

## نانوکپسول پلی کاپرولاکتون حاوی اولاپاریب یک سیستم آهسته رهش دارو در درمان سرطان سینه

مریم شجاعی فرد<sup>۱</sup>، نورهان جاسم محمد الجعفری<sup>۱</sup>، زهره میرجعفری<sup>۱</sup>، محمدحسن جعفری صیادی<sup>۱</sup>، حمید سعیدیان<sup>۳\*</sup>

۱. گروه شیمی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲. دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

۳. دانشکده علوم پایه، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

### اطلاعات مقاله

### چکیده



#### واژه‌های کلیدی:

نانوکپسول‌های پلی کاپرولاکتون،  
اولاپاریب، سیستم رهش دارو،  
سنجش MTT، نانوذرات پلیمری

#### Keywords:

Polycaprolactone  
nanocapsules, Olaparib,  
Drug delivery system,  
MTT assay,  
Polymeric nanoparticles

دریافت: ۱۴۰۴/۰۱/۰۴

پذیرش: ۱۴۰۴/۰۳/۱۲

نوع مقاله: علمی - پژوهشی

سرطان سینه و تخمدان از شایع‌ترین انواع سرطان در میان زنان به‌شمار می‌روند. اولاپاریب (OLP) یکی از داروهای تأیید شده برای درمان این سرطان‌ها است، اما به دلیل حلالیت پایین آن در محیط آبی و نیاز به مصرف دوزهای بالا، طراحی یک سیستم رهش مؤثر برای این دارو ضرورت دارد. در این مطالعه، یک سامانه رهش دارو مبتنی بر نانوکپسول‌های پلی کاپرولاکتون (PCL) طراحی و تهیه شد و ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی آن در طی ۴۰ روز مورد بررسی قرار گرفت. میزان داروی بارگذاری شده در نانوکپسول‌ها با استفاده از روش UV-Vis، برابر با ۹۱ درصد تعیین شد. اندازه متوسط ذرات ۲۲۱ نانومتر، شاخص پراکندگی (PDI) برابر ۰/۱۹۶ و پتانسیل زتا معادل ۲۹/۷۰- میلی‌ولت به دست آمد که نشان‌دهنده پایداری مناسب نانوکپسول‌های OLP@PCL است. تصاویر TEM نیز ریخت‌شناسی کروی و بدون تجمع ذرات را تأیید کرد. پس از ۴۰ روز نگهداری در دمای محیط، هیچ‌گونه ناپایداری، تجمع یا تجزیه در ساختار نانوکپسول‌ها مشاهده نشد. نتایج بررسی پروفایل رهش آزمایشگاهی حاکی از رهش کنترل‌شده دارو از نانوکپسول‌های PCL بود. همچنین، نتایج آزمون MTT روی سلول‌های سرطانی MCF-7 نشان داد که سمیت سلولی داروی بارگذاری شده در نانوکپسول‌ها نسبت به فرم آزاد آن حدود ۱/۳۵ برابر کمتر است.

### مقدمه

مآزاد داروها و محصولات تجزیه‌ای آن‌ها از آلاینده‌های نوظهور محیط زیست هستند که با ورود کنترل نشده به اکوسیستم‌های آبی و خاکی، موجب افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی و اختلالات هورمونی می‌شوند.

مآزاد داروها و محصولات تجزیه‌ای آن‌ها از آلاینده‌های نوظهور محیط زیست هستند که با ورود کنترل نشده به اکوسیستم‌های آبی و خاکی، موجب افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی و اختلالات هورمونی می‌شوند.

+E-mail: Saeidian1980@pnu.ac.ir

\*عهده‌دار مکاتبات

رجاع: مریم شجاعی فرد، نورهان جاسم محمد الجعفری، زهره میرجعفری، محمدحسن جعفری صیادی، حمید سعیدیان، نانوکپسول پلی کاپرولاکتون حاوی اولاپاریب یک سیستم آهسته رهش دارو در درمان سرطان سینه، نشریه شیمی و مهندسی شیمی ایران، (۳): ۴۴-۱ تا ۱۲ (۱۴۰۴).

نرخ رهائش دارو، عبور از موانع فیزیولوژیکی (مانند سد خونی-مغزی) و میزان تجمع در بافت توموری دارد. تولید نانوکپسول‌هایی با اندازه یکنواخت و قابل کنترل، نیازمند بهینه‌سازی دقیق پارامترهای فرآیندی نظیر سرعت هم‌زدن، دمای واکنش، غلظت پلیمر و نسبت فازهای آلی و آبی می‌باشد. نانوذرات پلیمری<sup>۳</sup> در سال‌های اخیر به عنوان یکی از کارآمدترین سیستم‌های دارورسانی مورد توجه گسترده قرار گرفته‌اند و اندازه آنها معمولاً بین ۱ تا ۱۰۰۰ نانومتر می‌باشد. این ساختارها قادرند طیف وسیعی از داروها را به صورت کنترل شده و در بازه‌های زمانی مشخص به نقاط مختلف بدن منتقل کنند [۹]. روش‌های مختلفی برای بارگذاری دارو در نانوذرات وجود دارد؛ از جمله، به دام انداختن دارو در ماتریس پلیمری، کپسوله کردن آن در هسته‌ی نانوذرات، یا محصور کردن دارو در یک غشای پلیمری پوسته‌ای. علاوه بر این، داروها می‌توانند از طریق پیوندهای شیمیایی با پلیمرها ترکیب شوند یا به وسیله‌ی جذب سطحی بر روی نانوذرات قرار گیرند. بسته به روش تهیه، این سیستم‌ها می‌توانند به شکل نانوذره، نانوکره یا نانوکپسول تشکیل شوند. نانوکپسول‌ها یکی از سیستم‌های پیشرفته‌ی رهائش دارو هستند که از یک هسته‌ی دارویی محصور در یک غشای پلیمری تشکیل شده‌اند. این ساختارها امکان کنترل دقیق نرخ آزادسازی دارو را فراهم کرده و با محافظت از ترکیبات فعال در برابر تجزیه‌ی زودهنگام، پایداری آن‌ها را افزایش می‌دهند. نانوکپسول‌ها می‌توانند داروها را به صورت محلول، معلق یا جامد درون هسته‌ی خود نگهداری کرده و از طریق مکانیسم‌هایی مانند انتشار کنترل شده، تخریب آنزیمی یا پاسخ به محرک‌های خارجی مانند pH و دما دارو را در محل هدف آزاد کنند. این ویژگی‌ها، نانوکپسول‌ها را به گزینه‌ای کارآمد برای بهبود اثربخشی درمانی و کاهش عوارض جانبی داروها تبدیل کرده است [۱۰-۱۳].

در سال‌های اخیر، نانوذرات پلیمری متعددی با هدف دارورسانی در درمان سرطان توسعه یافته‌اند، با این حال، مطالعات بالینی در این زمینه هنوز محدود است [۱۴-۱۶]. در برخی از این مطالعات، نانوکپسول‌های پلیمری حاوی داروهای شیمی‌درمانی مورد بررسی قرار گرفته‌اند. با وجود چالش‌های موجود در ارزیابی بالینی این نانوذرات، تحقیقات بر روی بهینه‌سازی فرمولاسیون‌های درمانی و ارتقای کارایی نانوداروهای ضدسرطان همچنان در حال گسترش است [۱۷ و ۱۸]. پلی (ε-کاپرولاکتون) (PCL)<sup>۴</sup>، به عنوان یک پلیمر زیست‌تخریب‌پذیر سنتزی، در سال‌های اخیر مورد توجه زیادی قرار گرفته است [۲۲-۱۹]. این پلیمر زیست‌سازگار و نیمه‌بلوری با سرعت تجزیه نسبتاً کند، در کاربردهای پزشکی مانند بخیه، پانسمان زخم، مهندسی بافت و دارورسانی کنترل شده بررسی شده است. ویژگی‌های که باعث می‌شود PCL برای رهائش دارو مناسب باشد عبارتند از: زیست‌تخریب‌پذیری،

مقدار کمی به هدف درمانی می‌رسد. استفاده از سیستم‌های نوین دارورسانی، با حفظ غلظت مؤثر دارو در بدن، می‌تواند اثرات زیان‌بار مصرف بی‌رویه را کاهش دهد. مدیریت پسماند دارویی، بهبود فناوری‌های تصفیه فاضلاب و توسعه داروهای زیست‌تخریب‌پذیر، از راهکارهای مؤثر برای کاهش این آلودگی هستند [۲].

