

مطالعه مروری بر انواع نانو سامانه های هدفمند مغناطیسی حامل داروی دوکسوروبیسین و تاثیر آن ها بر مرگ سلول های سرطانی

محمد قنبری*

گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل

چکیده

سرطان یکی از بیماری های مهلکی است که هنوز بشر علاوه بر پیشرفت های زیاد قادر به کنترل آن نشده است. دوکسوروبیسین یکی از داروهای مرسوم است که در شیمی درمانی سرطان استفاده می شود و به دلیل تاثیر سیستمیک و سمیت بالا بر بافت های سالم بدن کاربرد آن با محدودیت روبروست. فناوری نانو با تولید نانو ذرات هدفمند مغناطیسی جهت رسانش مستقیم این دارو به سلول های سرطانی بسیاری از محدودیت ها و اثرات جانبی استفاده از آن را برداشته است. امروزه انواع نانو سامانه های هوشمند مغناطیسی بر اساس نانو ذرات اکسید آهن که انتقال هدفمند دوکسوروبیسین به بافت تومور را میسر می سازند توسعه پیدا کرده اند و قابلیت هدفمند سازی هر یک از این سامانه های دارویی توسط لیگاندهای هدفمند مولکولی مختص سلول های سرطانی و نیز بکارگیری میدان مغناطیسی خارجی جهت متمرکز کردن این نانو سامانه های مغناطیسی در مکان تومور فراهم شده است. مقاله حاضر پتانسیل نانوذرات اکسید آهن را در طراحی نانوحامل های مغناطیسی جدید و هدفمند، برای انتقال و تقویت سمیت داروی دوکسوروبیسین به سلول های سرطانی را شرح می دهد.

واژه های کلیدی: دارو رسانی، دوکسوروبیسین، سرطان، نانو ذرات اکسید آهن

ایمیل نویسنده مسئول: mohamadghanbari60@yahoo.com

۱- مقدمه

هدفگیری مغناطیسی دارو توسعه پیدا کرده است. این نانوذرات مرکب با استفاده از یک شیب میدان مغناطیسی که بر روی تومور متمرکز می شود میتوانند در تومور تجمع پیدا کنند [۵]. نانوذرات اکسید آهن مثل مگنتیت (Fe_3O_4) یا مگمیت ($\gamma-Fe_2O_3$) در حال حاضر تنها نانومواد مغناطیسی اند که در پزشکی بالینی به عنوان عامل تباین در تصویربرداری MRI و به عنوان حامل در دارورسانی مورد استفاده قرار گرفته اند [۶]. نانوذرات مغناطیسی اکسید آهن به دلیل خصوصیات زیر مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته اند: (۱) سهولت سنتز نانوذرات، (۲) مساحت سطح به حجم زیاد به دلیل داشتن ابعاد نانومتری، (۳) خاصیت سوپراپارامغناطیسی که باعث می شود این ذرات به میدان مغناطیسی خارجی پاسخ دهند و در غیاب میدان خارجی خاصیت مغناطیسی خود را از دست بدهند، (۴) امکان استخراج ساده و سریع گونه های مختلف تنها با به کارگیری یک میدان مغناطیسی خارجی، (۵) عدم نیاز به مراحل فیلتراسیون و سانتریفیوژ کردن در طی فرایند استخراج، (۶) توانایی استخراج از حجم زیاد نمونه ها (۷) امکان اصلاح سطح نانوذرات که باعث توانمندی در انتخاب گری می شود [۴۴، ۸].

دوکسوروبیسین (Dox) یک نوع آنتی بیوتیک از دسته ی آنزاسایکلین ها و عامل آنتی نئوپلاستیک بسیار مؤثر می باشد که به صورت روتین در درمان انواع بد خیمی ها مانند لوسمی ها، سرطان تخمدان و بخصوص مراحل پیشرفته سرطان سینه مورد استفاده قرار می گیرد [۱]، این ترکیب توسط استرپتومایسس پیوستیوس واریته کاسیوس تولید می شود (جدول ۱). به دلیل وجود اثرات جانبی قوی ناشی از این دارو بخصوص آسیب رسانی به قلب و همچنین مقاومت سلول های سرطانی نسبت به این دارو، پایداری کم در سیستم گردش خون، نفوذ دشوار در بافت ناهمگون تومورها و از بین رفتن دارو توسط آنزیم های تجزیه کننده درون بدن، کاربردهای بالینی این دارو با محدودیت روبروست [۴۳، ۲]. همراه شدن دوکسوروبیسین با حامل های دارورسان مانند لیپوزوم ها نشان داده است که به میزان قابل توجهی اثرات سمیت قلبی وابسته به دوز را کاهش داده است [۳]. با هدفمند کردن داروها و انتقال مستقیم داروهای ضدسرطانی به سایت تومور و تجمع آنها در ناحیه تومور می توان از بسیاری از اثرات جانبی ناخواسته دارو پیش گیری کرده و سمیت سلولی داروی ضد سرطانی را افزایش داد [۴]. اصول و روشهای زیادی جهت هدفگیری داروها مورد ارزیابی قرار گرفته اند یکی از این روش ها از طریق همراه کردن دارو با نانوذرات مغناطیسی در



