص پراکندگی و بار سطحی نانوذرات به وسیله طیف‌سنجی دینامیکی نور مطالعه شد. همان‌طور که در شکل ۲ ملاحظه می‌شود میانگین اندازه‌ی نانوذرات لیپیدی جامد حدود ۲۹۰ نانومتر با شاخص پراکندگی ۰/۲ و بار سطحی ۲۵ - میلی‌ولت می‌باشد. نانوذرات حاوی مشتق سولفونامید دارای میانگین اندازه‌ی ۳۱۵ نانومتر و شاخص پراکندگی ۰/۳ با بار سطحی ۲۶ - میلی‌ولت است که اندازه، بار سطحی مطلوب و یکنواختی نانوذرات را تایید می‌کند. از آن‌جا که بار سطحی نانوذره‌ی بارگذاری شده با مشتق سولفونامید در مقایسه با نانوذره‌ی تنها تغییری نکرده است می‌توان نتیجه گرفت ترکیب سولفونامید به‌طور موفقیت آمیز درون نانوذره بارگذاری شده و نانوذره پایداری کلئیدی خود را حفظ کرده است.

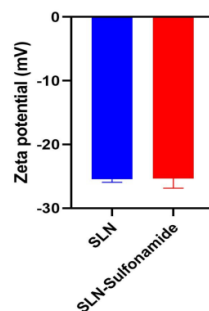
الف



ب



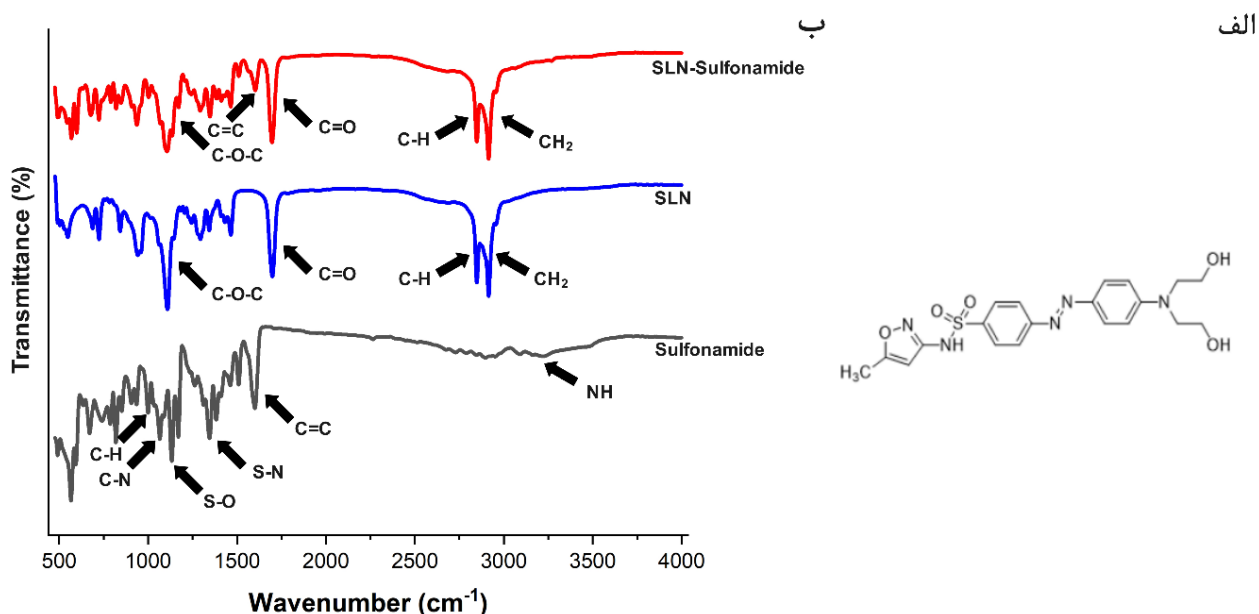
ب



شکل ۲: بررسی اندازه، شاخص پراکندگی و بار سطحی نانوذرات با استفاده از طیف‌سنجی دینامیکی نور. الف: نانوذرات لیپیدی جامد با میانگین اندازه‌ی ۲۹۰ نانومتر و شاخص پراکندگی ۰/۲. ب: نانوذرات لیپیدی جامد حاوی مشتق سولفونامید با میانگین اندازه‌ی ۳۱۵ نانومتر و شاخص پراکندگی ۰/۳. پ: بار سطحی نانوذره لیپیدی جامد (۲۵-) mV و نانوذره لیپیدی جامد حاوی مشتق سولفونامید (۲۶-) mV.