سیستم‌های رهائش دارو (DDS)<sup>۱</sup> به منظور انتقال کنترل شده‌ی داروهای درمانی در بدن و دستیابی به اثر مطلوب مورد استفاده قرار می‌گیرند. این سیستم‌ها عموماً با اهدافی همچون (۱) بهبود حلالیت در آب و افزایش پایداری شیمیایی عوامل فعال، (۲) ارتقای کارایی درمانی و (۳) کاهش عوارض جانبی طراحی می‌شوند. از دهه ۱۹۵۰، با معرفی نخستین فرمولاسیون پیوسته رهائش دکسدرین، فناوری‌های دارورسانی به طور مستمر پیشرفت کرده‌اند [۳]. هدف نهایی هر سیستم دارورسانی، رساندن دارو به محل هدف و حفظ غلظت درمانی مناسب در آن ناحیه‌ی بیولوژیکی است. در سه سال گذشته، پیشرفت‌های قابل توجهی در توسعه سیستم‌های جدید دارورسانی شامل بهبود راهکارهای انتقال دارو، تکنیک‌های ساخت و مواد زیست‌سازگار حاصل شده است. بسیاری از داروهای موجود دارای محدودیت‌های فارماکوکینتیکی<sup>۲</sup> و عوارض جانبی هستند که استفاده از سیستم‌های نوین می‌تواند شاخص درمانی آن‌ها را افزایش داده و اثرات جانبی را کاهش دهد. با این حال، طراحی کاربردی و هدفمند دارورسانی نباید نادیده گرفته شود. تجربه نشان داده است که نوآوری و توسعه فناوری‌های خلاقانه در این حوزه ضروری بوده و نیازمند تحقیقات گسترده، بهینه‌سازی و آزمون‌های بالینی دقیق است برای رهائش هدفمند دارو، لازم است که دارو درون یک حامل مناسب بارگذاری شود. این حامل باید به گونه‌ای طراحی شود که پس از آزادسازی دارو، کمترین آسیب را به بدن وارد کند. همچنین، باید در طول زمان به ترکیبات بی‌اثر تجزیه شود یا در صورت باقی ماندن در بدن، فاقد سمیت و عوارض جانبی باشد. در سال‌های اخیر، نانوذرات به عنوان حامل‌های نوین دارورسانی مورد توجه گسترده‌ای قرار گرفته‌اند [۴-۸]. طراحی و تولید نانوکپسول‌های دارویی فرآیندی پیچیده و چندمرحله‌ای است که نیازمند در نظر گرفتن فاکتورهای متعددی جهت دستیابی به فرمولاسیونی پایدار، مؤثر و قابل استفاده در درمان بالینی می‌باشد. یکی از مهم‌ترین چالش‌ها، انتخاب مناسب مواد پلیمری برای پوشش کپسول است. پلیمر باید زیست‌سازگار، زیست‌تخریب‌پذیر، دارای پایداری شیمیایی کافی، و سازگار با خواص فیزیکوشیمیایی داروی مورد نظر باشد. انتخاب نادرست مواد می‌تواند منجر به ناپایداری سیستم، کاهش بازده بارگذاری دارو، یا آزادسازی غیرقابل کنترل شود. از دیگر چالش‌های مهم، اندازه ذرات و توزیع یکنواخت آن‌ها است. اندازه ذرات تأثیر مستقیم بر پایداری،

(۱) Drug delivery system  
(۳) Polymeric nanoparticles

(۲) Pharmacokinetics  
(۴) Polycaprolactone

مهار این آنزیم در سلول‌هایی که دارای نقص در مسیرهای ترمیم DNA، به‌ویژه مسیر ترمیم همولوگ<sup>۴</sup>، هستند از این رو، OLP با بهره‌گیری از پدیده "مرگ سلولی وابسته به نقص ترمیم دوگانه"<sup>۵</sup>، به‌طور انتخابی سلول‌های سرطانی را هدف قرار داده و از آسیب به سلول‌های سالم جلوگیری می‌کند [۳۳-۳۶]. با وجود اثربخشی بالای OLP در درمان سرطان‌های BRCA-mutated، این دارو دارای محدودیت‌هایی از جمله نیمه‌عمر نسبتاً کوتاه، نیاز به دوزهای مکرر و بروز عوارض جانبی می‌باشد. در همین راستا، توسعه سامانه‌های نوین رهایش دارو جهت بهبود عملکرد دارویی آن اهمیت یافته است. OLP دارای حلالیت کم و نفوذپذیری پایین است، که منجر به تجویز دوزهای بالاتر و افزایش عوارض جانبی مانند سمیت خونی می‌شود [۳۷]. تاکنون سیستم رهایش داروی اولاپاریب مبتنی بر پلی کاپرولاکتون (PCL) گزارش نشده است. در این پژوهش، با توجه به تجربه‌ی پیشین گروه تحقیقاتی در استفاده از نانوذرات PCL برای سیستم‌های رهایش دارو [۳۸-۴۱]، نانو کپسول‌های OLP@PCL و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی آن با تکنیک‌های مختلف بررسی شد. همچنین، پروفایل رهایش دارو و سمیت سلولی آن در شرایط آزمایشگاهی (in vitro) مورد مطالعه قرار گرفت. باید ذکر شود که OLP یک ترکیب خنثی است و فاقد گروه‌های یونیزه‌شونده در محدوده pH فیزیولوژیک می‌باشد. انحلال‌پذیری آن در آب کمتر از ۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر (کم‌حل) یا تقریباً نامحلول) در دمای ۲۵ درجه سلسیوس است. این ویژگی‌ها نشان‌دهنده ماهیت غیرآب‌دوست و کم‌قطب بودن اولاپاریب است [۴۲].

### بخش تجربی

#### مواد و دستگاه‌های مورد استفاده

تمام مواد مورد استفاده برای تهیه نانو کپسول‌های پلی کاپرولاکتون حاوی اولاپاریب (OLP@PCL) شامل پلی کاپرولاکتون، اسپن ۶۰، توئین ۸۰ و حلال‌های مورد نیاز از شرکت‌های سیگما آلدْرِیج، مرک و شرکت‌های داخلی خریداری شدند. برای اندازه‌گیری مقدار داروی آزاد در محلول نانو کپسول از فیلترهای مخصوص سلولزی<sup>۶</sup> با خلل و فرج ۳۰۰۰۰ کیلودالتون استفاده شد. اندازه خلل و فرج غشا این اطمینان را حاصل می‌کند که فقط داروی آزاد از فیلتر عبور کنند درحالی‌که داروی داخل نانو کپسول در محلول باقی می‌ماند. دستگاه تفرق نور دینامیک<sup>۷</sup> برای اندازه‌گیری متوسط اندازه (قطر هیدرودینامیکی)، ذرات و شاخص پراکندگی (PDI)<sup>۸</sup> مورد استفاده قرار گرفت. سوسپانسیون نانو کپسول به حجم (۱:۱۰۰) رقیق شده و در دمای

زیست‌سازگار بودن، قابلیت کنترل نرخ رهایش دارو، حلالیت بالا در حلال‌های آلی، پایداری شیمیایی قابل قبول و مناسب برای انواع داروها. PCL به‌مرور زمان در بدن تجزیه می‌شود و محصولات تجزیه‌ای آن هم غیرسمی هستند و از طرفی این پلیمر با بدن انسان سازگار و واکنش‌های التهابی یا سمی خاصی ایجاد نمی‌کند. به دلیل ساختار نیمه‌کریستالی PCL، نرخ رهایش دارو رو با تغییر ویژگی‌هایی مثل اندازه ذرات، درصد پلیمر، و روش تهیه کپسول کنترل کرد. PCL در خیلی از حلال‌های آلی حل می‌شود، بنابراین فرآیند ساخت نانو/میکروکپسول‌ها یا نانوذرات دارویی با آن راحت‌تر انجام می‌شود. در دمای بدن و pH فیزیولوژیک PCL پایدار است. هم داروهای آب‌دوست<sup>۱</sup> و هم آبگریز<sup>۲</sup> را می‌توان در آن بارگذاری کرد [۲۳-۲۸]. باید ذکر شود که OLP یک ترکیب خنثی است و فاقد گروه‌های یونیزه‌شونده در محدوده pH فیزیولوژیک می‌باشد. انحلال‌پذیری آن در آب کمتر از ۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر (کم‌حل یا تقریباً نامحلول) در دمای ۲۵ درجه سلسیوس است. این ویژگی‌ها نشان‌دهنده ماهیت غیرآب‌دوست و کم‌قطب بودن اولاپاریب است. حلالیت این دارو در دی‌متیل‌سولفوکسید ۳۳ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و در اتانول تا ۱,۷ میلی‌گرم در میلی‌لیتر است [۲۹].

سرطان سینه و تخمدان به‌ترتیب دومین و چهارمین علت مرگ‌ومیر زنان در کشورهای توسعه‌یافته هستند و طی سه دهه گذشته روند افزایشی داشته‌اند. سرطان سینه از رشد غیرطبیعی سلول‌های این ناحیه آغاز شده و در صورت عدم تشخیص و درمان به‌موقع، می‌تواند متاستاز داده و گسترش یابد. عواملی مانند سابقه خانوادگی، افزایش سن، چاقی، عدم بارداری و تغییرات هورمونی در بروز این بیماری نقش دارند، درحالی‌که ورزش، رژیم غذایی سالم و شیردهی می‌توانند خطر ابتلا را کاهش دهند [۲۹-۳۲].

شیمی‌درمانی یکی از روش‌های درمانی رایج در سرطان سینه است که معمولاً در کنار جراحی، پرتودرمانی یا هورمون‌درمانی انجام می‌شود. این روش با استفاده از داروهایی مانند اولاپاریب (OLP)<sup>۳</sup>، سلول‌های سرطانی را هدف قرار می‌دهد. OLP که توسط FDA تأیید شده، در درمان سرطان‌های مرتبط با جهش ژن BRCA از جمله سرطان تخمدان، پانکراس، پروستات و سینه متاستاتیک کاربرد دارد. OLP یکی از مهارکننده‌های آنزیم پلی (ADP-ریبوز) پلیمرز (PARP) است که در سال‌های اخیر به‌عنوان یک داروی هدفمند در درمان برخی سرطان‌ها، به‌ویژه سرطان پستان مرتبط با جهش‌های BRCA1 و BRCA2، مورد توجه قرار گرفته است. آنزیم PARP نقش کلیدی در ترمیم آسیب‌های DNA تک‌رشته‌ای دارد.