۲- ضرورت و اهمیت پژوهش سرطان

سرطان یکی از بیماری‌های مهلکی است که هنوز بشر- علارقم پیشرفت‌های زیاد قادر به کنترل آن نشده است. در حال حاضر درمان این بیماری با روش‌های شیمی درمانی و رادیوتراپی و استفاده از سلول‌های بنیادی (پیوند مغز استخوان) صورت می‌گیرد که خود این روش‌ها در مواقعی بدلیل سمیت بیش از حد و عوارض جانبی بالا و طولانی بودن دوره درمان باعث مرگ اکثر بیماران می‌شود [۱۳]. از طرفی تشخیص زود هنگام این بیماری در مراحل اولیه جهت درمان به موقع حائز اهمیت بوده و موجب کنترل و اتخاذ روش درمانی مناسب و درمان قطعی این بیماری بیش از ظهور علائم بالینی آن خواهد شد [۱۴]. از جمله مشکلات اصلی که در درمان سرطان مطرح می‌باشد بحث دارورسانی هدفمند به ناحیه تومور می‌باشد که روش‌های درمانی مرسوم این ویژگی را نداشته و اکثر داروهایی که در شیمی درمانی مورد استفاده قرار می‌گیرند (مانند دوکسوروبیسین، متوترهوکسات و سیتارابین)، به صورت آزاد و با دوزهای بالا به بدن تزریق شده به طوری که علاوه بر سلول‌های سرطانی، سلول‌های سالم را نیز می‌کشند و به بیمار آسیب می‌رسانند [۱۵]. اخیراً برای رفع این مشکل پژوهشگران به کمک فناوری نانو توانسته‌اند نانوذراتی را تولید کنند که توانایی حمل مواد دارویی را داشته و از آنها به عنوان نانوحامل در سیستم‌های نوین دارورسانی استفاده می‌کنند. استفاده از نانوذرات به عنوان حامل در دارورسانی باعث کاهش دوز مصرفی دارو شده و از این طریق موجب مؤثر واقع شدن درمان و کاهش عوارض جانبی آن می‌شود [۱۶]. با توجه به اینکه امروزه بیشتر داروها گران قیمت هستند، بررسی دقیق کارایی به تله اندازی دارو در حین پروسه ساخت اهمیت زیادی دارد. چون بیشتر فراورده‌های نانوذره‌ای کاربرد تزریقی دارند، بنابراین جنبه‌های ساخت آنها مانند خالص سازی و استریلیزاسیون اهمیت زیادی دارند تا اطمینان حاصل شود، این فراورده‌ها از لحاظ بیولوژیک برای بدن قابل تحمل هستند [۱۷]. پس پژوهش در زمینه سرطان و کشف روش‌های درمانی بهینه با فناوری نانو اهمیت زیادی را در عصر- حاضر در کشورمان داشته است. در ادامه مروری بر تحقیقات گذشته در خصوص روش‌ها و سنتز انواع نانو ذرات هدفمند مغناطیسی حامل داروی دوکسوروبیسین و نیز بررسی تاثیر این نانو ذرات در تقویت عملکرد ضد سرطانی این دارو را خواهیم داشت.

۳- نمونه‌های اولیه نانو سامانه‌های دارویی هدفمند مغناطیسی

بر پایه نانو ذرات اکسید آهن و دوکسوروبیسین

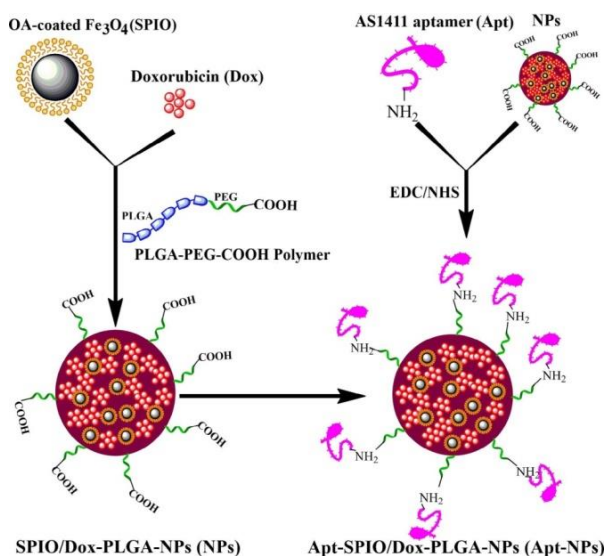
Benyettou و همکاران، نانو ذرات مزوپور اکسید آهن حاوی پوشش پلورونیک F108 حساس به گرما و حامل دوکسوروبیسین را که قابلیت رهایش دوکسوروبیسین را در محل بیماری به دو صورت آهسته و انفجاری بسته به شرایط pH محیط و تابش گرما (هایپرترمیا) را دارند را سنتز کردند (شکل ۱). این نانو ذرات بارگذاری شده با دوکسوروبیسین، به میزان قابل توجهی بقاء سلول‌های سرطانی هلا را کاهش دادند و مشخص شد که تحت شرایط فیزیولوژیک پایدار بالایی داشته و این سیستم حساس به

جدول ۱: اطلاعات مربوط به داروی دوکسوروبیسین [۷].