بررسی گروه‌های عاملی

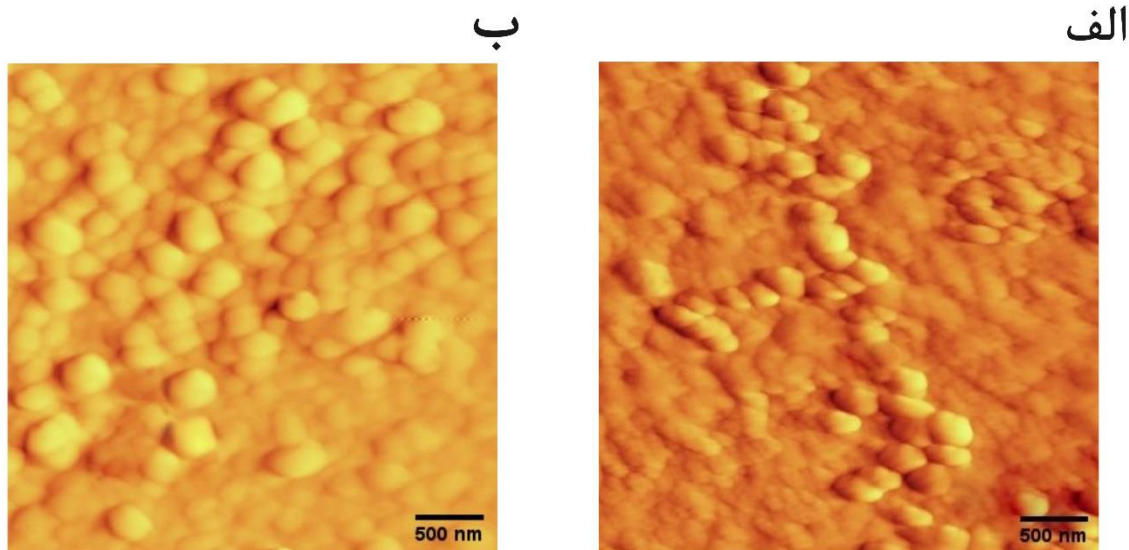
شکل ۳- الف ساختار مشتق سولفونامید سنتزی را نشان می‌دهد. شکل ۳-ب به بررسی طیف FTIR پرداخته شده است. گروه‌های آمینی (NH) موجود در ساختار مشتق سولفونامید در محدوده 3300 تا 3500 cm^{-1} پیک نشان می‌شوند. این پیک‌ها به دلیل وجود پیوندهای هیدروژنی و نوع گروه‌های عاملی در ساختار سولفونامیدها قابل شناسایی هستند. همچنین مشتق سولفونامید دارای پیک‌های شاخصی در 1150 تا 1350 cm^{-1} که به پیوندهای S=O و S-N مربوط می‌شوند. این پیک‌ها نشان‌دهنده وجود گروه‌های سولفونامید در ساختار این ترکیب هستند. پیک شاخص مربوط به پیوند کربن-کربن (C=C) در محدوده 1650 تا 1750 cm^{-1} مشاهده می‌شود. این پیک‌ها به وجود گروه‌های کربونیل در ساختار سولفونامیدها اشاره دارند. پیک مربوط به خمش CH در محدوده 1000 تا 1300 cm^{-1} قابل مشاهده است که نشان‌دهنده وجود گروه‌های متیل و متیلن در ساختار ترکیب هستند. پیک مربوط به پیوندهای کربن-نیتروژن (C-N) نیز در محدوده 1000 تا 1200 cm^{-1} مشخص است که نشان‌دهنده وجود گروه‌های آمینی در ساختار سولفونامید هستند (۱۶). بنابراین با توجه به وجود پیک‌های گروه‌های عاملی مهم موجود در ساختار مشتق سولفونامید در طیف FTIR، صحت سنتز آن اثبات می‌شود. پیک‌های شاخص نانوذره SLN تهی در 2920 cm^{-1} و 2854 cm^{-1} مربوط به پیوند C-H در گروه CH_2 ، 1720 cm^{-1} مربوط به پیوند C=O، 1110 cm^{-1} مربوط به پیوند C-O-C و 3400 cm^{-1} مربوط به کشش O-H هستند (۱۷، ۱۸). بنابراین شکل‌گیری صحیح نانوذره نیز اثبات شد. با توجه به طیف FTIR نانوذره SLN-Sulfonamide، پیک‌های غالب مربوط به پیک‌های شاخص SLN می‌باشند و برخی پیک‌های ضعیفی از مشتق سولفونامید مشاهده می‌شود، می‌توان نتیجه گرفت که کپسوله شدن مشتق سولفونامید درون SLN موفقیت آمیز بوده است.



شکل ۳: بررسی گروه‌های عاملی. الف: ساختار مشتق سولفونامید سنتزی (۱۱). ب: بررسی گروه‌های عاملی مشتق سولفونامید، نانوذره لیپیدی جامد و نانوذره لیپیدی جامد حاوی مشتق سولفونامید از طریق FTIR.

بررسی مورفولوژی نانوذرات

مورفولوژی نانوذرات با استفاده از میکروسکوپ AFM بررسی شد. شکل ۴، تصاویر میکروسکوپی نانوذره‌ی تنها و نانوذره‌ی حامل مشتق سولفونامید را نمایش می‌دهد. همان‌طور که مشاهده می‌شود تصاویر نانوذرات کروی و یکنواخت است و میانگین اندازه‌ی آن‌ها با نتایج به‌دست آمده از DLS مطابق است.



شکل ۴: بررسی مورفولوژی نانوذرات توسط AFM. الف: تصویر میکروسکوپی SLN با میانگین اندازه ۲۹۰ نانومتر. ب: تصویر میکروسکوپی SLN-Sulfonamide با میانگین اندازه ۳۱۵ نانومتر. نوار مقیاس: 500 nm.

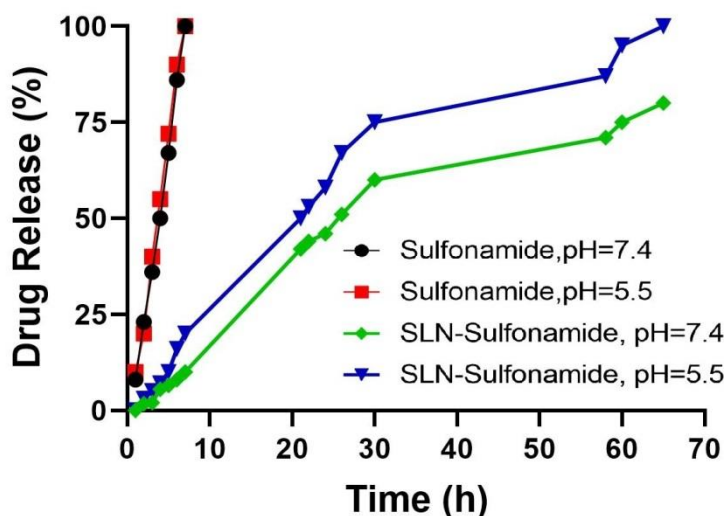
بررسی درصد کیسوله سازی مشتق سولفونامید درون نانوذره لیپیدی جامد

پس از محاسبه‌ی غلظت میزان ترکیب سولفونامید بارگذاری نشده، درصد کپسولاسیون آن درون نانوحامل از طریق فرمول ۱ معادل 82 ± 3 ارزیابی شد.

