








Research Article

Preparation of Nanoliposomes Containing Rosemary Alcoholic Extract with Polyethylene Glycol Coating

Rouhollah Hemmati Bushehri¹ , Mahmoud Reza Jaafari² , Ghasem Mosayebi^{3,4} ,
Ali Ghazavi^{2,5} , Ali Ganji^{3,4,*} 

¹ MSc in Medical Immunology, School of Medicine, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran

² Nanotechnology Research Center, Pharmaceutical Technology Institute, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

³ Department of Immunology, School of Medicine, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran

⁴ Molecular and Medicine Research Center, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran

⁵ Traditional and Complementary Medicine Research Center (TCMRC), Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran

* **Corresponding author:** Ali Ganji, Molecular and Medicine Research Center, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran. Email: a.ganji@arakmu.ac.ir

DOI: [10.61186/jams.27.6.363](https://doi.org/10.61186/jams.27.6.363)

How to Cite this Article:

Hemmati Bushehri R, Jaafari MR, Mosayebi G, Ghazavi A, Ganji A. Preparation of Nanoliposomes Containing Rosemary Alcoholic Extract with Polyethylene Glycol Coating. *J Arak Uni Med Sci.* 2025;27(6): 363-9. DOI: 10.61186/jams.27.6.363

Received: 11.10.2024

Accepted: 03.01.2025

Keywords:

Nanoliposomes;
Rosemary alcoholic extract;
Thin film hydrations;
Drug delivery

© 2024 Arak University of Medical Sciences

Abstract

Introduction: Nowadays, plant-derived compound is widely used in medical treatment as complementary therapies. Rosemary is one of these plants that have anti-angiogenic and anti-tumor effects. However, low solubility and low bioavailability lead to limited use of this compound. To overcome this limitation, the use of liposomes is beneficial. So, this study aimed to prepare liposomes containing rosemary alcoholic extract to obtain the best formulation with best properties to use in the antitumor study.

Methods: Liposomes were prepared by Thin-Film-Hydration method in different ratios of rosemary extract, hydrogenated-soybean-phosphatidylcholine (HSPC), Cholesterol, and mPEG2000 (F1-F6). The characterization of nanoliposomes includes size, PDI (Poly dispersity index), zeta potential, encapsulation efficiency, and release rate was measured.

Results: The results showed that the average particle size and zeta potential were 113.4 nm and -10.8 mV, respectively. Encapsulation efficiency showed a range of 60- 90%. The average release rate of the extract was about 60%. Also, the results showed that the F1 formulation was transparent, had appropriate properties, and did not precipitate. F2 formulation was not transparent. F3-F4 formulations were precipitated, and F5-F6 formulations did not achieve the appropriate size.

Conclusions: This study proved that F1 formulation in a ratio of 55:30:5 HSPC/chol/mPEG2000 is the best formulation for the preparation of nanoliposomes containing rosemary alcoholic extract to achieve the best properties for use in cancer studies.

تهیه نانولیپوزوم حاوی عصاره الکلی رزماری با پوشش پلی اتیلن گلیکول

روح‌اله همتی بوشهری^۱، محمودرضا جعفری^۲، قاسم مسیبی^{۳،۴}، علی قضاوی^{۲،۵}، علی گنجی^{۳،۴} ID

^۱ کارشناسی ارشد ایمنی‌شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران
^۲ مرکز تحقیقات نانو تکنولوژی، پژوهشکده فناوری دارویی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران
^۳ گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران
^۴ مرکز تحقیقات پزشکی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران
^۵ مرکز تحقیقات طب سنتی و مکمل، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران

* نویسنده مسئول: علی گنجی، گروه ایمونولوژی و مرکز تحقیقات پزشکی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران.