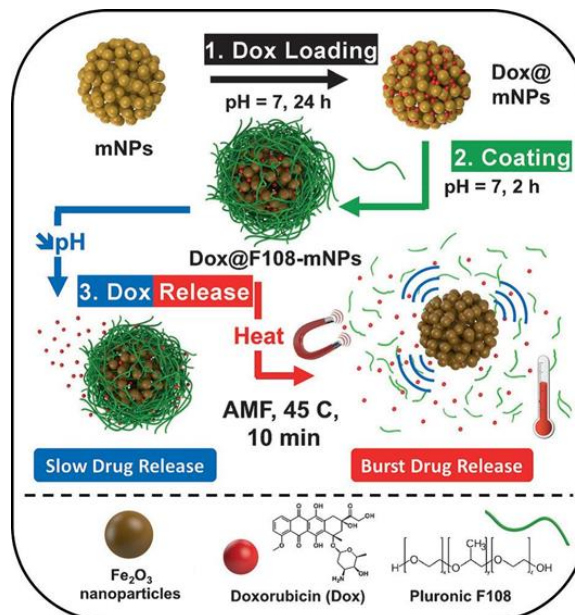
نام فارسی	دوکسوروبیسین هیدروکلراید
نام انگلیسی	DOXORUBICIN HCL
نام تجاری دارو	Adriamycin
گروه دارویی	Antineoplastic ضد سرطان‌ها (آنتی‌نئوپلاستیک - آنتی‌بیوتیک)
گروه شیمیایی دارو	گلیکوزید آنتراسایکلین
مکانیسم اثر	دوکسوروبیسین به نظر می‌رسد با اتصال به DNA و مهار ساخت DNA و RNA از طریق ایجاد اختلال در ساختمان مولکولی و ایجاد ممانعت فضایی، عمل می‌کند. با باند شدن به DNA باعث کاهش نسخه نویسی از روی آن و جدائی رشته‌ها از هم می‌گردد؛ در تمام چرخه سلولی مؤثر است و آپوپتوز را القا می‌کند.
	دوکسوروبیسین در درمان لوسمی لنفوسیتیک حاد، لوسمی میلو بلاستیک حاد، کارسینومای سلول‌های بینایی بیضه، پستانف نوروبلاستوم، تخمدان، تیروئید، تومور ویلمز، ریه (با منشاء نایژه ای)، معده، سر و گردن، کبد، گردن رحم، پروستات، اندومتر، بیضه، لنفوم‌های هوچکینی، سارکوم بافت‌های نرم و سارکوم استخوان مصرف می‌شود.
موارد مصرف	دوکسوروبیسین از سد خونی- مغزی عبور نمی‌کند. این دارو توسط کبد متابولیزه شده و به متابولیت فعال تبدیل می‌گردد. دفع آن عمدتاً از طریق صفرا است.
فارماکوکینتیک	دوکسوروبیسین از سد خونی- مغزی عبور نمی‌کند. این دارو توسط کبد متابولیزه شده و به متابولیت فعال تبدیل می‌گردد. دفع آن عمدتاً از طریق صفرا است.

با قرار دادن پوشش‌ها و گروه‌های عاملی مختلف بر روی نانوذرات مغناطیسی می‌توان آنها را در زمینه‌های مختلف مانند دارورسانی، از بین بردن سلول‌های سرطانی، الکترونیک و دیگر زمینه‌ها به کار برد، این ذرات به راحتی تجزیه می‌شوند و بطور بالقوه برای انسانها غیرسمی هستند لذا در نانو پزشکی اهمیت زیادی دارند [۹]. آزمایش‌هایی که در طول چند سال بر روی نانوذرات اکسید آهن صورت گرفته است نشان می‌دهند که این ذرات هیچ گونه اثر سمی فوری یا بلند مدت در شرایط *in vivo* ندارند [۱۰]. مشکل اساسی استفاده از ذرات در *in vivo* جذب عناصر بیولوژیکی مثل پرتئین‌های پلاسما روی سطح هیدروفوب ذرات است که باعث می‌شود ذرات سریع از گردش خون خارج شوند که با ایجاد پوشش‌های هیدروفیلی بر سطح نانوذرات، این مشکل را می‌توان بر طرف کرد [۱۱]. برای کاربردهای *in vivo*، نانوذرات مغناطیسی حتماً باید با یک پوشش زیست سازگار پوشانده شوند که عمل پوشش دهی می‌تواند در حین سنتز یا پس از آن انجام شود. پوشش پلیمری از تشکیل توده‌های بزرگ جلوگیری می‌کند و از ذرات هنگامی که در معرض سیستم بیولوژیکی بدن قرار می‌گیرند محافظت می‌کند. پوشش پلیمری همچنین باعث اتصال داروها به سطح ذرات از طریق پیوند کووالانسی، جذب یا گیرافتادن توسط ذرات می‌شود [۱۲].