بررسی رهایش مشتق سولفونامید از نانوحامل در شرایط آزمایشگاهی

با توجه به این‌که محیط تومور اسیدی ($pH \approx 5/5-6/5$) گزارش شده است (۲۱-۱۹)، رهایش مشتق سولفونامید در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و pH های فیزیولوژیک (۷/۴) و اسیدی (۵/۵)، به تقلید از محیط تومور) بررسی شد. همان‌طور که در شکل ۵ ملاحظه می‌شود ترکیب سولفونامید آزاد در pH های ۷/۴ و ۵/۵ پس از ۸ ساعت به طور کامل از کیسه دیالیز رها شد و تفاوتی در رفتار رهایش در دو pH مشاهده نشد؛ در صورتی‌که مشتق سولفونامید بارگذاری شده درون نانوحامل در pH خنثی حدود ۸۰ درصد از آن پس از ۶۵ ساعت رها شد ولی در pH اسیدی مشابه محیط تومور ۱۰۰ درصد رهایش در ۶۵ ساعت اتفاق افتاد. این نتیجه به این مفهوم است که نانوحامل قادر است ترکیب سولفونامید را به‌صورت آهسته و کنترل شده رها کند. از طرفی در شرایط اسیدی تومور نسبت به شرایط فیزیولوژیک تسهیل در رهایش اتفاق افتاده است و ترکیب مدنظر پس از ۶۵ ساعت به‌طور کامل رها شده است. بنابراین، نتایج نشان‌دهنده توانایی SLN در حمل، آزادسازی تدریجی و کنترل‌شده‌ی مشتق سولفونامید به‌صورت وابسته به pH در شرایط توموری است. وابستگی به pH به SLN این امکان را می‌دهد که مشتق

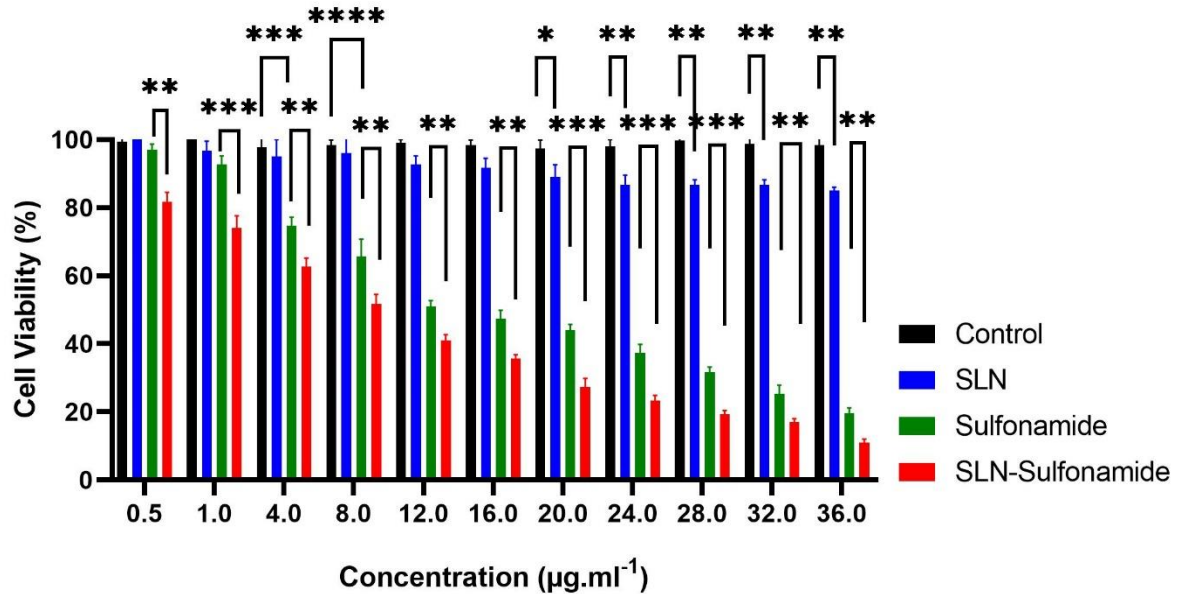
سولفونامید را به طور موثر در محیط اسیدی تومور رها کند. این ویژگی برتر، موجب افزایش کارایی درمانی و کاهش عوارض جانبی می‌شود.



شکل ۵: بررسی رهایش مشتق سولفونامید از نانوحامل. بررسی رهایش به روش دیالیز برای سولفونامید آزاد و سولفونامید بارگذاری شده درون نانوحامل در شیکر انکوباتور و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، دور ۱۰۰ rpm و pH های ۷/۴ و ۵/۵ در مدت زمان ۷۰ ساعت بررسی شد. نانوحامل توانسته است ترکیب سولفونامید را به طور آهسته و کنترل شده در طول ۶۵ ساعت رها کند.