ایمیل: a.ganji@arakmu.ac.ir

DOI: 10.61186/jams.27.6.363

چکیده	تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۷/۲۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۰/۱۴
مقدمه: امروزه ترکیبات گیاهی به عنوان درمان مکمل، به‌طور گسترده در درمان‌های پزشکی مورد استفاده قرار می‌گیرند. این ترکیبات گیاهی، دارای مزایایی مانند عوارض جانبی و مقاومت دارویی کم، و متابولیسم مناسب هستند. رزماری، یکی از این گیاهان است که اثر ضد رگ‌زایی، ضد توموری و ضد التهابی دارد. با این حال، حلالیت و فراهمی زیستی کم، منجر به محدود کردن استفاده از این ترکیب می‌شود. جهت غلبه بر این محدودیت، استفاده از لیپوزوم‌ها مفید است. لیپوزوم باعث کاهش سمیت و عوارض جانبی، و افزایش کارایی دارو می‌شود. بنابراین، این مطالعه با هدف تهیه لیپوزوم حاوی عصاره الکلی رزماری برای به دست آوردن بهترین فرمولاسیون با بهترین ویژگی، جهت استفاده در مطالعات سرطانی انجام شد.	واژگان کلیدی: نانولیپوزوم؛ عصاره الکلی رزماری؛ هیدراتاسیون لایه نازک؛ تحويل دارو
روش کار: لیپوزوم به روش Thin Film Hydration در فرمولاسیون‌های مختلف (F1-F6) عصاره الکلی رزماری، فسفاتیدیل کولین هیدروژنه شده سویا (HSPC)، کلسترول و پلی‌اتیلن‌گلیکول mPEG2000 تهیه شد. ویژگی‌های نانولیپوزوم شامل اندازه، شاخص پراکندگی (PDI (Poly dispersity index))، پتانسیل زتا، میزان کپسوله‌سازی و نرخ آزادسازی اندازه‌گیری شد.	تمامی حقوق نشر برای دانشگاه علوم پزشکی اراک محفوظ است.
یافته‌ها: نتایج نشان داد میانگین اندازه ذرات و پتانسیل زتا به ترتیب ۱۱۳/۴ نانومتر و ۱۰/۸- میلی‌ولت بود. میزان کپسوله‌سازی در محدوده ۶۰ تا ۹۰ درصد بود. متوسط نرخ آزادسازی عصاره حدود ۶۰ درصد بود. همچنین نتایج نشان داد که فرمول F1 شفاف و دارای ویژگی‌های مناسب بوده و رسوب نمی‌کند. فرمول F2 شفاف نبود. فرمولاسیون F3 و F4، رسوب دادند. فرمولاسیون‌های F5 و F6 اندازه مناسب را به دست نیاوردند.	
نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان داد که فرمولاسیون F1 در نسبت ۵:۳۰:۵۵ HSPC/chol/mPEG2000، بهترین فرمولاسیون برای تهیه نانولیپوزوم حاوی عصاره الکلی رزماری برای دستیابی به بهترین ویژگی و کارایی جهت استفاده در مطالعات سرطانی است.	
ارجاع: همتی بوشهری روح‌اله، جعفری محمودرضا، قضاوی علی، گنجی علی. تهیه نانولیپوزوم حاوی عصاره الکلی رزماری با پوشش پلی اتیلن گلیکول. مجله دانشگاه علوم پزشکی اراک ۱۴۰۳؛ ۲۷ (۶): ۳۶۹-۳۶۳.	

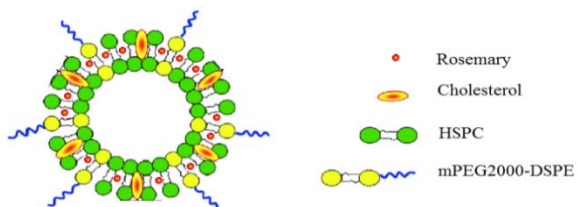
سازمان جهانی بهداشت، حدود ۸۰ درصد از جمعیت جهان از این نوع درمان استفاده می‌کنند (۱). استفاده از داروهای گیاهی، دارای مزایای سهولت دسترسی، بهبود متابولیسم، تقویت سیستم ایمنی، عوارض جانبی کمتر، کاهش مقاومت دارویی می‌باشد (۲). ترکیبات گیاهی به صورت‌های مختلفی چون عصاره، روغن‌های اساسی و مواد موثره، مورد استفاده قرار می‌گیرند که از استفاده از فرم عصاره، شایع‌تر است. عصاره، یک فرآورده چندجزئی است که با خشک کردن، خرد کردن، تقطیر، استخراج،

مقدمه
گیاهان در طول تاریخ، پایه و منشأ معالجات پزشکی بوده‌اند و امروزه به‌طور گسترده‌ای در صنایع پزشکی و داروسازی استفاده می‌شوند. در داروهای طب مدرن، از بسیاری از ترکیبات مشتق از گیاه، به عنوان پایه اصلی دارو استفاده شده است (۱)، به ویژه داروهای شیمی‌درمانی، مانند وینبلاستین (Catharanthus Roseus)، پاکالی تاکسل (European yew)، اتوپوزید (Mayapple Root) و غیره. طبق آمار

مزایای استفاده از لیپوزوم در سیستم‌های تحویل دارو، شامل کاهش سمیت دارو، افزایش کارایی و ثبات دارو، کاهش عوارض جانبی دارو و کاهش قرار گرفتن دارو در معرض بافت‌های حساس است (۱۵، ۱۶). بنابراین، با توجه به خواص درمانی مفید عصاره رزماری و کاربرد لیپوزوم به عنوان یک حامل بسیار مناسب در تحویل دارو، هدف از این مطالعه، نحوه آماده‌سازی نانولیپوزوم و انکپسولاسیون عصاره الکلی رزماری در آن با روش Thin Film Hydration (۱۷)، جهت دستیابی به بهترین فرمولاسیون با بهترین ویژگی، برای استفاده در مطالعات سرطانی بود.

روش کار

تهیه نانوذره: عصاره الکلی رزماری بر اساس مطالعه قبلی تهیه شد (۱۸). طبق جدول ۱، نسبت‌های مختلف (F1-F6) از عصاره رزماری، کلسترول (Sigma-Aldrich, Mo) (High Saturated Phosphatidyl) و (Ludwigshafen, Germany) HSPC (Choline) و (Ludwigshafen, Germany) mPEG2000 در ۵ سی‌سی کلروفورم/تانول (نسبت ۲:۱ حجمی/حجمی) به خوبی مخلوط شدند. ادامه، مخلوط تهیه شده در دستگاه تبخیرکننده چرخان (Laborota Rotary Evaporator 4000, Heidolph, Germany) با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته تا با سرعت کم چرخش کند و لیپیدهای خشک، مشاهده شود. در نهایت، نمونه‌ها به مدت ۴ ساعت در دستگاه لیوفیلیزاتور (Freez Dry) گذاشته شد تا باقیمانده حلال نیز تبخیر و فیلم لیپیدی تشکیل شود (شکل ۲).