دما بوده و نیز از پتانسیل شیمی درمانی بالایی برخوردار است [۱۸].



شکل ۲- فرمول نشان دهنده شماتیک فرایند تولید نانو ذرات مغناطیسی هدفمند شده با آبتامر. نانو ذرات عامل دار شده با گروه های کربوکسیل به صورت کووالان با گروه های NH_2 آبتامر جفت می شوند [۱۹].

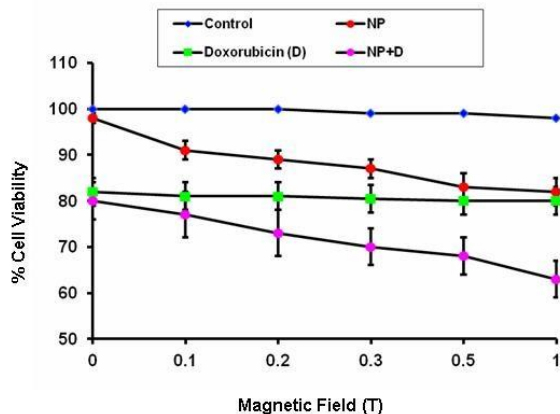


شکل ۱- شمائی از فرایند بارگذاری دوکسوروبیسین بر سطح نانو ذرات مزوپور اکسید آهن و پوشش دهی آن با پلی مر F108، این نانو سامانه دارویی بسته به شرایط محیط یعنی pH و تابش میدان مغناطیسی (هایپرترمیا) به دو حالت رهایش سریع و رهایش آهسته داروی دوکسوروبیسین را خواهند داشت [۱۸].

مسافر و همکاران با یک روش اصلاح شده به نام "تبخیر حلال امولسیون چندگانه"، نانو ذرات مغناطیسی بارگیری شده با دوکسوروبیسین و هدفمند شده با لیگاند آبتامر AS1411 به عنوان عامل ترانزستیک جهت تصویر برداری و درمان هدفمند سرطان سنتز کردند (شکل ۲). این نانو ذرات با قطر ۱۳۰ نانومتر و با درصد بارگیری ۳٪ با دوکسوروبیسین تهیه شدند. نوکلئولین (Nucleolin)، با هدف قرار گرفتن توسط نانو ذرات هدفمند شده با آبتامر AS1411، موجب تسهیل انتقال نانو ذرات به تومور می شود، جفت شدن آبتامر با نانو ذرات در تقویت جذب سلولی دوکسوروبیسین به سلول های سرطانی C26 موثر است. همچنین نانو ذرات هدفمند شده با آبتامر، موجب افزایش سمیت سلولی دوکسوروبیسین علیه سلول های کارسینومای کولون C26 در موش شده و در نتیجه افزایش بقاء جانور می شود [۱۹].

Gupta و wells در سال ۲۰۰۴ تحقیقی را بر روی سنتز نانوذرات سوپراپارامغناطیس اکسید آهن و اصلاح سطح آن با پلی مر پلی اتیلن گلیکول (PEG) جهت استفاده در دارو رسانی انجام دادند. آنها با استفاده از فرایند پلیمریزاسیون میکروامولسیون معکوس، نانوذرات پلیمری مغناطیسی را که متشکل از هسته مغناطیسی و پوسته پلیمری بود سنتز کنند. نانوذرات سوپراپارامغناطیس اکسید آهن که سطح آن با PEG اصلاح شده بود با شکل و اندازه اختصاصی درون هسته آبی میسل های معکوس تهیه شدند. پوسته پلیمری خاصیت هیدروفیلی و تشکیل فلوئید پایدار را برای نانوذرات ایجاد می کند. مطالعات فیزیکوشیمیایی مانند TEM و AFM نشان دادند که نانوذرات اصلاح شده با PEG ساختار پوسته-هسته ای دارند و به شکل کروی و با توزیع اندازه باریک بین ۴۰ تا ۵۰ نانومتر هستند. مطالعات حاصل از سنجش های مغناطیسی خاصیت سوپراپارامغناطیسی نانوذرات را تایید کرد و مقادیر مغناطیس پذیری اشباع نانوذرات بین ۴۵ تا ۵۰ واحد الکترومغناطیس بر گرم تعیین شد. همچنین در این تحقیق سمیت سلولی نانوذرات سنتز شده با استفاده از تست MTT بر روی سلول های فیروبلست پوست انسان مورد ارزیابی قرار گرفت و مشخص شد که نانوذرات مغناطیسی پوشش داده شده با PEG، غیر سمی اند (شکل ۳). دامنه غلظت های بکار رفته در این سنجش بین ۰ تا ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر بود. نتایج تست MTT نشان داد که درصد زنده مانی سلول ها در حالتی که با نانوذرات اصلاح شده با PEG به مدت ۲۴ ساعت تیمار شده بودند به میزان ۱۰ تا ۴۰ درصد (بسته به غلظت به کار رفته) نسبت به نمونه های کنترل که تیمار نشده بودند، افزایش داشت. حتی در غلظت ۱ mg/ml (میلی گرم بر میلی لیتر) بقاء سلول ها