بررسی سمیت سلولی

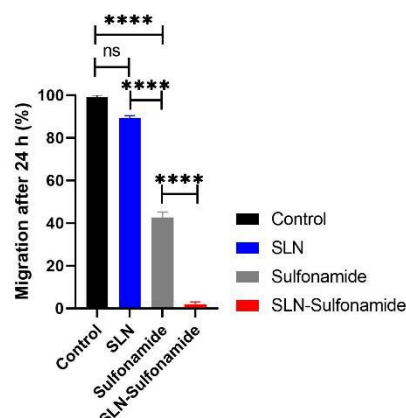
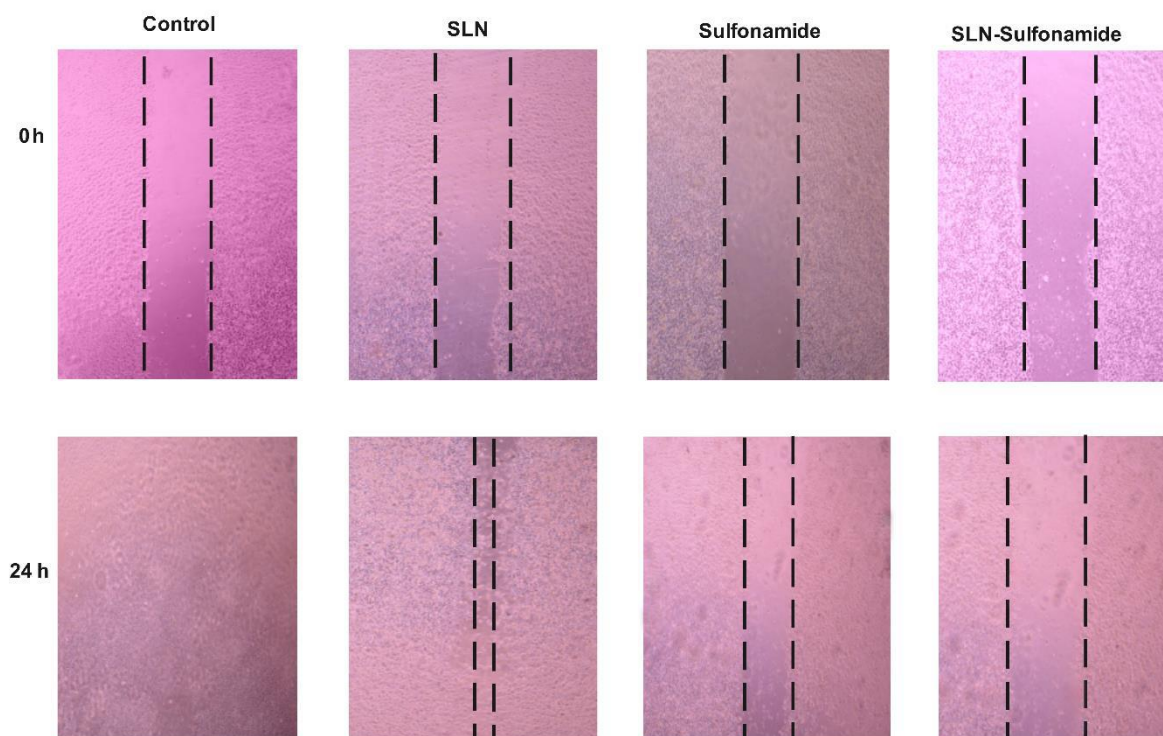
اثر سمیت سلولی نانوذره، مشتق سولفونامید و نانوذره حاوی سولفونامید به مدت ۲۴ ساعت بر سلول‌های MCF-7 با روش سنجش MTT ارزیابی شد. تیمارها با غلظت‌های مختلف (۰-۳۴/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر) بر سلول‌ها انجام شد. با توجه به شکل ۶، سلول‌های تیمار نشده به‌عنوان کنترل، زنده ماندی ۱۰۰ درصد خود را پس از ۲۴ ساعت حفظ کرده‌اند. تیمار سلول‌ها با نانوذره‌ی تنها نیز در بالاترین غلظت (۳۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر) حدود ۸۰ درصد زنده‌مانی نشان داد که ایمن بودن نانوذره را می‌رساند. میزان IC₅₀ برای مشتق سولفونامید ۱۱/۵۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر محاسبه شد که حاکی از خاصیت ضد سرطانی آن است. میزان IC₅₀ برای نانوذره‌ی حاوی مشتق سولفونامید ۸/۳۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر ارزیابی شد. نانوذره‌ی حاوی سولفونامید نسبت به سولفونامید اثر کشندگی مؤثرتری بر سلول‌های سرطانی MCF-7 داشته است.



شکل ۶: ارزیابی سمیت بر سلول‌های سرطانی MCF-7 پس از ۲۴ ساعت تیمار. نتایج با استفاده از نرم افزار Prism، تعداد تکرار=۳، واریانس دو طرفه، میانگین \pm SEM آنالیز شد. نماد ستاره (*) تفاوت معناداری با کنترل و یا گروه‌های دیگر را نشان می‌دهد. (***) $p < 0.0001$, (***) $p < 0.001$, (ns) بی‌معنی، (***) $p < 0.01$, (*) $p < 0.05$ میزان IC_{50} مشتق سولفونامید $53/11 \mu\text{g/ml}$ و برای نانوحامل حاوی مشتق سولفونامید، $31/8 \mu\text{g/ml}$ ارزیابی شد.

بررسی مهاجرت سلولی

در شکل ۷، اثر مشتق سولفونامید، نانوذره و نانوذره حاوی مشتق سولفونامید بر مهاجرت سلول‌ها را پس از ۲۴ ساعت تیمار سلولی نشان می‌دهد. نتایج نشان می‌دهد سلول‌ها در حالت تیمار نشده و تیمار با نانوذره‌ی تنها گسترش یافته و خراش را پر کرده‌اند ولی مشتق سولفونامید و نانوذره‌ی حاوی مشتق سولفونامید مانع از رشد و پیشروی سلول‌ها شده‌اند. نکته قابل توجه این است که نانوذره‌ی حاوی سولفونامید نسبت به مشتق سولفونامید ممانعت بیشتری بر رشد و مهاجرت سلول‌های سرطانی به عمل آورده است. بر اساس تحلیل کمی، مشتق سولفونامید حدود ۴۲ درصد و نانوذره‌ی حاوی مشتق سولفونامید حدود ۳ درصد مهاجرت سلولی داشته‌اند. بنابراین با توجه به نتایج حاصل از بررسی سمیت و مهاجرت سلولی، نانوحامل با تحویل کنترل شده‌ی مشتق سولفونامید و بهبود حلالیت آن می‌تواند اثر بیشتری بر کشندگی یا ممانعت از رشد و گسترش سلول‌های سرطانی داشته باشد.