(۱) Hydrophilic

(۳) Olaparib

(۵) Synthetic Lethality

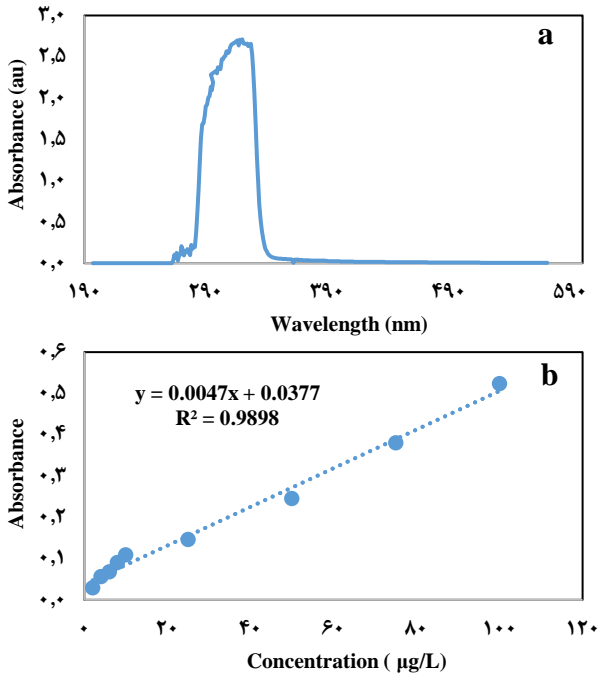
(۷) Dynamic light-scattering

(۲) Hydrophobic

(۴) Homologous Recombination

(۶) (0.22 μm Millipore membrane, 30 kDa)

(۸) Poly dispersity index



شکل ۱- (a) طیف UV-Vis اولاپاریب در حلال DMSO و (b) منحنی کالیبراسیون بر اساس غلظت در برابر جذب

#### بررسی غلظت دارو و تعیین درصد بارگذاری دارو در نانو کپسول پلی کاپرولاکتون

از ۱۰ میلی لیتر نانو کپسول های حاوی اولاپاریب، ۲ میلی لیتر آن داخل فیلتر سلولزی مخصوص با تخلخل ۳۰۰۰۰ کیلو دالتون تریق شد و به مدت ۲ دقیقه و دور ۴۰۰۰ هزار سانتریفیوژ شد، داروی آزاد خارج شد. در این مرحله محلول زیری را جمع آوری نموده و جداگانه به دستگاه UV-Vis تریق شد. در مرحله بعد میزان جذب داروی آزاد و نمونه های استاندارد با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ماکزیمم اولاپاریب (۳۲۰ نانومتر) محاسبه شد. با بررسی منحنی به دست آمده، مساحت زیر منحنی پیک مربوط به دارو در هریک از منحنی ها محاسبه شدند. سپس با استفاده از نمودار استاندارد دارو، میزان غلظت داروی رها شده و درصد داروی اولاپاریب بارگذاری شده در نانو کپسول های پلی کاپرولاکتون با معادله های ۱ و ۲ محاسبه شد.

(۱) مقدار داروی بارگذاری شده = مقدار داروی آزاد - مقدار داروی اولیه

$$(۲) \text{ درصد بارگذاری} = \frac{\text{مقدار داروی بارگذاری شده}}{\text{مقدار داروی اولیه}} \times ۱۰۰$$

#### فعال کردن کیسه دیالیز و مطالعات رهایش دارو از OLP@PCL

فرآیند فعال سازی کیسه دیالیز شامل قرار دادن کیسه دیالیز در محلولی حاوی ۱ میلی مولار اتیلن دی آمین تتراستیک اسید (EDTA)

۲۵ درجه سلسیوس با استفاده از زتا آنالیزر<sup>۱</sup> مدل ZEN3600 با آشکار ساز در زاویه ثابت ۹۰ درجه اندازه گیری شد. دستگاه آنالیز میکروسکوپ الکترونی روبشی SEM مدل فیلیپس EM2085 100KV و دستگاه میکروسکوپ الکترونی عبوری TEM مدل DME-95-50 E برای بررسی مورفولوژی نانو کپسول های OLP@PCL تهیه شده، استفاده شدند. ویژگی های ساختاری نانوذرات توسط مدل پرکین-المر<sup>۲</sup> ۶۵ با استفاده از قرص KBr سنجیده شد. از دستگاه سانتریفیوژ مدل سیگما برای سانتریفیوژ کردن سوسپانسیون و از فریز درایر برای خشک کردن نانوذرات حاصله استفاده شد. برای بدست آوردن مقدار داروی قرار گرفته در نانو کپسول ها از دستگاه اسپکتروفتومتر (UV-Vis)<sup>۳</sup> با مشخصات واریان<sup>۴</sup> ۱۰۰ استفاده شد.

#### تهیه نانو کپسول

برای آماده سازی نانو کپسول های OLP@PCL از روش رسوب دهی پلیمری بین سطحی<sup>۵</sup> استفاده شد [۴۳]. فاز آلی از ۱۰۰ میلی گرم پلی کاپرولاکتون، ۳۰ میلی لیتر استون، ۲۰۰ میلی گرم روغن (تری گلیسرید کاپریک و کاپریلیک اسیدها، به شکل Miglyol 810)، ۴۰ میلی گرم سورفکتانت سوربیتان مونوستیرات (Span 60) و ۱۰ میلی گرم اولاپاریب تشکیل شده است. فاز آبی از ۳۰ میلی لیتر محلول حاوی ۶۰ میلی گرم سورفکتانت پلی سوربات ۸۰ (Tween 80) تشکیل شده است. بعد از حل کردن اجزای هر دو فاز، فاز آلی به آرامی به فاز آبی در حال هم زدن با همزن مغناطیسی (۵۰۰ - ۱۰۰۰ rpm) اضافه شد. سوسپانسیون به مدت ۱۰ دقیقه هم زده می شود بعد از آن حلال آلی در فشار کم با استفاده از تبخیر کننده چرخان تبخیر شدند. نانو ذرات سوسپانسیونی تا رسیدن به حجم نهایی ۱۰ میلی لیتر تغلیظ شدند که منجر به تولید غلظت ۱ میلی گرم در ۱ میلی لیتر اولاپاریب شد.

#### رسم نمودار استاندارد برای محاسبه میزان داروی بارگذاری شده در نانو کپسول

برای تعیین ماکزیمم طول موج جذبی داروی اولاپاریب محلولی از آن با غلظت ۲۰۰ µg/L در حلال دی متیل سولفوکسید<sup>۶</sup> تهیه و طیف UV-Vis آن اندازه گیری شد (شکل 2a). همانطور که دیده می شود  $\lambda_{max}$  برای OLP برابر با ۳۲۰ nm است. از طرفی قبل از آنالیز محلول نانو کپسول، ۵ نمونه های استاندارد دارو با غلظت های متفاوت (۱۰۰، ۷۵، ۵۰، ۲۵، ۱۰، ۸، ۶، ۴، ۲ µg/L) در DMSO تهیه و سپس جذب نوری آنها در طول موج ۳۲۰ nm توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه گیری شد (شکل 2a). در نهایت نمودار کالیبراسیون و معادله خط اولاپاریب با استفاده از نرم افزار میکروسافت اکسل به دست آمد.

(۱) Zeta Plus analyzer Malvern Zetasizer

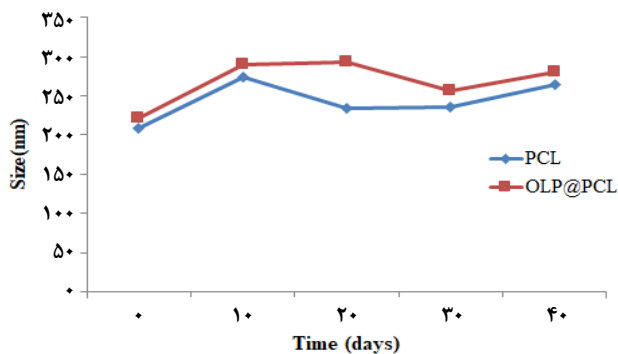
(۳) Ultraviolet-Visible spectroscopy (UV-Vis)

(۵) Interfacial deposition of pre-formed polymer

(۲) Spectrum 65 - Perkin-Elmer

(۴) Varian-Cary 100

(۶) Dimethyl sulfoxide (DMSO)



شکل ۲- پایداری نانوکپسول‌های OLP@PCL بر حسب زمان (۰، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰ روز)

### نتیجه‌ها و بحث

با توجه به آنالیز محلول OLP@PCL بعد از فیلتراسیون، مقدار داروی اولاپاریب آزاد در محلول در روز صفر، برابر ۹ درصد بود و ۹۱ درصد از داروی اولیه در داخل نانوکپسول PCL باقی ماند و این امر نشان می‌دهد که نانوکپسول‌های PCL توانایی بالایی برای جذب مولکول اولاپاریب به عنوان یک داروی چربی دوست دارد. با آنالیز محلول OLP@PCL بعد از ۴۰ روز تغییر زیادی روی غلظت دارو آزاد اولیه صورت نگرفت. البته میزان غلظت آن کم شده بود، که امکان دارد به علت تجزیه شدن مواد باشد.