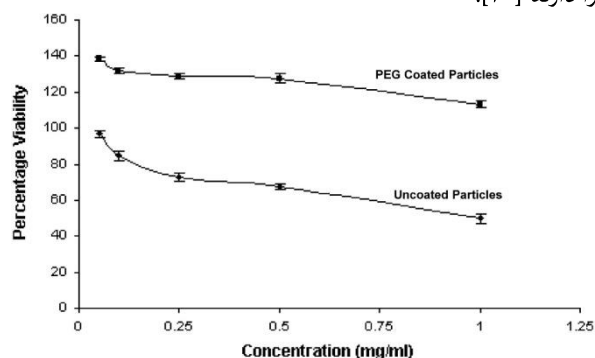
از طریق مکانیسم القاء مرگ برنامه ریزی شده سلول اتفاق می افتد [۲۱].



شکل ۴. اثر میدان مغناطیسی استاتیک بر سمیت سلولی القاء شده با دوکسوروبین، سلول های MCF7 به مدت ۷۲ ساعت قبل از تیمار با Dox، نانو ذرات و یا هر دو به صورت مرکب، در معرض میدان مغناطیسی استاتیک قرار گرفتند سپس رشد سلول ها با روش سنجش MTT آنالیز شد. گروه های کنترل با DMSO به تنهایی تیمار شده اند [۲۱].

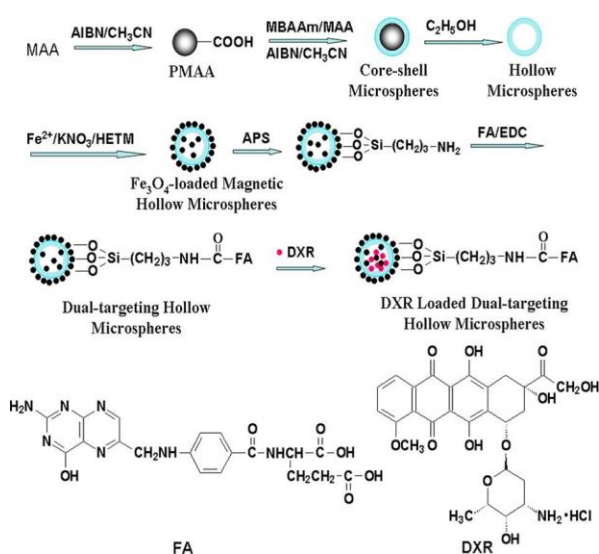
Gonzales و همکاران در سال ۲۰۱۰ نانو ذرات اکسید آهن را با روش تجزیه گرمایی پیش سازهای آلی-فلزی جهت استفاده در MRI سنتز کردند (شکل ۵). نانو ذرات حاصل از طریق ۲ روش انتقال فاز خشک و انتقال فاز مرطوب با کوپلی مر Pluronic F127 پوشانده شده و به فرم قابل حل در آب تبدیل شدند. شکل و اندازه ذرات با روش DLS و TEM اندازه گیری شد. تصاویر میکروسکوپ الکترونی نشان داد که قطر نانو ذرات بدون پوشش، به اندازه ۹ nm است. داده های حاصل از DLS ثابت کرد که قطر هیدرودینامیکی نانو ذرات قبل و بعد از پوشاندن با Pluronic به اندازه ۱۱/۳ nm و ۳۷ nm بود. در مجموع داده های حاصل از این دو روش نشان دادند که نانو ذرات به شکل کروی و با اندازه واحد سنتز شده اند. قبل از ورود نانو ذرات سنتز شده به فازهای بالینی و کاربردهای زیست پزشکی، سمیت سلولی نانو ذرات را با روش های رنگ سنجی مانند MTT بر روی رده سلولی RAW 264.7 ارزیابی کردند. نتایج تست MTT بعد از تیمار ۲۴ ساعته به این گونه بود که نانو ذراتی که با روش انتقال مرطوب سنتز شده و قابلیت پراکندگی در محلول های آبی را داشتند در تمام غلظت های بکار برده برای سلول ها سمی بودند به طوری که زنده مانی سلول ها در غلظت ۰/۰۶ mgFe/ml کمتر از ۱۰ درصد و در غلظت های بالاتر نزدیک به ۰ بود. اما برعکس این حالت نتایج حاصل از تست MTT بر روی نانو ذرات سنتز شده با روش انتقال خشک، زنده بودن سلول ها در همه غلظت های نانو ذره را نشان می داد. این نتایج مؤید بی تاثیر بودن غلظت و نقش مؤثر روش انتقال فاز بر روی سمیت سلولی نانو ذرات می باشد. نتیجه گیری کلی کار این گروه تحقیقاتی این

بالای ۱۰۰ درصد بدست آمد اما بر عکس این حالت وقتی که سلول ها با نانو ذرات فاقد پوشش تیمار شدند با افزایش غلظت از ۰ تا ۱ mg/ml به میزان قابل ملاحظه ای قابلیت زیستایی خود را از دست دادند به طوری که در غلظت های بالاتر از ۲۵۰ µg/ml به میزان ۲۵ تا ۵۰ درصد بقاء سلول ها کاهش داشت و در غلظت ۱ mg/ml میزان بقاء سلول ها ۵۰ درصد محاسبه شد. اما در غلظت های زیر ۲۵۰ µg/ml تغییر چندانی در فعالیت متابولیسی سلول ها در مقایسه با سلول های کنترل مشاهده نشد. نتیجه کلی این بود که نانو ذرات اکسید آهن پوشیده شده با PEG قابلیت کاربردهای زیست پزشکی در شرایط *in vivo*، *in vitro* را دارند [۲۰].