شکل ۷: بررسی اثر تیمارها بر مهاجرت سلول‌های MCF-7. تاثیر نانوذره، مشتق سولفونامید و نانوحامل مشتق سولفونامید بر رشد و گسترش سلول‌های MCF-7 با روش تست خراش ارزیابی شد. ابتدا به میزان برابر در سلول‌های کشت داده شده در پلیت ۱۲ خانه خراش ایجاد شد. خراش‌های اولیه (T₀) تصویربرداری شدند. در مرحله‌ی بعد سلول‌ها با محیط کشت (کنترل) و ۷۰٪ از غلظت IC₅₀ نانوذره، مشتق سولفونامید و نانوحامل مشتق سولفونامید تیمار و پس از ۲۴ ساعت تصویربرداری شدند. سپس پیشروی سلول‌ها در مناطق خراش بررسی شد. تصویربرداری با میکروسکوپ معکوس با بزرگنمایی ۴× انجام شد. تصاویر خراش به وسیله‌ی نرم افزار ImageJ کمی‌سازی گردید. بر اساس تحلیل کمی، کنترل ۱۰۰ درصد، نانوذره‌ی تنها حدود ۹۰ درصد، مشتق سولفونامید حدود ۴۲ درصد و نانوذره‌ی حاوی مشتق سولفونامید حدود ۳٪ درصد مهاجرت سلولی داشته‌اند.

۴- بحث

در درمان سرطان، هدف اصلی از بین بردن سلول‌های توموری با حداقل آسیب به بافت‌های سالم است. اگرچه داروهای ضد سرطان برای این هدف طراحی شده‌اند، اما عدم اختصاصیت و سمی بودن آن‌ها منجر به عوارض جانبی می‌شود و کارایی درمان را کاهش دهد. علاوه بر این، حلالیت ضعیف داروهای آب‌گریز باعث محدودیت در دسترسی زیستی آن می‌شود. بنابراین،

سامانه‌های دارورسانی که قادر به انتقال موثر داروها به بافت تومور باشند، مورد نیاز است. پیشرفت‌های اخیر در مهندسی نانو نشان می‌دهد که نانوذرات می‌توانند به‌عنوان یک راه‌حل مطلوب برای حمل و تحویل دارو باشند و به‌طور قابل توجهی اثربخشی داروها را در درمان سرطان افزایش دهند. اندازه، مورفولوژی و ویژگی‌های الکتروستاتیکی سطح نانوذرات تاثیرات قابل توجهی بر فرآیندهای بیولوژیکی مانند پاکسازی آن‌ها از بدن، توزیع در بافت‌ها و جذب سلولی دارند. مطالعات نشان داده‌اند نانوذرات کروی با اندازه کمتر از ۵۰۰ نانومتر به‌ویژه به‌دلیل توانایی‌شان در اتصال مؤثر به سلول‌ها و تحویل دارو، کارایی داخلی‌سازی را به‌طرز چشمگیری افزایش می‌دهند. از سوی دیگر، تومورها برای رشد و توسعه خود به مواد مغذی نیاز دارند و به‌همین دلیل فرآیند رگ‌زایی در آن‌ها فعال می‌شود تا مواد لازم را تامین کرده و مواد دفعی را خارج کند. در این رگ‌های جدید، فواصل بین سلولی بیشتر از رگ‌های عادی است، که این امر اجازه می‌دهد نانوذرات به‌راحتی از این فواصل عبور کرده و به تومور برسند، در حالی که در رگ‌های سالم به‌دام می‌افتند. نانوذرات با بار منفی می‌توانند نیمه عمر را افزایش داده و سازگاری بهتری با خون ایجاد کنند (۲۲). این ویژگی باعث افزایش کارایی تحویل داروهای ضدسرطان به محل‌های توموری می‌شود، زیرا بار منفی نانوذرات از طریق نیروی دافعه الکتروستاتیکی با سطوح سلولی، جذب آن‌ها را تسهیل می‌کند. این امر موجب می‌شود که نانوذرات به‌طور موثر به سلول‌های توموری متصل شوند و داروهای درمانی را به محل هدف منتقل کنند. بنابراین، ویژگی‌های خاص نانوذرات نه تنها بر اثربخشی درمان‌های دارویی تاثیر می‌گذارد، بلکه می‌تواند به بهبود هدفمندی درمان‌ها و کاهش عوارض جانبی نیز کمک کند (۱۷). این ارتباط میان خصوصیات فیزیکی-شیمیایی نانوذرات و نیازهای بیولوژیکی تومورها، زمینه‌ای نویدبخش برای توسعه درمان‌های هدفمند و موثر در عرصه پزشکی است.

مشتقات سولفونامید به‌عنوان ترکیبات ضدسرطانی مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته‌اند. این ترکیبات قادر به فعال‌سازی مسیرهای آپوپتوزیس در سلول‌های سرطانی هستند. در این مطالعه، به‌منظور بهینه‌سازی اثر بخشی مشتق سولفونامید به‌نام 093ZM، این ترکیب درون نانوذره‌های لیپیدی جامد بارگذاری شد. سپس، تاثیر آن به‌صورت مجزا و در حالت نانو بر سلول‌های سرطانی پستان MCF-7 بررسی شد.