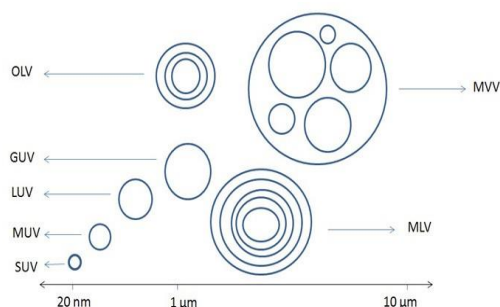


شکل ۲. نانوذره تهیه شده

هیدراتاسیون: ابتدا ۰/۵ سی‌سی بافر سوکروز و هیستیدین با $\text{pH} = 6$ (۵mM) به فیلم لیپیدی اضافه کرده و به مدت ۱۰ ثانیه با حداکثر سرعت ورتکس شد تا مواد لیپیدی به حالت شناور درآیند. ۰/۵ سی‌سی دیگر بافر به همین ترتیب اضافه شد. سپس دمای حمام آب (Bandelin, Germany) ۶۵ درجه تنظیم، و لوله حاوی محلول لیپیدی به مدت ۴۰ دقیقه با امواج فراصوت (۳۰ kHz)، سونیکیت شد تا محلول شفاف مشاهده و لیپوزوم‌ها همگن شوند. هر ۱۵ دقیقه، محلول لیپیدی کنترل شد.

فیلتراسیون و مخلوط شدن با یک حلال بی‌اثر، بدست می‌آید (۳). رزماری، یک گیاه همیشه سبز و معطر، از خانواده نعنائیان و بومی مدیترانه است (۴). عصاره رزماری، حاوی ترکیبات فیتوشیمیایی رزمارینیک اسید، کافئیک اسید، اورسولیک اسید، کارنوسیک اسید، بتولینیک اسید، کارنوزول و کافور است (۵). مطالعات متعددی نشان داده‌اند که عصاره رزماری دارای فعالیت‌های بیولوژیکی از جمله محافظت از سلول‌های کبدی، کاهش درد عضله، آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی و درمان بیماری آلزایمر است (۶، ۷). عصاره رزماری به دلیل اثر ضد آنژیوژنیک، ضد تکثیر و توقف چرخه سلولی، در معالجه بیماری‌های سرطانی و توموری مورد استفاده قرار گرفته است (۸-۱۰). با وجود اثرات درمانی مطلوب گیاه رزماری، مشکلاتی مانند حساس بودن، تخریب زودهنگام، حلالیت کم و متابولیسم ناپایدار آن‌ها، محدود کننده استفاده از این ترکیبات در درمان است (۱۰، ۱۱). جهت رفع این محدودیت، از روش‌های نوین تحویل دارو مانند لیپوزوم، استفاده می‌شود (۱۲).

لیپوزوم؛ یک حامل زیست تخریب‌پذیر و زیست سازگار (۱۳)، وزیکول‌های کوچک، با دولاچه فسفولیپیدی است که ویژگی آمفیپاتیک یا دوگانه دوست دارند. به همین دلیل امکان کپسوله کردن و انتقال انواع داروهای آبریز (بارگیری بین دو لایه فسفولیپیدی) و آب دوست (بارگیری در محیط آبی) را فراهم می‌کنند. با وجود ایمونوژن نبودن لیپوزوم، جهت جلوگیری از فاگوسیتوز توسط سیستم اندوتلیال، از لیپوزوم‌های پوشیده شده از پلی اتیلن گلیکول (PEG) استفاده می‌شود (۱۴). لیپوزوم‌ها بر اساس سایز و تعداد لایه، به ۴ دسته Unilamellar Vesicles (ULV), Multilamellar Vesicles (MLV), Oligolamellar Vesicles (OLV) و MVV (Multivesicular Vesicles) تقسیم می‌شوند که در انتخاب نوع تجویز دارو اهمیت دارد (شکل ۱) (۱۴).



MVV; Multivesicular Vesicles, MLV; Multilamellar Vesicles, OLV; Oligolamellar Vesicles, SUV; Small Unilamellar Vesicles, MUV; Medium Unilamellar Vesicles, LUV; Large Unilamellar Vesicles, GUV; Giant Unilamellar Vesicles.