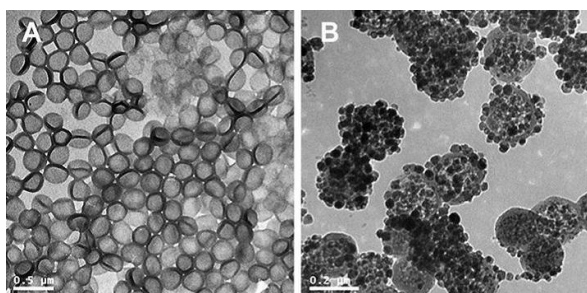
شکل ۳. پروفایل سمیت سلولی نانو ذرات در دو حالت فاقد پوشش و پوشیده شده با PEG که بر روی فیروپلاست های انسانی و با سنجش MTT اندازه گیری شده است [۲۰].

Aljarrah و همکاران در سال ۲۰۱۲ تحقیقی را در مورد اثر نانو ذرات Fe_2O_3 و میدان مغناطیسی استاتیک (SMF) و همچنین اثر این دو به صورت مرکب، در تقویت عملکرد آپوپتوتیک داروی دوکسوروبین (Dox) علیه سلول های آدنوکارسینومای سینه (MCF7) بوسیله سنجش MTT انجام دادند. این سلول ها نسبت به درمان با Dox مقاومت نشان می دهند در این تحقیق سلول های MCF7 در ۴ حالت مختلف و به مدت ۷۲ ساعت با نانو ذرات Fe_2O_3 و Dox تیمار شدند (شکل ۴). در حالت اول سلول ها با نانو ذرات Fe_2O_3 به تنهایی مورد تیمار قرار گرفتند و در حالت دوم فقط با Dox در غلظت ۱ µM انجام دادند. درصد بقاء سلول ها بعد از تیمار در حالت های گفته شده، با تست MTT مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج تست MTT به این صورت بود که در حالت اول اثر مهاری بر رشد سلول مشاهده نشد، در حالت دوم و سوم اثر مهاری بر رشد سلول به میزان ۲۰ درصد دیده شد. اما در حالت چهارم بر خلاف دیگر حالت ها این اثر شدیدتر بود و به میزان ۵۰ درصد مشاهده شد. آزمایشات بیشتر نشان دادند که این اثر مهاری یا ضد تکثیری

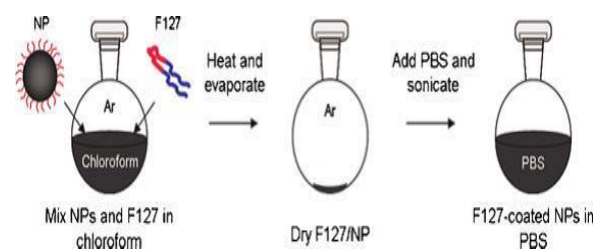


شکل ۶. بالا- شمائی از مراحل سنتز نانواسفرهای پلی مری/مغناطیسی و بارگیری آنها با داروی Dox. پایین-ساختارهای شیمیایی اسید فولیک (FA) و دوکسوروبیسین (Dox) [۲۳].

داده های حاصل از منحنی مغناطیسی پذیری و طیف های UV، FT-IR و تصاویر TEM نشان می دهند که میکروسفرهای P(MBAAm-co-MAA) حاوی مگنتیت بوده و اندازه های واحد و خصوصیات مورفولوژیکی خوبی را برای هدفگیری تومور دارا می باشند. نتایج حاصل از DLS نشان داد که اندازه متوسط میکروسفرهای پلیمری/مغناطیسی ۴۵۱ nm است که این مقدار بیشتر از اندازه حاصل از مطالعات TEM (حدود ۲۰۰ nm) بود (شکل ۷). مغناطیس پذیری اشباع و رمینس مغناطیسی (مغناطیس مانده) میکروسفرهای پلی مری/مغناطیسی به ترتیب $1 \text{ g}^{-1} \text{ emu}$ (۳۲/۵۲) و 1 emu^{-1} (۵/۵۶۲) بدست آمد. ظرفیت یا گنجایش بارگذاری داروی Dox درغلظت (۲۳۰ $\mu\text{g/mL}$) بر روی میکروسفرهای پلی مری/مغناطیسی P(MBAAm-co-MAA)@ Fe_3O_4 به اندازه ۱۷۶ $\mu\text{g/mg}$ و درصد کپسوله کردن دارو ۶۱% بود در حالی که رهایش دارو از حامل خود وابسته به مقادیر pH محیط بود. کل نتایج، مناسب بودن این روش را برای تهیه حامل های دارویی چندعملکردی برای درمان ترکیبی سرطان پیشنهاد می کند [۲۳].