بررسی اندازه و بار سطحی نانوذرات با استفاده از طیف‌سنجی دینامیکی نور نشان داد که میانگین اندازه نانوذرات لیپیدی جامد حدود ۲۹۰ نانومتر و بار سطحی آن‌ها ۲۵- میلی‌ولت است. نانوذرات حاوی مشتق سولفونامید نیز با میانگین اندازه ۳۱۵ نانومتر و بار سطحی ۲۶- میلی‌ولت شناسایی شدند. این نتایج نه تنها نشان‌دهنده پایداری کلونیدی مطلوب نانوذرات است، بلکه موفقیت در بارگذاری ترکیب سولفونامید را نیز تایید می‌کند. همچنین دارای اندازه و بار سطحی مناسب برای تاثیر بر سلول‌های توموری است. بررسی نانوذرات توسط AFM نیز مورفولوژی کروی و یکنواخت آن‌ها را نشان داد. نتایج FTIR نیز بارگذاری ترکیب درون نانوذره را تایید کرد. درصد کپسولاسیون این ترکیب درون نانوحامل معادل 82 ± 3 ارزیابی شد که نشان‌دهنده توانایی این سامانه دارورسانی در حمل و انتقال مؤثر دارو به محل هدف است. مشتق سولفونامید ترکیبی آب‌گریز است. استفاده از نانوذرات لیپیدی جامد به‌عنوان حامل مشتق سولفونامید باعث بهبود حلالیت آن می‌شود و نیاز به استفاده از حلال‌ها و امولسیفایرها را نیز حذف می‌کند. نتایج ره‌ایش نشان داد که نانوذرات لیپیدی جامد توانایی بالایی در حمل، آزادسازی تدریجی و کنترل‌شده‌ی مشتق سولفونامید را به صورت وابسته به pH در شرایط توموری دارند. این ویژگی می‌تواند موجب افزایش کارایی درمان به‌دلیل ره‌ایش بهینه در شرایط اسیدی بافت تومور و کاهش عوارض جانبی ناشی از آزادسازی ناگهانی دارو شود. بررسی سمیت سلولی بر سلول‌های MCF-7 نشان داد که میزان IC_{50} برای مشتق سولفونامید برابر با $11/53$ میکروگرم بر میلی‌لیتر و برای نانوذره‌ی حاوی مشتق سولفونامید برابر با $8/31$ میکروگرم بر میلی‌لیتر است. بر اساس این نتیجه، نانوذره‌ی حاوی مشتق سولفونامید اثر کشندگی قوی‌تری بر سلول‌های سرطانی MCF-7 نسبت به مشتق سولفونامید دارد. افزایش اثر مهارری را می‌توان

به قابلیت آهسته رهایش SLN، افزایش در جذب سلولی سولفونامید، بهبود حلالیت و کاهش مقاومت دارو در حالت فرمولاسیون نانو نسبت داد. این مسئله با یافته‌های سایر مطالعات دارو رسانی مبتنی بر نانوذرات از جمله بارگذاری داروهای شیمی درمانی و سایر ترکیبات ضدسرطان درون SLN، سازگار است. به کارگیری نانوذرات در دارورسانی ترکیبات ضدسرطان منجر به افزایش سمیت در سلول‌های سرطانی، افزایش ماندگاری دارو و به‌طور کلی بهبود فارماکوکینتیک می‌شود. مجموعه‌ی این عوامل منجر به نتایج درمانی بهتر می‌گردد (۴، ۲۰، ۲۳). مشتق سولفونامیدی سنتزی مطالعه شده، در مقایسه با سایر مشتقات سولفونامیدی در مطالعات پیشین، اثر کشندگی مطلوبی را بر سلول‌های سرطانی MCF-7 داشته است (۲۴-۲۶). به‌عنوان مثال در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۲۴ انجام شد، ترکیبی که از اتصال سولفونامید با آزا هتروسیکل با نام سولفونامید-آزا هتروسیکل (sulphonamide-azaheterocycle) حاصل شد، اثر کشندگی با میزان IC₅₀ برابر با ۴۰.۵۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر را بر سلول‌های سرطانی MCF-7 نشان داد (۲۴). در حالی که مشتق سولفونامید حاضر در این مطالعه، اثر کشندگی با میزان IC₅₀ برابر با ۱۱.۵۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر را بر سلول‌های MCF-7 به نمایش گذاشت. علاوه بر این، رویکرد نانوفرمولاسیون باعث افزایش سمیت سلولی و بهبود اثرات ضدسرطانی این ترکیب شده است. بررسی مهاجرت سلولی نیز نشان داد که نانوحامل حاوی مشتق سولفونامید نسبت به مشتق سولفونامید تاثیر بیشتری بر ممانعت از رشد و گسترش سلول‌های سرطانی داشته است. در مطالعه‌ی پیشین پیرامون بررسی برهمکنش مشتق سولفونامید به‌کار رفته در این تحقیق با پروتئین HSP70، اتصال این ترکیب به جایگاه سوبسترا در HSP70 و مهار فعالیت چپرونی آن اثبات شد (۱۱). بنابراین اثرات مهاری این مشتق سولفونامید بر سلول‌های سرطانی MCF-7 می‌تواند به‌دلیل مهار HSP70 باشد. HSP70 نقش مهمی در بقای سلول‌های سرطانی دارد و مسیرهای آپوپتوزیسی را مسدود می‌کند. در پی مهار این پروتئین، القای آپوپتوزیس در سلول‌های سرطانی از طریق افزایش سطح بیان پروتئین‌های پیش‌برنده‌ی آپوپتوزیس رخ می‌دهد (۲۷، ۲۸). حمل این ترکیب توسط SLN نیز منجر به بهبود اثرات فارماکوکینتیک و افزایش عملکرد ضدسرطانی آن شده است. سایر مشتقات سولفونامید نیز مهار سلول‌های سرطانی را از طریق سرکوب HSP70 و بیان ژن‌های القاء کننده‌ی آپوپتوزیس نشان داده‌اند (۲۵).