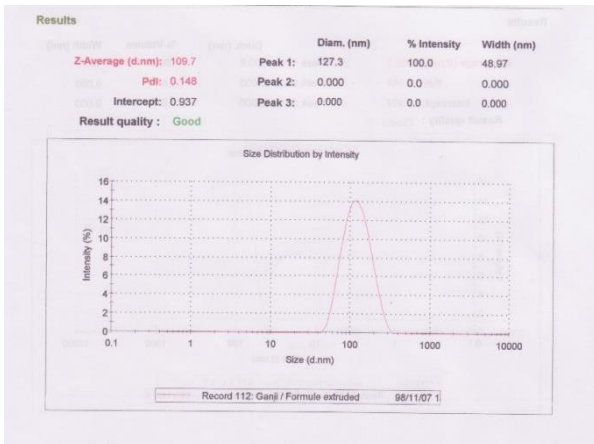
شکل ۱. شمای ساختاری انواع لیپوزوم

جدول ۱. مقادیر مورد نیاز جهت تهیه فیلم لیپیدی

نام فرمولاسیون	غلظت نهایی	عصاره رزماری (درصد)	کلسترول (درصد)	mPEG2000 (درصد)	HSPC (درصد)
F1	۵۰ mM/۱cc	۱۰	۳۰	۵	۵۵
F2	۵۰ mM/۲ cc	۷/۵	۳۰	۵	۵۷/۵
F3	۷۵ mM/۲ cc	۱۰	۴۰	۵	۴۵
F4	۷۵ mM/۳ cc	۷/۵	۴۰	۵	۴۷/۵
F5	۷۵ mM/۱ cc	۱۰	۳۰	۵	۵۵
F6	۷۵ mM/۱ cc	۷/۵	۳۰	۵	۵۷/۵

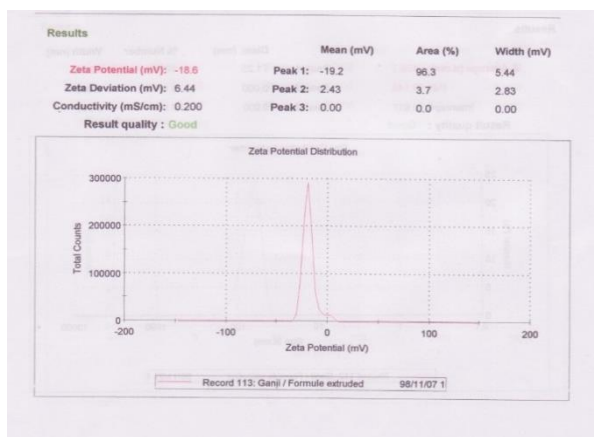
یافته‌ها

نتایج نشان داد که نانوذرات تهیه شده دارای اندازه متوسط $113/4$ نانومتر (شکل ۴) در فرمولاسیون F1-F4 است، اما اندازه متوسط در فرمولاسیون‌های F5 و F6 بزرگتر است و میانگین پتانسیل زتای نانوذرات هم $10/8$ - میلی‌ولت (شکل ۵) است.



شکل ۴. اندازه نانوذرات

شاخص پراکندگی (PDI) نانوذرات در فرمولاسیون‌های F1-F6 (شکل ۶) مناسب، ولی در فرمولاسیون F2 گسترده بود (شکل ۷).



شکل ۵. توزیع پتانسیل زتا

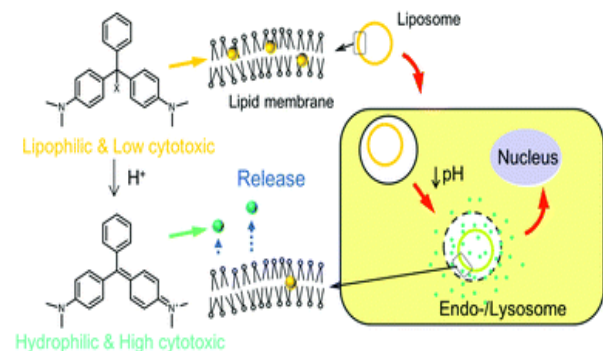
همچنین نتایج نشان داد که میزان کپسوله‌سازی در محدوده ۶۰ تا ۹۰ درصد است. متوسط نرخ آزادسازی عصاره در $pH = 6/5$ حدود ۶۰ درصد و در $pH = 7$ حدود ۳۱ درصد بود. جدول ۲ خصوصیات فرمولاسیون‌های مختلف را نشان می‌دهد.

همچنین نتایج نشان داد که F1 شفاف بوده و فیلتراسیون و استخراج به راحتی انجام شد و رسوب تشکیل نشد. F2 شفاف و همگن نبود و میزان کپسوله سازی مطلوب نبود. در F3 و F4، رسوب بیش از حد مشاهده شد و میزان کپسوله‌سازی و سرعت آزادسازی عصاره پایین بود. F5 و F6 اندازه مناسب را بدست نیاوردند.

استخراج نانوذرات: بدین منظور، فیلترهای 0.4 ، 200 و 100 نانومتر انتخاب شد، و قبل از استفاده در آب مقطر گذاشته شد تا کاملاً خیس بخورند. ابتدا فیلتر 400 نانومتری را روی لوله استخراج (Extruder Tube) قرار داده، با 11 بار عبور دادن سوسپانسیون لیپیدی از کاغذ فیلتر، لیپوزوم استخراج شد. سپس همین مراحل به ترتیب با فیلترهای 200 و 100 نانومتری تکرار شد. قبل از بستن درب نمونه، در نهایت، به مدت 15 ثانیه هوای داخل ویال با گاز آرگون یا نیتروژن جایگزین شد، تا اکسیژن داخل آن تخلیه، و مانع از اکسیداسیون لیپیدها شود.