پایداری نانوذرات با اندازه‌گیری اندازه هیدرودینامیک، شاخص پراکنش و پتانسیل زتا در طول یک دوره ۴۰ روزه اندازه‌گیری شد. در شروع دوره میانگین اندازه هیدرودینامیک نانوکپسول PCL فاقد دارو ۲۰۸ نانومتر است در حالی که نانوکپسول‌های OLP@PCL میانگین اندازه ۲۲۱ نانومتر دارند. اندازه نانوکپسول‌های OLP@PCL تقریباً شبیه نانوکپسول‌های PCL است و وارد شدن مولکول‌های دارو کمی اندازه نانوکپسول‌ها را افزایش می‌دهد. در طول زمان ده روز اندازه نانوکپسول‌ها OLP@PCL مقداری افزایش می‌یابد (۲۹۰ نانومتر). با گذشت زمان اندازه هیدرودینامیک نانوکپسول‌ها تغییر محسوسی نمی‌کنند و در یک بازه ۴۰ روزه پایدار هستند (شکل ۲).

شاخص پراکنندگی (PDI) در جهات مختلف، نشان‌دهنده ناهمگنی نمونه براساس اندازه ذرات است. از جهت ارزیابی پایداری نمونه استفاده می‌شود. خصوصیات محلول، ترمودینامیک سیستم و روش آماده سازی، PDI را تحت تاثیر قرار می‌دهند. مقدار PDI در نانوکپسول PCL و OLP@PCL در شروع دوره به ترتیب ۰/۱۷۲ و ۰/۱۹۶ بود (شکل ۳)، که در پایان دوره تحقیق (روز ۴۰) تغییر محسوسی در مقدار شاخص پراکنندگی برای نانوکپسول OLP@PCL رخ نداد (PDI = 0.210)، که نشان دهنده پایداری مناسب سوسپانسیون تهیه شده از نانوکپسول‌های PCL است. لازم به ذکر است که مقدار عددی PDI از صفر (برای یک نمونه کاملاً یکنواخت با توجه به اندازه ذرات) تا یک (برای یک نمونه بسیار پراکنده با چندین جمعیت اندازه ذرات)

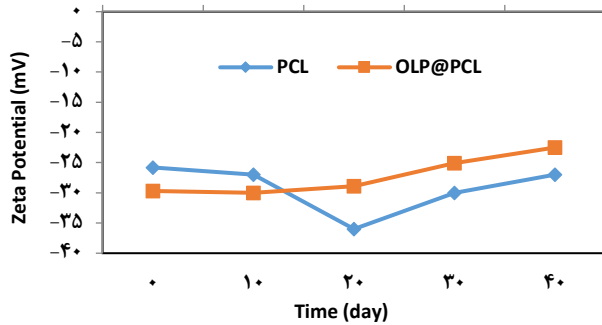
و ۲ درصد بی‌کربنات سدیم در pH = 8.0 است [۴۴]. کیسه دیالیز در این محلول به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۶۰ °C حرارت داده شد. در مرحله بعد، کیسه از محلول خارج و با آب مقطر شسته شد. حرارت دادن دوباره در محلول EDTA تکرار و در نهایت، کیسه با آب مقطر شست‌وشو داده شد تا فرآیند فعال‌سازی کامل گردد. برای اندازه‌گیری رهایش OLP از داخل نانو کپسول‌های PCL، به کیسه دیالیز که با نخ یک سر آن بسته شد، ۵۰ میلی‌گرم از OLP@PCL ریخته و به آن ۱ میلی‌لیتر بافر فسفات اضافه شد. سر دیگر کیسه بسته و کیسه درون بالونی با حجم ۵۰ میلی‌لیتر حاوی ۴۰ میلی‌لیتر بافر فسفات قرار داده شد. سپس بالون درون یک بشر پر از آب روی هیتر با دمای ۳۷ درجه سلسیوس و چرخش ۱۰۰ دور قرار داده شد. همزمان با هم‌زدن محلول بافری عمل برداشت نمونه از اطراف کیسه‌ی دیالیز در زمان‌های مشخص و در فواصل زمانی ۱۵، ۳۰، ۴۵ دقیقه، ۱، ۲ ساعت، ۳، ۴، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ و ۱۴۴ ساعت انجام شد. در هر بار نمونه‌گیری مقدار ۳ میلی‌لیتر از محلول بافر فسفات حاوی دارو خارج شده و به جای آن همان حجم بافر فسفات جدید به محتویات ارن اضافه گردید. سپس میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۳۲۰ nm اندازه‌گیری شد. در انتها با بهره‌گیری از معادله‌ی کالیبراسیون اولاپاریب (شکل 2b) محاسبه غلظت‌های آزادشده‌ی دارو در دمای ۳۷ درجه سلسیوس و pH = 7.4 در زمان‌های مختلف و معادله ۳ صورت گرفت.

$$(3) \quad \text{میزان داروی بارگذاری شده در نانوکپسول} \times 100 = \frac{\text{میزان داروی رها شده}}{\text{میزان داروی بارگذاری شده در نانوکپسول}}$$

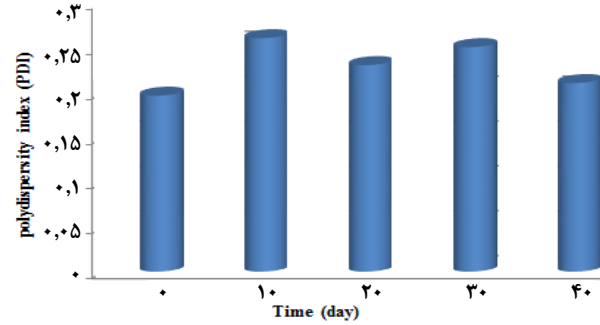
### آماده سازی نمونه برای مطالعات آزمون سمیت سلولی MTT

سلول‌های سرطان سینه (Michigan Cancer Foundation-7, MCF-7) خریداری شده از مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران برای آزمون استفاده شد [۴۵]. محیط کشت سلول DMEM + 2mM L- Glutamine + 10% Fetal Bovine Serum (FBS)+1% Pne-strep می‌باشد. تعداد ۱۰۰۰۰ سلول در هر چاهک میکروپلیت ۹۶ خانه‌ای به مدت ۲۴ ساعت کشت و گرماگذاری شدند. از تریتون X-100 با غلظت ۱ درصد و سلول‌های تیمار نشده به ترتیب به عنوان کنترل مثبت و منفی استفاده می‌شود. پس از ۴۸ ساعت تیمار ۱۰ میکرولیتر محلول MTT (5 mg/mL) را به هر چاهک اضافه کرده و پلیت‌ها ۴ تا ۶ ساعت در انکوباتور قرار داده شدند. سپس مایع رویی به آرامی و به طور کامل تخلیه شده و ۱۰۰ میکرولیتر از DMSO داخل هر چاهک ریخته شد. با اندازه‌گیری میزان جذب نوری نمونه‌ها توسط اسپکتوفتومتر در طول موج ۵۷۰ نانومتر می‌توان تعداد سلول‌های زنده را تعیین کرد. آزمون به صورت یک بار خوانش، ۴۸ ساعت بعد از تیمار انجام شد. درصد سلول‌های زنده یا میزان بقای سلولی، بر اساس معادله ۴ محاسبه می‌گردد:

$$(4) \quad \text{جذب متوسط نمونه‌های تیمار شده} \times 100 = \frac{\text{جذب متوسط نمونه‌های تیمار شده}}{\text{جذب متوسط نمونه‌های کنترل}}$$



شکل ۴- پتانسیل زتا نانوکپسول‌های OLP@PCL به عنوان تابعی از زمان (۰، ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ روز)



شکل ۳- شاخص پراکندگی نانوکپسول‌های OLP@PCL، به عنوان تابعی از زمان (۰، ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ روز)

فرکانس جذبی پیوند C-N در  $1345$  و  $1011$   $\text{cm}^{-1}$  ظاهر می‌شود [۴۸]. طیف FT-IR پلی‌کاپرولاکتون PCL فرکانس کششی مربوط به گروه‌های هیدروکسیل را در  $3439$   $\text{cm}^{-1}$ ، فرکانس جذبی پیوندهای C-H در  $2945$  و فرکانس جذبی گروه‌های استری در  $1728$   $\text{cm}^{-1}$  ظاهر می‌شوند. طیف نانوکپسول حاوی دارو OLP@PCL تقریباً شبیه نانوکپسول PCL است. به دلیل مقدار بسیار کم دارو OLP در مقابل نانوکپسول‌های PCL، فرکانس‌های مربوط به PCL معمولاً فرکانس‌های ارتعاشی مربوط به OLP را می‌پوشاند.