این یافته‌ها تایید می‌کنند که استفاده از نانوذرات لیپیدی جامد در دارورسانی ترکیبات ضدسرطان می‌تواند کارایی درمان را افزایش دهد و شرایطی ایمن و موثر برای مبارزه با تومورها فراهم کند.

۵- نتیجه‌گیری:

در این مطالعه، نانوذره‌ی لیپیدی جامد حاوی مشتق سولفونامید سنتز شد. بررسی خصوصیات فیزیکی-شیمیایی نانوحامل نشان داد که حدود ۸۲ درصد از ترکیب را در خود حمل می‌کند. نتایج FTIR بارگذاری مطلوب مشتق سولفونامید را تایید کرد. تصاویر میکروسکوپی و ارزیابی DLS نشان‌دهنده‌ی مورفولوژی کروی با اندازه‌های حدود ۳۱۵ نانومتر بود که برای اهداف دارورسانی بسیار مطلوب است. نانوحامل قادر به رهایش کنترل شده‌ی ترکیب بارگذاری شده بود. سنجش سمیت سلولی نانوحامل بر سلول‌های سرطانی نشان داد که این نانوحامل به‌دلیل تشکیل از لیپیدهای فیزیولوژیک، ایمن است و سمیتی برای سلول‌ها ایجاد نمی‌کند. تحویل تدریجی این ترکیب ضدسرطان به سلول‌های سرطان پستان رده‌ی MCF-7، اثر کشندگی بیشتر در غلظت‌های کمتر نسبت به مشتق سولفونامید تنها ایجاد شد و از پیشروی و گسترش سلول‌های سرطانی به‌طور چشمگیری جلوگیری شود. در مجموع، می‌توان نتیجه گرفت که این نانوحامل قادر است کاستی‌های موجود در ترکیب سولفونامیدی نظیر حلالیت ضعیف و زیست‌دسترس‌پذیری پایین را برطرف کند و با انتقال دارو از طریق هدف‌گیری غیرفعال به سلول‌ها و بافت تومور، مقاومت

سلول‌های سرطانی را نسبت به اثرات ضدتوموری آن کاهش دهد. برای ادامه‌ی این تحقیق، ارتقای عملکرد ضدتوموری این نانوحامل مورد نظر است و با اتصال یک لیگاند هدف‌گیرنده‌ی تومور، امکان تحویل اختصاصی دارو فراهم خواهد شد. بدین ترتیب، از سمیت سیستمیک جلوگیری شده و دارو به‌طور هدفمند به بافت تومور تحویل داده خواهد شد. از سوی دیگر، افزودن یک عامل تصویربرداری منجر به طراحی نانوذره‌ای تشخیصی-درمانی می‌شود که قادر است توزیع زیستی و وضعیت پیشرفت سرطان را ردیابی کند. این ردیابی اطلاعات ارزشمندی در زمینه‌ی تشخیص تومور و تصمیم‌گیری بالینی فراهم خواهد کرد. همچنین، امکان همراه کردن داروی ضدتوموری دیگری نظیر داروهای شیمی‌درمانی با مشتق سولفونامید درون نانوحامل وجود دارد تا به شیوه‌ی درمان ترکیبی از طریق مکانیسم‌های گوناگون به مبارزه با تومور پرداخته شود. بررسی‌های مولکولی و سیگنالینگ سلولی، همراه با مطالعات درون تنی، آنالیزهای ایمونوهیستوشیمی و تصویربرداری، به ارزیابی دقیق عملکرد نانوحامل مهندسی شده کمک خواهد کرد.

این مطالعه می‌تواند مقدمه‌ای برای تحقیقات آینده در زمینه‌ی توسعه‌ی سامانه‌های دارورسانی هوشمند باشد. امید است این تحقیقات بتوانند گامی کارآمد در یافتن راه‌کارهای مؤثر در جهت مهار سرطان باشند و به توسعه‌ی روش‌های جدید و سازنده در این زمینه کمک کنند.

۷- منابع

1. Thun MJ, DeLancey JO, Center MM, Jemal A, Ward EM. The global burden of cancer: priorities for prevention. *Carcinogenesis*. 2010;31(1):100-10.
2. Qu C-Y, Zhou M, Chen Y-w, Chen M-m, Shen F, Xu L-M. Engineering of lipid prodrug-based, hyaluronic acid-decorated nanostructured lipid carriers platform for 5-fluorouracil and cisplatin combination gastric cancer therapy. *International journal of Nanomedicine*. 2015;3911-20.
3. Bukowski K, Kciuk M, Kontek R. Mechanisms of multidrug resistance in cancer chemotherapy. *International journal of molecular sciences*. 2020;21(9):3233.
4. Qu N, Sun Y, Li Y, Hao F, Qiu P, Teng L, et al. Docetaxel-loaded human serum albumin (HSA) nanoparticles: synthesis, characterization, and evaluation. *Biomedical engineering online*. 20. ۱۴-۱۸:۱۰۱۹
5. Taha M, Alshamrani FJ, Rahim F, Uddin N, Chigurupati S, Almandil NB, et al. Synthesis, characterization, biological evaluation, and kinetic study of indole base sulfonamide derivatives as acetylcholinesterase inhibitors in search of potent anti-Alzheimer agent. *Journal of King Saud University-Science*. 2021;33(3):101401.
6. Leu J-J, Pimkina J, Frank A, Murphy ME, George DL. A small molecule inhibitor of inducible heat shock protein 70. *Molecular cell*. 2009;36(1):15-27.
7. Cumaoglu A, Dayan S, Agkaya AO, Ozkul Z, Ozpazan NK. Synthesis and pro-apoptotic effects of new sulfonamide derivatives via activating p38/ERK phosphorylation in cancer cells. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. 2015;30(3):413-9.
8. Moghaddam VA, Kasmaeifar V, Mahmoodi Z, Ghafouri H, Saberi O, Mohammadi A. A novel sulfamethoxazole derivative as an inhibitory agent against HSP70: A combination of computational with in vitro studies. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2021;189:194-205.
9. Joshi DC, Sharma A, Prasad S, Singh K, Kumar M, Sherawat K, et al. Novel therapeutic agents in clinical trials: emerging approaches in cancer therapy. *Discover Oncology*. 2024;15(1):342.