تعیین اندازه و پتانسیل زتا: پس از استخراج لیپوزوم، 25μ از آن با 2.25 ml بافر هیدراته مخلوط شد، و توسط دستگاه آنالیز پتانسیل زتا (Malvern Instruments Ltd., Malvern, UK)، اندازه لیپوزوم‌ها، شاخص پراکندگی (PDI) و پتانسیل زتای آن‌ها به محاسبه شد. شکل میکروسکوپی نانوذرات نیز، توسط میکروسکوپ نیروی اتمی بررسی گردید. **محاسبه میزان کپسوله‌سازی:** از نمونه لیپوزوم آماده شده، در دو میکروتیوب ریخته می‌شود. یک میکروتیوب با دور 14000 به مدت 10 دقیقه سانتریفیوژ شده (laboratory centrifuge, Hettich Universal 320 R) و میکروتیوب دیگر سانتریفیوژ نمی‌شود. از نمونه سانتریفیوژ شده و نشده، رقت سریالی $1/20$ ، $1/40$ و $1/80$ تهیه می‌شود. سپس نمونه‌ها با استفاده از متانول لیز شده تا عصاره داخل لیپوزوم، آزاد شود. مقدار جذب قبل و بعد از سانتریفیوژ در طول موج 283 نانومتر خوانش شده و در مقایسه با منحنی استاندارد، غلظت آن محاسبه می‌شود. در نهایت، غلظت عصاره در فرمولاسیون بعد از سانتریفیوژ بر غلظت آن قبل از سانتریفیوژ تقسیم شده، با ضرب کردن در 100 ، میزان کپسوله‌سازی (Encapsulation efficiency) محاسبه می‌شود.

تعیین میزان آزادسازی عصاره: برای این کار، دو pH مختلف انتخاب شد: $pH = 7/5$ با PBS و $pH = 6/5$ با سوکروز/هیستیدین (بافر فرمولاسیون). 500μ از فرمولاسیون لیپوزوم، داخل کیسه دیالیز با وزن مولکولی $2/5$ کیلو دالتون (Pierce, Rockford, IL) ریخته و درون 50 ml از بافر مربوط به هر pH قرار داده می‌شود. در نقطه زمان‌های 10 ، 15 ، 20 و 30 دقیقه، 1 ، 2 ، 4 ، 8 ، 12 ، 24 و 48 ساعت، با برداشتن 1 ml از بافر دیالیز شده، میزان آزاد سازی عصاره (شکل ۳) با روش اسپکتروفتومتری در طول موج 283 نانومتر محاسبه شد. حجم مشابه با بافر برداشته شده را بلافاصله جایگزین کرده تا حجم سیستم، ثابت بماند.



شکل ۳. آزادسازی عصاره از نانوذرات

جدول ۲. ویژگی فرمولاسیون‌های تهیه شده.

نام فرمولاسیون	اندازه (نانومتر)	شاخص پراکندگی	پتانسیل زتا (میلی‌ولت)	میزان کپسولاسیون (درصد)	نرخ آزادسازی (درصد)
F1	۱۱۳/۴	۰/۲۷	-۱۰/۸	۸۵	۷۰
F2	۱۲۳/۴	۰/۴۷	-۱۰/۸	۷۰	۷۰
F3	۱۱۰/۶	۰/۱۷	-۱۰/۸	۶۵	۵۵
F4	۱۱۰/۶	۰/۱۷	-۱۰/۸	۶۰	۵۰
F5	۲۰۳/۸	۰/۲۷	-۱۰/۸	۹۰	۶۰
F6	۲۱۳/۶	۰/۲۷	-۱۰/۸	۸۰	۵۵

با افزایش اندازه لیپوزوم (بیش از ۲۰۰ نانومتر)، ظرفیت بارگیری لیپوزوم افزایش و نیمه عمر، پایداری و قدرت تخلیه آن، کاهش می‌یابد، بنابراین اندازه لیپوزوم تا ۱۵۰ نانومتر مناسب است (۲۴-۲۶). در نتیجه، اندازه لیپوزوم تهیه شده در فرمولاسیون‌های F5-F6 بیشتر، و سرعت رهاسازی در آن‌ها کمتر از سایر فرمولاسیون‌ها بود. شاخص پراکندگی (PDI) توزیع اندازه ذرات و یکنواختی را نشان می‌دهد و بر کیفیت لیپوزوم تأثیر می‌گذارد (۲۷). یک مطالعه بیان کرد که PDI بالاتر از ۰/۳، نشان‌دهنده هتروژنی و ناهمگنی توزیع ذرات است (۱). بنابراین، PDI به دست آمده مناسب بود، به جز در فرمولاسیون F2، که PDI آن، توزیع ناهمگن ذرات را نشان داد و مناسب نبود.

بار سطحی، شاخص مهمی در پایداری و توزیع فرمولاسیون لیپوزومی است که به عنوان پتانسیل زتا نشان داده می‌شود. از آنجا که پتانسیل زتا در برداشت لیپوزوم توسط سیستم رتیلولاندوتلیال و تجمع لیپوزوم‌ها مؤثر است، پتانسیل زتای ایجاد شده، مناسب بود (۱۳، ۲۴، ۲۸، ۲۹). روش کپسوله‌سازی برای بهبود حلالیت کم در آب و پایداری متابولیسم لیپوزوم به کار می‌رود (۳۰). نتایج نشان داد که با افزایش غلظت کلسترول در فرمولاسیون، میزان کپسوله‌سازی کاهش می‌یابد.