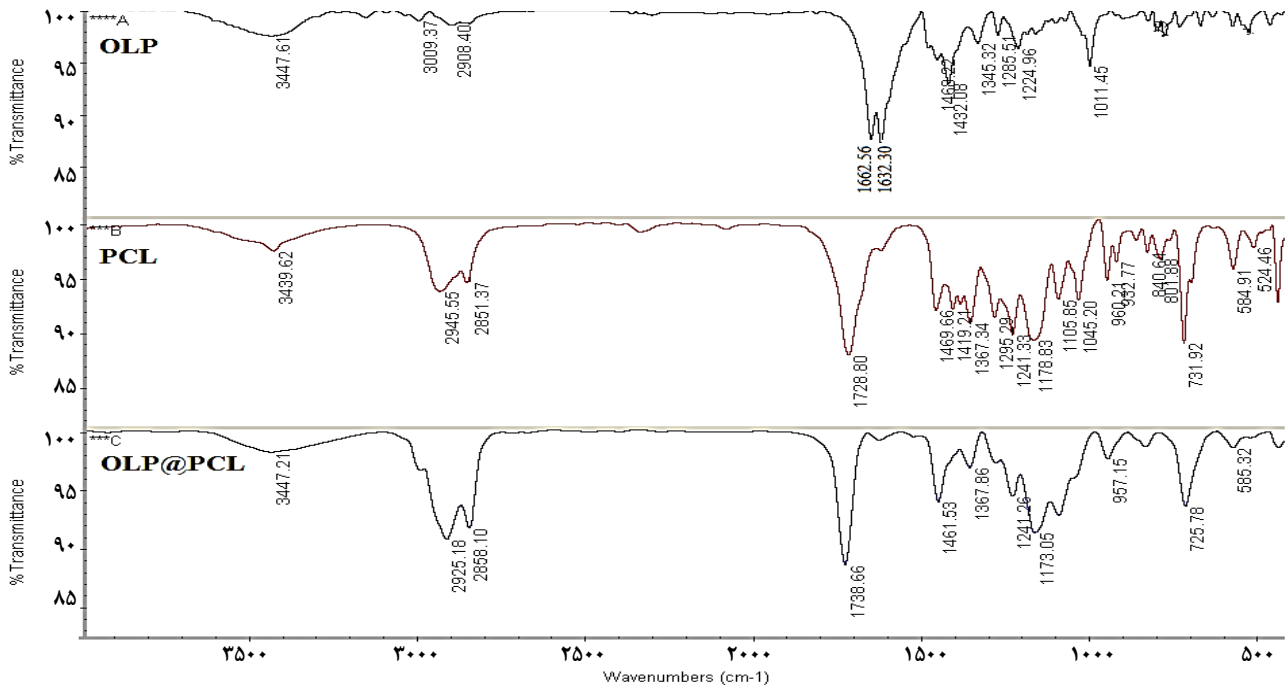
تصاویر TEM نانوکپسول‌های OLP@PCL در شکل 6a آورده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود نانوکپسول‌های OLP@PCL کروی بوده و اندازه ذرات آن  $150-270$  نانومتر می‌باشد. نکته جالب در مورد تصاویر TEM OLP@PCL وجود نقاط سفید (بستر یا ماتریس کربنی) روی نانوکپسول‌ها حاوی دارو است که بارگیری نانوکپسول‌ها PCL با OLP را تایید می‌کنند. TEM هیچ‌گونه تجمع نانوکپسول‌ها را نشان نمی‌دهند و توزیع اندازه نانوذرات باریک را نشان می‌دهند. تصویر SEM نانوکپسول‌های OLP@PCL در شکل 6b آورده شده است. باید ذکر شود که SEM بیشتر اطلاعات مورفولوژیکی (ریخت‌شناسی سطحی) ارائه می‌دهد، نه شیمیایی. شواهد غیرمستقیم از پلیمر شدن را می‌توان از تصاویر SEM برداشت کرد. در تصویر SEM نانوکپسول‌ها، ساختار منظم، مترکم، یکنواخت و چسبنده دیده می‌شود.

با توجه به نتایج بدست آمده از تکنیک‌های مختلف می‌توان تایید کرد نانوکپسول‌های PCL حاوی OLP با استفاده از روش رسوب‌دهی پلیمری بین سطحی به عنوان یک روش ساده و اقتصادی تشکیل شده‌اند. این روش شامل حل کردن PCL و OLP در حلال آلی استون و تزریق آهسته به محلول آبی سورفکتانت پلی سوربات ۸۰ (Tween 80) می‌باشد. به دلیل تفاوت حلالیت، پلیمر در مرز بین دو فاز ته‌نشین شده و نانوکپسول‌هایی با هسته و پوسته مشخص تشکیل می‌شود. حلال آلی تبخیر شده و سوسپانسیون پایدار از نانوکپسول‌های OLP@PCL تشکیل می‌شود (طرح ۱). اولاپاریپ به عنوان یک داروی آگریز درون ماتریس آگریز PCL

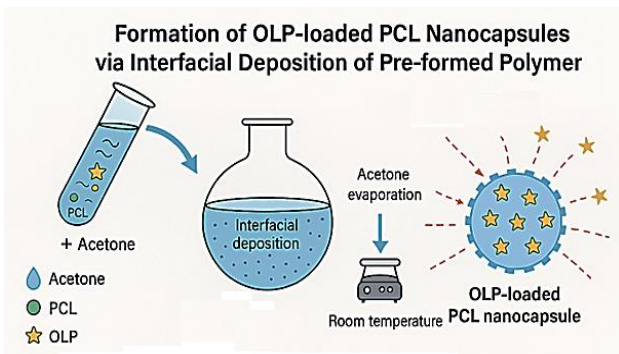
متغیر است. در عمل مقادیر ۲۰٪ و کمتر معمولاً برای مواد نانوذراتی مبتنی بر پلیمر قابل قبول تلقی می‌شوند [۴۶].

پتانسیل زتا (ZP) که به بار سطحی بستگی دارد، برای پایداری نانوذرات در سوسپانسیون مهم است. نانوذرات با پتانسیل زتا بین  $-10$  و  $+10$  میلی‌ولت تقریباً خنثی در نظر گرفته می‌شوند، در حالی که نانوذرات با پتانسیل زتا بیشتر از  $+30$  میلی‌ولت یا کمتر از  $-30$  میلی‌ولت به ترتیب به شدت کاتیونی و قویا آنیونی در نظر گرفته می‌شوند [۴۷]. این پارامتر میزان دافعه بین ذرات باردار در پراکندگی را نشان می‌دهد. ZP بالا به معنای ذرات بسیار باردار است که از تجمع ذرات به دلیل دافعه جلوگیری می‌کند. اگر پتانسیل زتا کم باشد، جاذبه بر دافعه غلبه می‌کند و نانوذرات تجمع پیدا می‌کنند. معمولاً  $ZP = -30$  mV مقدار بهینه برای پایداری یک نانو آمولسیون در نظر گرفته می‌شود. پتانسیل زتا در نانوکپسول‌های OLP@PCL به دلیل وجود گروه کربوکسیلیک در پلیمر پلی‌کاپرولاکتون منفی است. اندازه پتانسیل زتا مرتبط با نانوکپسول OLP@PCL در ابتدای دوره به ترتیب  $-29.7$  میلی‌ولت است که تا آخر دوره تغییر محسوسی نمی‌کند (شکل ۴). مقادیر پتانسیل زتا OLP@PCL نشان می‌دهد که نانوکپسول‌ها در سوسپانسیون پایدار هستند. زیرا بار ذرات به اندازه کافی است که از طریق دافعه الکترونی از تجمع جلوگیری می‌کند. ZP نانوکپسول OLP@PCL پس از چهل روز همچنان منفی است ( $ZP = -22.5$  mV) که نشان دهنده پایداری کامل آنها و عدم تجمع آنها است.

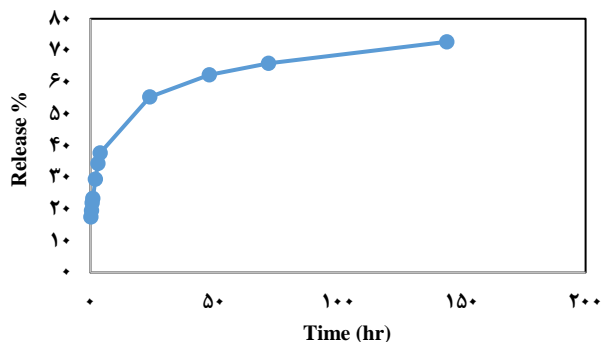
در شکل ۵ طیف‌های FT-IR مربوط به OLP، نانوکپسول PCL و نانوکپسول OLP@PCL آورده شده است. مقایسه فرکانس‌های جذبی دارو در FT-IR با نانوکپسول PCL و OLP@PCL معیار خوبی برای بررسی برهمکنش اولاپاریپ با نانوکپسول PCL می‌باشد. در ساختار شیمیایی OLP سه گروه آمیدی وجود دارد که در FT-IR این گروه عاملی یک فرکانس ارتعاشی کششی در دامنه  $1630-1680$   $\text{cm}^{-1}$  نشان می‌دهد. پیک‌های  $1662$  و  $1632$   $\text{cm}^{-1}$  مربوط به فرکانس جذبی گروه‌های آمیدی این دارو می‌باشد. فرکانس کششی پیوند N-H  $3447$   $\text{cm}^{-1}$  ظاهر می‌شود. پیک‌های موجود در حدود  $3000$   $\text{cm}^{-1}$  مربوط به فرکانس‌های ارتعاشی کششی پیوندهای C-H می‌باشد.