10. Pinheiro R, Granja A, Loureiro JA, Pereira M, Pinheiro M, Neves A ,et al. RVG29-functionalized lipid nanoparticles for quercetin brain delivery and Alzheimer's disease. *Pharmaceutical Research*. 2020;37:1-12.
11. Bae KH, Lee JY, Lee SH, Park TG, Nam YS. Optically traceable solid lipid nanoparticles loaded with siRNA and paclitaxel for synergistic chemotherapy with in situ imaging. *Advanced healthcare materials*. 2013;2(4):576-84.
12. Chen J, Chen H, Cui S, Xue B, Tian J, Achilefu S, et al. Glucosamine derivative modified nanostructured lipid carriers for targeted tumor delivery. *Journal of Materials Chemistry*. 2012;22(12):5770-83.
13. Korake S, Bothiraja C, Pawar A. Design, development, and in-vitro/in-vivo evaluation of docetaxel-loaded PEGylated solid lipid nanoparticles in prostate cancer therapy. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2023;189:15-27.
14. Girotra P, Singh SK. Multivariate optimization of rizatriptan benzoate-loaded solid lipid nanoparticles for brain targeting and migraine management. *AAPS PharmSciTech*. 2017;18(2):517-28.
15. Petrović S ,Tačić A, Savić S, Nikolić V, Nikolić L, Savić S. Sulfanilamide in solution and liposome vesicles; in vitro release and UV-stability studies. *Saudi pharmaceutical journal*. 2017;25(8):1194-200.
16. Silverstein RM, Bassler GC. Spectrometric identification of organic compounds. *Journal of Chemical Education*. 1962;39(11):546.
17. Khankhasaeva ST, Dambueva DV, Dashinamzhiлова ET, Gil A, Vicente MA, Timofeeva MN. Fenton degradation of sulfanilamide in the presence of Al, Fe-pillared clay: catalytic behavior and identification of the intermediates. *Journal of Hazardous Materials*. 2015;293:21-9.
18. Diaz JR, Fernández Baldo M, Echeverría G, Baldoni H, Vullo D, Soria DB, et al. A substituted sulfonamide and its Co (II), Cu (II), and Zn (II) complexes as potential antifungal agents. *Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry*. 2016;31(sup2):51-62.
19. Patel MN, Lakkadwala S, Majrad MS, Injeti ER, Gollmer SM, Shah ZA, et al. Characterization and evaluation of 5-fluorouracil-loaded solid lipid nanoparticles prepared via a temperature-modulated solidification technique. *Aaps Pharmscitech*. 2014;15:1498-508.
20. Mohseni R, ArabSadeghabadi Z, Ziamajidi N, Abbasalipourkabir R, RezaeiFarimani A. Oral administration of resveratrol-loaded solid lipid nanoparticle improves insulin resistance through targeting expression of SNARE proteins in adipose and muscle tissue in rats with type 2 diabetes. *Nanoscale research letters*. 2019;14:1-9.
21. Gao S, Lin H, Zhang H, Yao H, Chen Y, Shi J. Nanocatalytic tumor therapy by biomimetic dual inorganic nanozyme-catalyzed cascade reaction. *Advanced Science*. 2019;6(3):1801733.
22. da Rocha MCO, da Silva PB, Radicchi MA, Andrade BYG, de Oliveira JV, Venus T, et al. Docetaxel-loaded solid lipid nanoparticles prevent tumor growth and lung metastasis of 4T1 murine mammary carcinoma cells. *Journal of nanobiotechnology*. 2020;18:1-20.
23. Shawky S, Makled S, Awaad A, Boraie N. Quercetin loaded cationic solid lipid nanoparticles in a mucoadhesive in situ gel—a novel intravesical therapy tackling bladder cancer. *Pharmaceutics*. 2022;14(11):2527.
24. Semete B, Booysen L, Kalombo L, Venter J, Katata L, Ramalapa B, et al. In vivo uptake and acute immune response to orally administered chitosan and PEG coated PLGA nanoparticles. *Toxicology and applied pharmacology*. 2010;249(2):158-65.
25. Liu K, Chen W, Yang T, Wen B, Ding D, Keidar M, et al. Paclitaxel and quercetin nanoparticles co-loaded in microspheres to prolong retention time for pulmonary drug delivery. *International journal of nanomedicine*. 2017;8239-55.

26. Patil P, Nerlekar N, Rathod S, Mhaldar P, Najm T, Bansode P, et al. Novel sulphonamide-azaheterocycle conjugates and their anti-cancer, anti-inflammatory, anti-diabetic, anti-angiogenesis activity and molecular docking studies. *Results in Chemistry*. 2024;7:101476.
27. Roufayel R, Kadry S. Molecular chaperone HSP70 and key regulators of apoptosis-a review. *Current molecular medicine*. 2019;19(5):315-25.
28. Rérole A-L, Jegou G, Garrido C. Hsp70: anti-apoptotic and tumorigenic protein. *Molecular Chaperones: Methods and Protocols*. 2011:205-30.