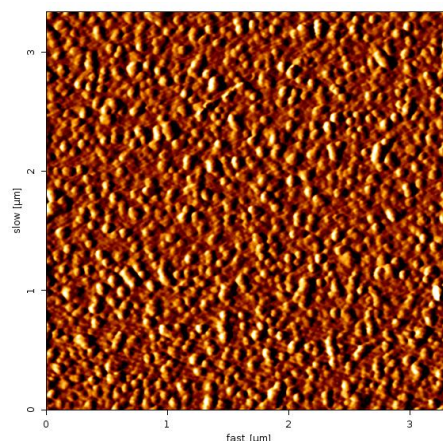
شرایط اسیدی، پایداری لیپوزوم را کاهش داده و سرعت آزادسازی دارو از لیپوزوم را افزایش می‌دهد (۳۱، ۳۲). دلیل این امر این است که شرایط اسیدی (مانند $\text{pH} = 6/5$ در این مطالعه)، باعث کاهش نیروهای واندروالس بین فسفولیپیدها و ایجاد دافعه الکترواستاتیک بین گروه‌های کولین می‌شود که در نهایت منجر به ناپایداری غشاء لیپوزوم و افزایش آزادسازی داروی بارگیری شده در لیپوزوم می‌شود (۳۳). نتایج نشان داد که با افزایش غلظت کلسترول و اندازه ذرات، سرعت آزادسازی کاهش می‌یابد و این مورد، در فرمولاسیون‌های F3-F6 مناسب نبود.

نتیجه‌گیری

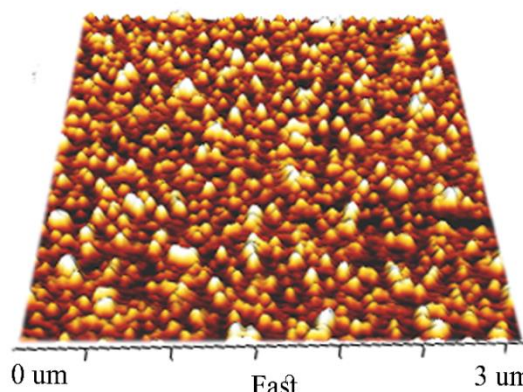
با توجه به نتایج به دست آمده از فرمولاسیون‌های مختلف در این مطالعه، مشخص شد که فرمولاسیون F1 در نسبت ۵:۳۰:۵۵ HSPC/chol/mPEG2000 به دلیل شفافیت، عدم تشکیل رسوب، اندازه، میزان کپسوله‌سازی و نرخ آزادسازی مناسب، بهترین فرمولاسیون برای تهیه نانولیپوزوم حاوی عصاره الکلی رزماری است. بنابراین فرمول F1 می‌تواند در مطالعات آینده *in-vivo* و *in-vitro* بیماری‌های سرطانی و تومور، برای تعیین اثربخشی آن استفاده شود.

تشکر و قدردانی

این مقاله، حاصل پایان‌نامه مقطع کارشناسی ارشد ایمنی‌شناسی پزشکی



شکل ۶. تصویر نانوذرات فرمولاسیون F1 در میکروسکوپ نیروی اتمی



شکل ۷. تصویر نانوذرات فرمولاسیون F2 در میکروسکوپ نیروی اتمی

بحث

عصاره گیاه رزماری، دارای خواص ضد توموری و ضد سرطانی است (۱۰، ۱۹). اما متابولیسم ناپایدار و حلالیت آبی کم آن‌ها، باعث محدودیت در استفاده از این ترکیب گیاهی می‌شود، بنابراین استفاده از نانوحامل‌های مختلفی مانند لیپوزوم، کمک‌کننده است (۱۲). کلسترول موجود در نانوذرات، باعث استحکام و پایداری غشای نانوذرات شده و مانع از تخریب آن می‌شود (۲۰). بنابراین نرخ آزادسازی در فرمولاسیون‌های F3-F4 کمتر از بقیه فرمولاسیون‌ها بود. همچنین، پوشش پلی‌اتیلن گلیکول توسط mPEG2000-DSPE، باعث عبور لیپوزوم از سیستم رتیلولاندوتلیال، و افزایش ماندگاری لیپوزوم در جریان خون تا ۴۸ ساعت، و افزایش کارایی داروی بارگیری شده، می‌شود (۲۱-۲۳).

تحلیل و تفسیر داده‌ها، تصویب نهایی نسخه آماده چاپ. علی قضاوی: تحلیل و تفسیر داده‌ها، تصویب نهایی نسخه آماده چاپ. علی گنجی: طراحی مطالعه، انجام آزمایش‌ها، روش‌شناسی، استخراج داده‌ها، نگارش مقاله، تصویب نهایی نسخه آماده چاپ.

تضاد منافع

نویسندگان هیچ تضاد منافی را گزارش نمی‌کنند.

در سال ۱۴۰۰ با کد ۱۳۹۸.۳۳۷ می‌باشد که با حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی اجرا شده است. نویسندگان، از حمایت مسئولین دانشگاه علوم پزشکی اراک تشکر می‌کنند.