شکل ۵- طیف FT-IR نانوذرات (نانوکپسول PCL، OLP، و OLP@PCL)

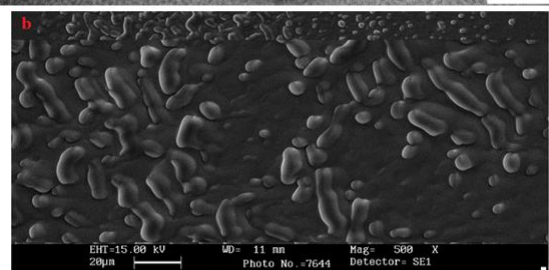
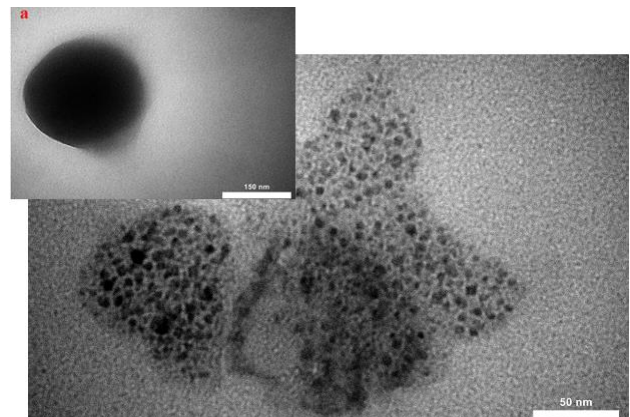


طرح ۱- مکانیسم تشکیل نانوکپسول‌های OLP@PCL با استفاده از روش رسوب‌دهی پلیمری بین سطحی



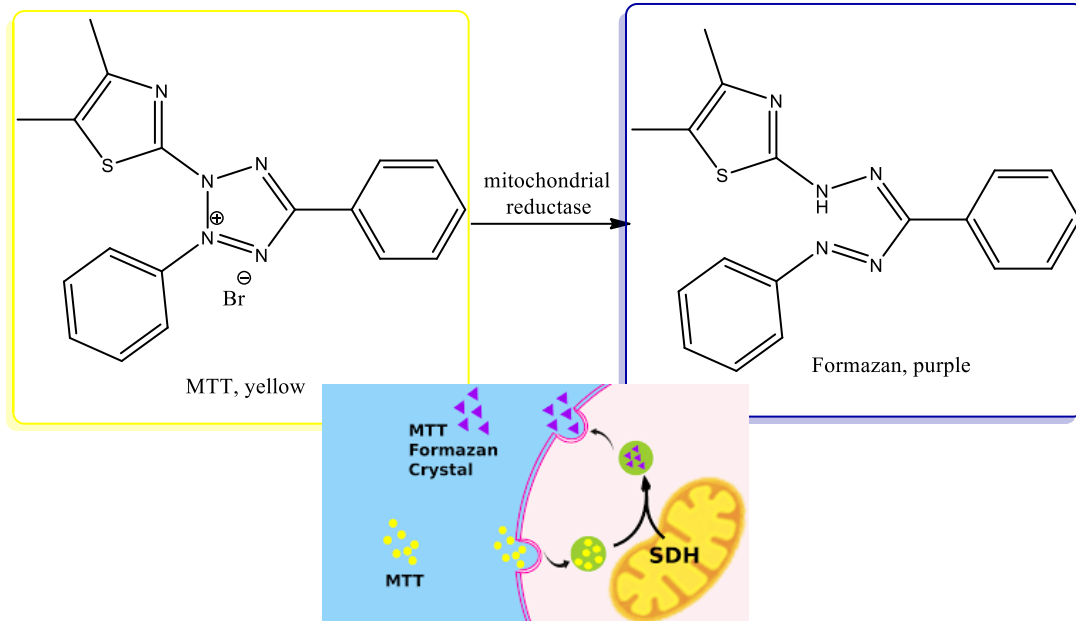
شکل ۷ - پروفایل رهش دارو از نانوکپسول‌های OLP@PCL

با تکنیک کیسه دیالیز بدست آمده است. پروفایل رهش نشان‌دهنده سه مرحله از رهش OLP از نانوکپسول PCL است. در مرحله اول،



شکل ۶- (a) تصاویر TEM از نانوکپسول‌های OLP@PCL (b) تصویر SEM از نانوکپسول‌های OLP@PCL

محصول می‌شود. برهمکنش‌های آبگریز بین زنجیره‌های PCL و ساختار آبگریز OLP باعث افزایش پایداری دارو در کپسول می‌شود. پروفایل رهسازی OLP محصور شده از نانوکپسول‌های PCL در شکل ۷ آورده شده است. لازم به ذکر است که پروفایل رهسازی

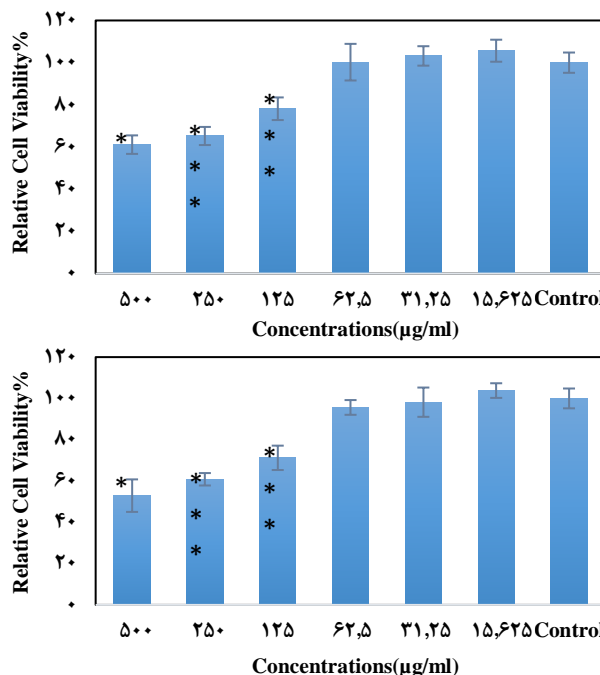
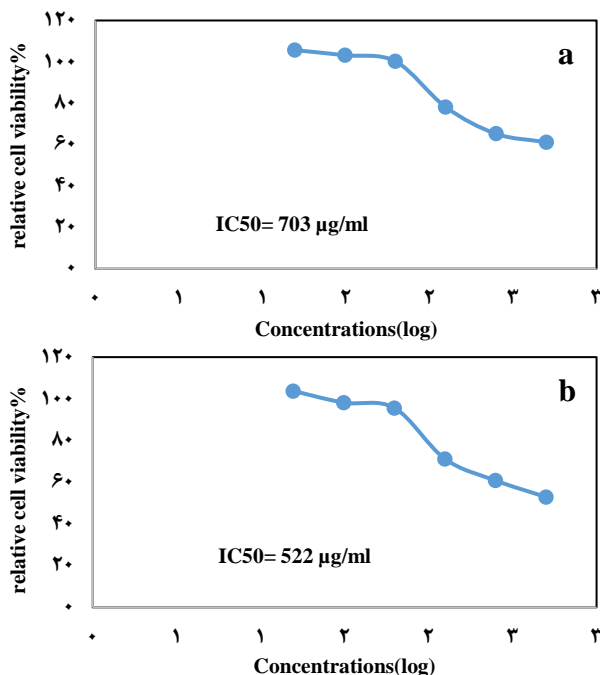


شکل ۸ - واکنش انجام شده در آزمون سمیت سلولی MTT

انتشار متوسط دارو رخ می دهد و حدود ۲۳ درصد از OLP اولیه محصور شده پس از یک ساعت از نانوکپسول های PCL آزاد می شود. رهایش سریع اولیه OLP در بافر احتمالاً به دلیل انحلال مولکول های دارو متصل به سطح نانوکپسول های PCL و شروع فرآیند آزادسازی دارو به دلیل نفوذ آب به داخل نانوکپسول های PCL و آزاد شدن OLP است. از طریق گرادیان غلظت مرحله دوم شامل محدوده یک ساعت پس از شروع تا ۴ ساعت می باشد. شیب نمودار در این مرحله کاهش می یابد و می توان رهاسازی تدریجی دارو از داخل نانوکپسول های PCL را مشاهده کرد. در مرحله آخر، شیب نمودار تقریباً ثابت است. درصد آزادسازی حدود ۵۴ درصد پس از ۲۴ ساعت به دست آمد، در حالی که آزادسازی دارو پس از ۱۴۴ ساعت به ۷۳ درصد رسید. یکی از روش های ساده و سریع برای سنجش میزان مرگ سلولی، روش MTT است که مبنای آن تشکیل رنگ فورمازان با احیا ماده دی متیل تیازول - ۲ و ۵ دی فنیل تترازولیوم برمید و یا سایر نمک های تترازولیوم است [۴۹]. با باز شدن حلقه تترازولیوم MTT توسط آنزیم های میتوکندریایی در سلول های زنده (واکنش احیا)، کریستال های فورمازان بنفش رنگ نامحلول تشکیل می شود (شکل ۸). تشکیل این کریستال ها نشان دهنده فعال بودن آنزیم های زنجیره تنفسی و معیاری برای زنده بودن سلول ها است. با اندازه گیری میزان جذب توسط اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۷۰ نانومتر می توان تعداد سلول های زنده را تعیین کرد. درصد سلول های زنده یا میزان بقای سلولی، بر اساس معادله ۴ محاسبه می گردد.

نتایج حاصل از بررسی سمیت سلولی با استفاده از آزمون MTT نشان داد که هم داروی OLP و نانوکپسول های OLP@PCL در رده سلولی MCF-7 اثر سمیت دارند با این تفاوت که فرمولاسیون

در حدود ۱,۳۵ برابر اثر سمیت بیشتری نسبت به فرم آزاد داروی OLP دارد. بطوریکه مقادیر  $IC_{50} = 7.3 \mu g/ml$  برای داروی آزاد در برابر  $IC_{50} = 522 \mu g/ml$  برای OLP@PCL بدست آمد (شکل ۹). کاهش حدود ۱,۳۵ برابری در مقدار  $IC_{50}$  بیانگر آن است که نانوکپسوله شدن داروی OLP منجر به افزایش سمیت سلولی در رده سلولی MCF-7 شده است. این بهبود می تواند ناشی از ویژگی های ذاتی نانوکپسول ها از جمله افزایش نفوذپذیری به درون سلول ها، پایداری بیشتر دارو در برابر تخریب، آزادسازی کنترل شده و تسهیل ورود دارو به سلول ها از طریق مکانیسم های اندوسیتوز باشد. از سوی دیگر، آزادسازی تدریجی دارو از نانوکپسول ها می تواند منجر به افزایش غلظت مؤثر دارو در محیط داخل سلولی و در نتیجه تشدید اثرات سمی گردد. به طور کلی، این یافته ها بیانگر آن است که استفاده از نانوکپسول های پلیمری می تواند به عنوان رویکردی کارآمد برای بهبود کارایی داروهای ضدسرطان مطرح شود. با این حال، به منظور درک دقیق تر مکانیسم های زیربنایی این افزایش سمیت، انجام مطالعات تکمیلی از جمله بررسی میزان uptake سلولی و چگونگی تاثیر دارو پیشنهاد می شود. مقایسه آماری غلظت های مختلف فرم آزاد OLP و نانوکپسول OLP@PCL نشان داد که در تمامی غلظت های مورد استفاده، OLP@PCL به طور معنی داری اثر سمیت بیشتری نسبت به فرم آزاد دارو دارند. به عنوان مثال در غلظت  $250 \mu g/ml$  درصد زنده ماندن سلول های سرطانی MCF-7 توسط نانوکپسول های OLP@PCL و داروی آزاد به ترتیب برابر با ۶۰ و ۶۵ درصد است (شکل ۹). با استناد به نتایج حاصل از آزمون سمیت سلولی به نظر می رسد فرمولاسیون OLP@PCL ساخته شده دوز مؤثر دارو را کم کند و در عین حال، خواص دارویی آن را بهبود ببخشد.



شکل ۹ - نتایج آزمون سمیت سلولی MTT، (a) اولاپاریب آزاد و (b) نانوکپسول‌های OLP@PCL

داروی اولاپاریب در عین کاهش غلظت داروی مورد استفاده، مؤثر عمل کرده است. مقدار  $IC_{50}$  نانوسیستم OLP@PCL به مقدار ۱/۳۵ برابر بیشتر از داروی آزاد OLP است. با استناد به نتایج بدست آمده در این مطالعه به نظر می‌رسد نانوکپسول‌های OLP@PCL تهیه شده در این پژوهش توانسته دوز مؤثر دارو را کم کند و در عین حال، خواص دارویی و درمانی آن را بهبود ببخشد.

### قدردانی

این تحقیق با حمایت دانشگاه آزاد اسلامی و دانشگاه پیام نور انجام شده است که بدینوسیله نویسندگان این مقاله، صمیمانه تقدیر و تشکر می‌نمایند.

### نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر، برای اولین بار، یک سیستم تحویل دارو ضد سرطان اولاپاریب براساس نانوکپسول پلی کاپرولاکتون (OLP@PCL) تهیه شد و خصوصیات فیزیکوشیمیایی آن با استفاده از تکنیک‌های مختلف بررسی شد. بازده انکپسوله شدن بالای ۹۱ درصد می‌باشد. نانوکپسول‌های OLP@PCL اندازه زیر ۳۰۰ nm، IP زیر ۰/۲ و ZP منفی (-30 mV) را نشان می‌دهند. این نتایج نشان‌دهنده آن است که نانوکپسول‌های تهیه شده کاملاً پایدار می‌باشند. آنالیز ریخت‌شناسی نانوکپسول‌ها (OLP @PCL) نشان می‌دهد که ذرات کروی و عاری از هرگونه تجمع هستند. علاوه بر آنچه ذکر شد، نتایج بررسی سمیت نشان داد که MTT سلولی با استفاده از آزمون نانوکپسول‌های OLP@PCL به‌طور قابل توجهی در افزایش سمیت

### مراجع

- [1] Daughton C.G., Ruhoy I.S., *Environmental Footprint of Pharmaceuticals: The Significance of Factors Beyond Direct Excretion to Sewers. Environ. Toxicol. Chem.*, **28**: 2495-2521 (2009).
- [2] Alqahtani M.S., Kazi M., Alsenaidy M.A., Ahmad M.Z., *Advances in Oral Drug Delivery. Front. Pharmacol.*, **12**: 618411 (2021).
- [3] Park K., *Controlled Drug Delivery Systems: Past Forward and Future Back. J. Control. Release*, **190**: 3-8 (2014).
- [4] Li C., Wang J., Wang Y., Gao H., Wei G., Huang Y., Jin Y., *Recent Progress in Drug Delivery. Acta Pharm. Sin. B*, **9**: 1145-1162 (2019).

- [5] Zhang Y., Chan H.F., Leong K.W., [Advanced Materials and Processing for Drug Delivery: The Past and the Future](#). *Adv. Drug. Deliv. Rev.*, **65**: 104-120 (2013).
- [۶] کرمی، محمد حسین؛ عبدوس، مجید؛ کلایی، محمد رضا؛ مرادی، امید. نانو حامل‌های پایه کیتوسان برای رهایش داروی ضد سرطان کورکومین: مطالعه مروری. *نشریه شیمی و مهندسی شیمی ایران*، **۴۲(۴)**: ۱-۱۷ (۱۴۰۲).
- [۷] رضائزاد بردجی، قاسم؛ حسینی، سمانه سادات. سنتز هیدروژل نانوکامپوزیت آهن و بررسی رهایش داروی ضدسرطان دوکسوروبیسین. *نشریه شیمی و مهندسی شیمی ایران*، **۳۸(۱)**: ۶۷-۷۸ (۱۳۹۸).
- [۸] حسینی، حمیدرضا؛ عبدوس، مجید؛ گلشکن، مصطفی؛ طهرانی؛ پدارم. طراحی و ترکیب نانوکامپوزیت‌های نوین کارآمد  $Fe_3O_4@MCM-41/HAP/APTES$  و  $CMC/MMT/HAP$  برای دارورسانی رهایش کنترل شده: تحویل هدفمند تری پاراتاید در مهندسی بافت استخوان. *نشریه شیمی و مهندسی شیمی ایران*، **۴۳(۳)**: ۵۱-۷۲ (۱۴۰۳).
- [9] Tong X., Pan W., Su T., Zhang M., Dong W., Qi X., [Recent Advances in Natural Polymer-Based Drug Delivery Systems](#). *React. Funct. Polym.* **148**: 104501 (2020).
- [10] Rong X., Xie Y., Hao X., Chen T., Wang Y., Liu Y., [Applications of Polymeric Nanocapsules in Field of Drug Delivery Systems](#). *Curr. Drug Discov. Technol.*, **8**: 173-187 (2011).
- [11] Li M., Shi K., Tang X., Wei J., Cun X., Chen X., Yu, Q., Zhang, Z., He, Q., [pH-Sensitive Folic Acid and dNP2 Peptide Dual-Modified Liposome for Enhanced Targeted Chemotherapy of Glioma](#). *Eur. J. Pharm. Sci.*, **124**: 240-248 (2018).
- [12] Fouladi F., Steffen K.J., Mallik S., [Enzyme-Responsive Liposomes for the Delivery of Anticancer Drugs](#). *Bioconjug. Chem.*, **28**: 857-868 (2017).
- [13] Raisi A., Asefnejad A., Shahali M., Sadat Kazerouni Z.A., Kolooshani A., Saber-Samandari S., Kamyab Moghadas B., Khandan A., [Preparation, Characterization, and Antibacterial Studies of N, O-Carboxymethyl Chitosan as a Wound Dressing for Bedsore Application](#). *Arch. Trauma Res.* **9**: 181-188 (2020).
- [14] Liang H., Mirinejad M. S., Asefnejad A., Baharifar H., Li X., Saber-Samandari S., Toghraei D., Khandan A., [Fabrication of Tragacanthin Gum-Carboxymethyl Chitosan Bio-Nanocomposite Wound Dressing with Silver-Titanium Nanoparticles Using Freeze-Drying Method](#). *Mater. Chem. Phys.* **279**: 125770 (2022).
- [15] Foroutan S., Hashemian M., Khosravi M. Ghadiri Nejad M., Asefnejad A., Saber-Samandari S., [A Porous Sodium Alginate-CaSiO<sub>3</sub> Polymer Reinforced with Graphene Nanosheet: Fabrication and Optimality Analysis](#). *Fibers Polym.* **22**: 540-549 (2021).
- [16] Jamnezhad S., Asefnejad A., Motififard M., Yazdekhasti H., Kolooshani A., Saber-Samandari S., Khandan A., [Development and Investigation of Novel Alginate-Hyaluronic Acid Bone Fillers Using Freeze Drying Technique for Orthopedic Field](#). *Nanomed. Res. J.* **5**: 306-315 (2020).
- [17] Bhatia S., [Natural Polymer Drug Delivery Systems: Nanoparticles, Plants, and Algae](#). Springer (2016).
- [18] Englert C., Brendel J.C., Majdanski T.C., Yildirim T., Schubert S., Gottschaldt M., Schubert U.S., [Pharmapolymer in the 21st Century: Synthetic Polymers in Drug Delivery Applications](#). *Prog. Polym. Sci.*, **87**: 107-164 (2018).
- [19] Mondal D., Griffith M., Venkatraman S.S., [Polycaprolactone-Based Biomaterials for Tissue Engineering and Drug Delivery: Current Scenario and Challenges](#). *Inter. J. Polym. Material. Polym. Biomaterial.* **65**: 255-265 (2016).