سهم نویسندگان

روح‌اله همتی بوشهری: انجام آزمایش‌ها، روش‌شناسی، استخراج داده‌ها، نگارش مقاله، تصویب نهایی نسخه آماده چاپ. محمودرضا جعفری: روش‌شناسی، بررسی مقاله، تصویب نهایی نسخه آماده چاپ. قاسم مسیبی:

References

- Aarabi MH, Chabok H, Mirzapour A, Ardestani MS, Mostafa M. Preparation of nanoliposomes containing Rosmarinus officinalis L essential oil; A comparative study. Biosc Biotech Res Comm. 2017;10:105-10. doi: 10.21786/bbrc/10.1/15
- Cravotto G, Boffa L, Genzini L, Garella D. Phytotherapeutics: an evaluation of the potential of 1000 plants. J Clin Pharm Ther. 2010;35(1):11-48. PMID: 20175810 doi: 10.1111/j.1365-2710.2009.01096.x
- Monagas M, Brendler T, Brinckmann J, Dentali S, Gafner S, Giancaspro G, et al. Understanding plant to extract ratios in botanical extracts. Front Pharmacol. 2022;13:981978. PMID: 36249773 doi: 10.3389/fphar.2022.981978
- Ghasemzadeh Rahbardar M, Hosseinzadeh H. Therapeutic effects of rosemary (Rosmarinus officinalis L.) and its active constituents on nervous system disorders. I Iran J Basic Med Sci. 2020;23(9):1100-12. PMID: 32963731 doi: 10.22038/ijbms.2020.45269.10541
- Vallverdú-Queralt A, Regueiro J, Martínez-Huélamo M, Rinaldi Alvarenga JF, Leal LN, Lamuela-Raventos RM. A comprehensive study on the phenolic profile of widely used culinary herbs and spices: Rosemary, thyme, oregano, cinnamon, cumin and bay. Food Chem. 2014;154:299-307. PMID: 24518346 doi: 10.1016/j.foodchem.2013.12.106
- Nieto G, Ros G, Castillo J. Antioxidant and Antimicrobial Properties of Rosemary (Rosmarinus officinalis, L.): A Review. Medicines (Basel). 2018;5(3):98. PMID: 30181448 doi: 10.3390/medicines5030098
- Jahanfar S, Gahavami M, Khosravi-Darani K, Jahadi M, Mohsin H, Todorov SD, et al. The effect of antioxidant properties of free and encapsulated rosemary extract in liposome on the oxidation process of canola oil. International Journal of Food Science & Technology. 2023;58(10):5521-9. doi: 10.1111/ijfs.16450
- Tan W, Lu J, Huang M, Li Y, Chen M, Wu G, et al. Anti-cancer natural products isolated from chinese medicinal herbs. Chinese Medicine. 2011;6(1):27. PMID: 21777476 doi: 10.1186/1749-8546-6-27
- Perez-Sanchez A, Barrajon-Catalan E, Ruiz-Torres V, Agullo-Chazarra L, Herranz-Lopez M, Valdes A, et al. Rosemary (Rosmarinus officinalis) extract causes ROS-induced necrotic cell death and inhibits tumor growth in vivo. Sci Rep. 2019;9(1):808. PMID: 30692565 doi: 10.1038/s41598-018-37173-7
- Ghafarkhani S, Aarabi M, Safari M, Shafee Ardestani M, Kheiripour N. Anti-cancer effects of nanoliposomes containing Rosemary and Zataria multiflora boiss essential oils on hepg2 cell line under in vitro conditions [in Persian]. J Babol Univ Med Sci. 2022;24(1):141-50. doi: 10.22088/jbums.24.1.141
- Jahanfar S, Gahavami M, Khosravi-Darani K, Jahadi M, Mozafari MR. Entrapment of rosemary extract by liposomes formulated by Mozafari method: physicochemical characterization and optimization. Heliyon. 2021;7(12):e08632. PMID: 35005281 doi: 10.1016/j.heliyon.2021.e08632
- Devi VK, Jain N, Valli KS. Importance of novel drug delivery systems in herbal medicines. Pharmacogn Rev. 2010;4(7):27-31. PMID: 22228938 doi: 10.4103/0973-7847.65322
- Kateh Shamshiri M, Jaafari MR, Badiie A. Preparation of liposomes containing IFN-gamma and their potentials in cancer immunotherapy: In vitro and in vivo studies in a colon cancer mouse model. Life Sci. 2021;264:118605. PMID: 33096119 doi: 10.1016/j.lfs.2020.118605
- Safarzaie A, Beik M, Alizadeh M, Firoozkoobi M. Liposomes and its applications in drug delivery. Nano science and Technology Conference: Gorgan; 2014.
- Akbarzadeh A, Rezaei-Sadabady R, Davaran S, Joo SW, Zarghami N, Hanifehpour Y, et al. Liposome: classification, preparation, and applications. Nanoscale Res Lett. 2013;8(1):102. PMID: 23432972 doi: 10.1186/1556-276X-8-102
- Khabbazian S, Mirhadi E, Gheybi F, Askarizadeh A, Jaafari MR, Alavizadeh SH. Liposomal delivery of organoselenium-cisplatin complex as a novel therapeutic approach for colon cancer therapy. Colloids and surfaces B, Biointerfaces. 2024;242:114085. doi: 10.1016/j.colsurfb.2024.114085
- Zhang H. Thin-film hydration followed by extrusion method for liposome preparation. Methods Mol Biol. 2017;1522:17-22.
- Makaremi S, Ganji A, Ghazavi A, Mosayebi G. Inhibition of tumor growth in CT-26 colorectal cancer-bearing mice with alcoholic extracts of Curcuma longa and Rosmarinus officinalis. Gene Reports. 2021;22:101006. doi: 10.1016/j.genrep.2020.101006
- González-Vallinas M, Reglero G, Ramírez de Molina A. Rosemary (Rosmarinus officinalis L.) Extract as a Potential Complementary Agent in Anticancer Therapy. Nutr Cancer. 2015;67(8):1221-9. PMID: 26452641 doi: 10.1080/01635581.2015.1082110
- Nsairat H, Ibrahim AA, Jaber AM, Abdelghany S, Atwan R, Shalan N, et al. Liposome bilayer stability: emphasis on cholesterol and its alternatives. J Liposome Res. 2024;34(1):178-202. PMID: 37378553 doi: 10.1080/08982104.2023.2226216
- Zhao T, Liu Y, Gao Z, Gao D, Li N, Bian Y, et al. Self-assembly and cytotoxicity study of PEG-modified ursolic acid liposomes. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl. 2015;53:196-203. PMID: 26042707 doi: 10.1016/j.msec.2015.04.022
- Lamichhane N, Udayakumar TS, D'Souza WD, Simone CB, 2nd, Raghavan SR, Polf J, et al. Liposomes: Clinical Applications and Potential for Image-Guided Drug Delivery. Molecules. 2018;23(2):288. PMID: 29385755 doi: 10.3390/molecules23020288
- Taher M, Susanti D, Haris MS, Rushdan AA, Widodo RT, Syukri Y, et al. PEGylated liposomes enhance the effect of

- cytotoxic drug: A review. *Heliyon*. 2023;9(3):e13823. **pmid:** 36873538 **doi:** 10.1016/j.heliyon.2023.e13823
24. Caldeira de Araujo Lopes S, Vinicius Melo Novais M, Salviano Teixeira C, Honorato-Sampaio K, Tadeu Pereira M, Ferreira LA, et al. Preparation, physicochemical characterization, and cell viability evaluation of long-circulating and pH-sensitive liposomes containing ursolic acid. *Biomed Res Int*. 2013;2013:467147. **pmid:** 23984367 **doi:** 10.1155/2013/467147
 25. Maeda N, Takeuchi Y, Takada M, Sadzuka Y, Namba Y, Oku N. Anti-neovascular therapy by use of tumor neovasculature-targeted long-circulating liposome. *Journal of controlled release : official journal of the Controlled Release Society*. 2004;100(1):41-52. **pmid:** 15491809 **doi:** 10.1016/j.jconrel.2004.07.033
 26. Choi S, Kang B, Yang E, Kim K, Kwak MK, Chang P-S, et al. Precise control of liposome size using characteristic time depends on solvent type and membrane properties. *Sci Rep*. 2023;13(1):4728. **pmid:** 36959258 **doi:** 10.1038/s41598-023-31895-z
 27. Hoseini B, Jaafari MR, Golabpour A, Momtazi-Borojeni AA, Karimi M, Eslami S. Application of ensemble machine learning approach to assess the factors affecting size and polydispersity index of liposomal nanoparticles. *Sci Rep*. 2023;13(1):18012. **pmid:** 37865639 **doi:** 10.1038/s41598-023-43689-4
 28. Wang M, Zhao T, Liu Y, Wang Q, Xing S, Li L, et al. Ursolic acid liposomes with chitosan modification: Promising antitumor drug delivery and efficacy. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2017;71:1231-40. **pmid:** 27987679 **doi:** 10.1016/j.msec.2016.11.014
 29. Jarzynska K, Gajewicz-Skretna A, Ciura K, Puzyrn T. Predicting zeta potential of liposomes from their structure: A nano-QSPR model for DOPE, DC-Chol, DOTAP, and EPC formulations. *Comput Struct Biotechnol J*. 2024;25:3-8. **PMID:** 38328349 **doi:** 10.1016/j.csbj.2024.01.012
 30. Yücel Ç, Şeker-Karatoprak G. Development and evaluation of the antioxidant activity of liposomes and nanospheres containing rosmarinic acid. *Farmacia*. 2017;65(1):40-5.
 31. Vakili-Ghartavol R, Rezayat SM, Faridi-Majidi R, Sadri K, Jaafari MR. Optimization of Docetaxel Loading Conditions in Liposomes: proposing potential products for metastatic breast carcinoma chemotherapy. *Sci Rep*. 2020;10(1):1-14. **doi:** 10.1038/s41598-020-62501-1
 32. Pasarin D, Ghizdareanu AI, Enascuta CE, Matei CB, Bilbie C, Paraschiv-Palada L, et al. Coating Materials to Increase the Stability of Liposomes. *Polymers (Basel)*. 2023;15(3): 782. **PMID:** 36772080 **doi:** 10.3390/polym15030782
 33. Karimi M, Gheybi F, Zamani P, Mashreghi M, Golmohammadzadeh S, Darban SA, et al. Preparation and characterization of stable nanoliposomal formulations of curcumin with high loading efficacy: In vitro and in vivo anti-tumor study. *Int J Pharm*. 2020;580:119211. **pmid:** 32156530 **doi:** 10.1016/j.ijpharm.2020.119211