- [20] Pawar R., Pathan A., Nagaraj S., Kapare H., Giram P., Wavhale R., [Polycaprolactone and Its Derivatives for Drug Delivery](#). *Polym. Adv. Technol.* **34**: 3296-3316 (2023).
- [21] Chang S.H., Lee H.J., Park S., Kim Y., Jeong B. [Fast Degradable Polycaprolactone for Drug Delivery](#). *Biomacromol.* **19**: 2302-2307 (2018).
- [22] Łukasiewicz S., Mikołajczyk A., Błasiak E., Fic E., Dziedzicka-Wasylewska M., [Polycaprolactone Nanoparticles as Promising Candidates for Nanocarriers in Novel Nanomedicines](#). *Pharmaceutics*, **13**: 191 (2021).
- [23] Sinha V.R., Bansal K., Kaushik R., Kumria R., Trehan A., [Poly-ε-Caprolactone Microspheres and Nanospheres: An Overview](#). *Int. J. Pharm.*, **278**:1-23 (2004).
- [24] Vashisth P., Singh R.P., Pruthi V., [A Controlled Release System for Quercetin from Biodegradable Poly \(Lactide-Co-Glycolide\)-Polycaprolactone Nanofibers and Its in Vitro Antitumor Activity](#). *J. Bioact. Compat. Poly.*, **31**: 260-272 (2016).
- [25] Chang S.H., Lee H.J., Park S., Kim Y., Jeong B., [Fast Degradable Polycaprolactone for Drug Delivery](#). *Biomacromol.*, **19**:2302-2307 (2018)
- [26] Schlesinger E., Ciaccio N., Desai T.A., [Polycaprolactone Thin-Film Drug Delivery Systems: Empirical and Predictive Models for Device Design](#). *Mater. Sci. Eng. C* **57**: 232-239 (2015).
- [27] Ramanujam R., Sundaram B., Janarthanan G., Devendran E., Venkadasalam M., Milton M.J., [Biodegradable Polycaprolactone Nanoparticles Based Drug Delivery Systems: A Short Review](#). *Biosci. Biotechnol. Res. Asia*, **15**: 679-685 (2018).
- [28] Oliveira H.C., Stolf-Moreira R., Martinez C.B., Sousa G.F., Grillo R., De Jesus M.B., Fraceto L.F., [Evaluation of the Side Effects of Poly \(Epsilon-Caprolactone\) Nanocapsules Containing Atrazine Toward Maize Plants](#). *Front. Chem.*, **3**: 61 (2015).
- [29] Stevenson J.C., Farmer R.D.T., [HRT and Breast Cancer: A Million Women Ride Again](#). *Climacteric*, **23**: 226-228 (2020).
- [30] Waks A.G., Winer E.P., [Breast Cancer Treatment: A Review](#). *Jama*, **321**:288-300 (2019).
- [31] Matulonis U.A., Sood A.K., Fallowfield L., Howitt B.E., Sehouli J., Karlan B.Y., [Ovarian Cancer](#). *Nat. Rev. Dis. Primers*, **2**: 1-22 (2016).
- [32] Sharma G.N., Dave R., Sanadya J., Sharma P., Sharma K., [Various Types and Management of Breast Cancer: An Overview](#). *J. Adv. Pharm. Technol. Res.* **1**: 109 (2010).
- [33] Eetezadi S., [Nanomedicines and Combination Therapy of Doxorubicin and Olaparib for Treatment of Ovarian Cancer](#). University of Toronto (Canada), (2016).
- [34] Kim G., Ison G., McKee A.E., Zhang H., Tang S., Gwise T., Pazdur R., [FDA Approval Summary: Olaparib Monotherapy in Patients with Deleterious Germline BRCA-Mutated Advanced Ovarian Cancer Treated with Three or More Lines of ChemotherapyOlaparib for Advanced Ovarian Cancer with BRCA Mutation](#). *Clin. Cancer Res.* **21**: 4257-4261 (2015).
- [35] Chen Y., Zhang L., Hao Q., [Olaparib: a Promising PARP Inhibitor in Ovarian Cancer Therapy](#). *Arch. Gynecol. Obstet.* **288**: 367-374 (2013).
- [36] Taylor A.M., Chan D.L.H., Tio M., Patil S.M., Traina T.A., Robson M.E., Khasraw M., [PARP \(Poly ADP-Ribose Polymerase\) Inhibitors for Locally Advanced or Metastatic Breast Cancer](#). *Cochrane Database Syst. Rev.* **4**: 11395 (2021).

- [37] Sun K., Mikule K., Wang Z., Poon G., Vaidyanathan A., Smith G., Zhang Z.Y., Hanke J., Ramaswamy S., Wang J., [A Comparative Pharmacokinetic Study of PARP Inhibitors Demonstrates Favorable Properties for Niraparib Efficacy in Preclinical Tumor Models.](#) *Oncotarget*, **9**: 37080 (2018).
- [38] Diyanat M., Saeidian H., [The Metribuzin Herbicide in Polycaprolactone Nanocapsules Shows Less Plant Chromosome Aberration Than Non-Encapsulated Metribuzin.](#) *Environmental Chem. Lett.*, **17**: 1881-1888 (2019).
- [39] Diyanat M., Saeidian H., Baziar S., Mirjafary Z., [Preparation and Characterization of Polycaprolactone Nanocapsules Containing Pretilachlor as Herbicide Nanocarrier.](#) *Environ. Sci. Pollut. Res.*, **26**: 21579-21588 (2019).
- [40] Mahmoudi M., Saeidian H., Mirjafary Z., Mokhtari J., [Preparation and Characterization of Memantine Loaded Polycaprolactone Nanocapsules for Alzheimer's Disease.](#) *J. Porous Mater.* **28**: 205-212 (2021).
- [41] Mahmoudi M., Saeidian H., Mirjafary Z., Mokhtari J., [Controlled Release 7-Methoxytacrine-Polycaprolactone Nanocapsules Drug-Delivery System for Alzheimer's Disease Treatment: Synthesis and Physico-Chemical Characterization.](#) *J. Polym. Environ.* 1-11 (2021).
- [42] <https://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty>
- [43] Grillo R., dos Santos N.Z.P., Maruyama C.R., Rosa A.H., de Lima R., Fraceto L.F., [Poly \( \$\epsilon\$ -Caprolactone\) Nanocapsules as Carrier Systems for Herbicides: Physico-Chemical Characterization and Genotoxicity Evaluation.](#) *J. Hazard. Mater.*, **231**: 1-9 (2012).
- [44] Kusuma S.A.F., Parwati I., Subroto T., Rukayadi Y., Fadhlillah M., Rizaludin A., [Comparison of Simple and Rapid Extracting Methods of Free-Tags Mycobacterium Tuberculosis Protein 64 Recombinant Protein from Polyacrylamide Gel: Electroelution and the Optimized Passive Elution.](#) *J. Adv. Pharm. Technol. Res.*, **12**: 180-184 (2021).
- [45] Sargazi S., Kooshkaki O., Reza J.Z., Saravani R., Jaliani H.Z., Mirinejad S., Meshkini F., [Mild Antagonistic Effect of Valproic Acid in Combination with AZD2461 in MCF-7 Breast Cancer Cells.](#) *Med. J. Islam Repub. Iran*, **33**: 29 (2019).
- [46] Danaei M., Dehghankhold M., Ataei S., Hasanzadeh Davarani F., Javanmard R., Dokhani A., Mozafari M.R., [Impact of Particle Size and Polydispersity Index on the Clinical Applications of Lipidic Nanocarrier Systems.](#) *Pharm.* **10**: 57 (2018).
- [47] Hunter RJ, ed. [Colloid Science: Zeta Potential in Colloid Science: Principles and Applications.](#) London: Academic Press, (1981).
- [48] Anwer M.K., Ali E.A., Iqbal M., Ahmed M.M., Aldawsari M.F., Saqr A.A., Alalaiwe A., Soliman G.A., [Development of Chitosan-Coated PLGA-Based Nanoparticles for Improved Oral Olaparib Delivery: In Vitro Characterization, and in Vivo Pharmacokinetic Studies.](#) *Processes*, **10**: 1329 (2022).
- [49] Ghasemi M., Turnbull T., Sebastian S., Kempson I., [The MTT Assay: Utility, Limitations, Pitfalls, and Interpretation in Bulk and Single-Cell Analysis.](#) *Int. J. Mol. Sci.* **22**: 12827 (2021).