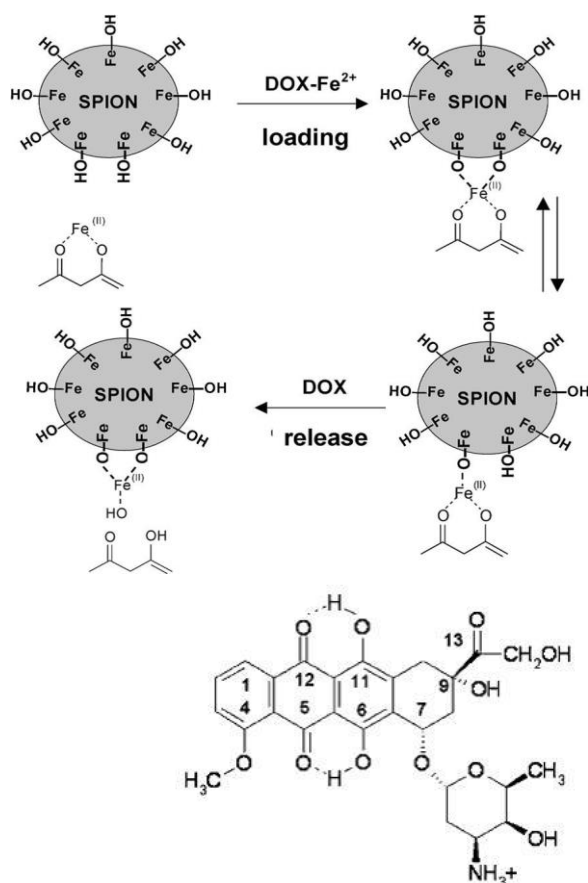


بود که خصوصیات نانوذرات سنتز شده از جمله شکل، اندازه، توزیع و سمیت سلولی، وابسته به روش سنتز آنها است [۲۲].



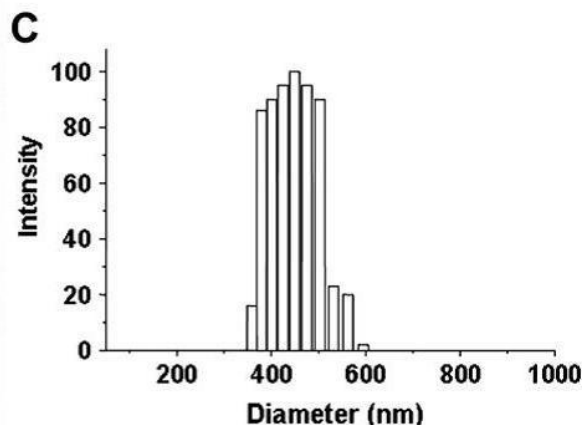
شکل ۵. فرایند انتقال فاز خشک، نانو ذرات اکسید آهن با F127 در کلروفرم مخلوط می شوند، کلروفرم در اتمسفر آرگون و در دمای $^{\circ}\text{C}$ ۵۵ تبخیر شده و نانو ذرات پوشیده شده با پلورونیک با سونیکاسیون مختصر در PBS به حالت تعلیق یا سوسپانسیون در آمده اند [۲۲].

Yang و همکاران در سال ۲۰۱۰ میکروسفرهای هدفمند دوگانه را به عنوان حامل دارو جهت بارگیری و رهایش هدفمند و کنترل شده داروی Dox (داروی ضد سرطانی مدل) طراحی و سنتز کردند. این میکروسفرهای توخالی متشکل از پوسته پلیمری P(MBAAm-co-MAA) و همچنین نانوذرات مغناطیسی Fe_3O_4 بودند که با دو روش تومور را مورد هدف قرار می دهند. یکی از طریق لیگاند مولکولی کوچک به نام اسیدفولیک که به طور اختصاصی به گیرنده خود در سطح سلول های سرطانی متصل می شود و دیگری از طریق نانوذرات مغناطیسی Fe_3O_4 که به هدف گیری مغناطیسی معروف است و با قرارگرفتن تومور در معرض میدان مغناطیسی خارجی، متمرکز شدن نانوذرات به درون تومور صورت می گیرد. پس میکروسفرها عملکرد دوگانه دارند. و دارای ویژگی حساسیت به pH اسیدی محیط هستند که از این ویژگی برای رهایش کنترل شده داروی Dox از میکروسفرهای پلیمری/مغناطیسی به سلول های توموری که pH اسیدی دارند، استفاده می شود. روش ساخت میکروسفرهای پلیمری/مغناطیسی P(MBAAm-co-MAA)@ Fe_3O_4 که پوسته ای و فاقد هسته بودند به این صورت انجام شد که ابتدا میکروسفرهای پوسته ای/هسته ای PMAA/P(MBAAm-co-MAA) در دو مرحله سنتز شدند سپس با برداشت انتخابی هسته MAA از میکروسفرهای پوسته ای/هسته ای، میکروسفرهای توخالی P(MBAAm-co-MAA) بدست آمد. سپس نانوذرات مغناطیسی Fe_3O_4 بر روی سطح میکروسفرها از طریق اکسیداسیون نسبی نمک فروس بواسطه پتاسیم نیترات به عنوان عامل اکسید کننده، مستقر شدند میکروسفرهای پلیمری/مغناطیسی حاصل با گروه های ۳-آمینوپروپیل تری متوکسی سیلان (APS) عامل دار شدند و با اتصال شیمیایی اسیدفولیک به گروه های آمینوی (APS)، میکروسفرهای هدفمند دوگانه سنتز شد کل مراحل سنتز میکروسفرهای پلیمری/مغناطیسی در شکل ۶ به صورت شماتیک خلاصه شده است. نتایج حاصل از کار این گروه تحقیقاتی به این صورت بود:



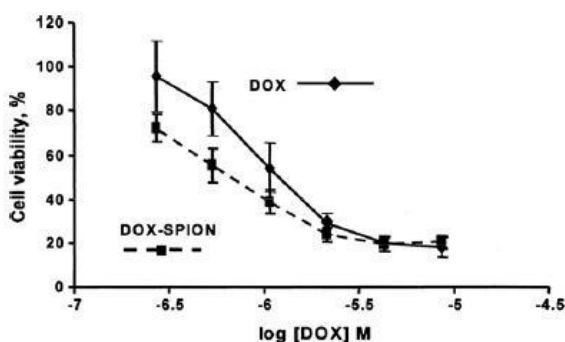
شکل ۸. دیاگرام شماتیک از اتصال DOX-Fe^{2+} به سطح SPION و رهایش DOX از SPION (بالا) و ساختمان مولکولی دوکسوروبیسین (پایین). [۲۴].

میزان بارگذاری دارو به اندازه ۱۴٪ بدست آمد که به عنوان بیشترین مقدار از بین مقالات گزارش شده تا به امروز، شناخته شده است. رهایش DOX از نانوذرات شدیداً وابسته به pH محیط بوده، به طوری که مقدار رهایش در $\text{pH}=7/4$ بعد از ۱ ساعت به ۸۵٪ رسیده است در حالی که رهایش در $\text{pH}=4$ خیلی سریع روی می دهد. در هر دو pH داروی رها شده فاقد آهن است (شکل ۹). [۲۴].



شکل ۷. تصاویر TEM میکروسفرهای توخالی P(MBAAm-co-MAA) و میکروسفرهای مغناطیسی $\text{P(MBAAm-co-MAA)@Fe}_3\text{O}_4$. (A) و (B) نمودار توزیع اندازه میکروسفرهای مغناطیسی $\text{P(MBAAm-co-MAA)@Fe}_3\text{O}_4$ در اتانل با روش DLS (C). [۲۳].

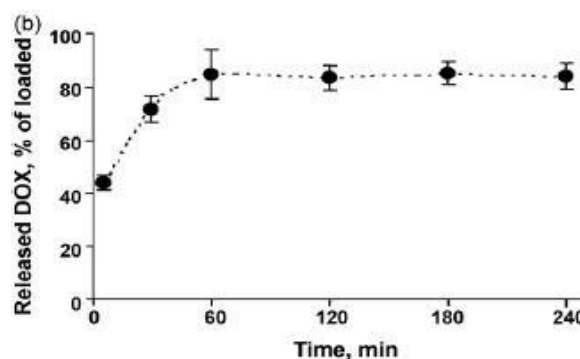
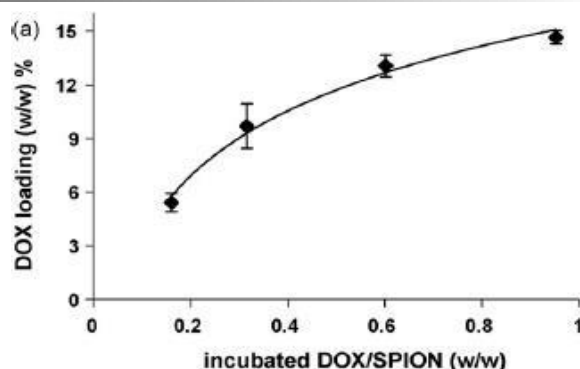
Munnier و همکاران در سال ۲۰۰۸ روش جدیدی را برای تجمع قابل برگشت داروی Dox با نانوذرات-سوپرپارامغناطیسی اکسید آهن (SPION)، در شیمی درمانی هدفمند مغناطیسی توسعه دادند. کارایی این روش با مطالعات بارگذاری دارو، کینتیک جذب و سمیت سلولی در *in vitro* مورد ارزیابی قرار گرفت. روش به این صورت بود که ابتدا سوسپانسیون آبی (SPION) که فروفلوئید نامیده می شود، از طریق رسوب همزمان کلریدهای فریک و فروس در محیط قلیایی و اکسیداسیون سطحی آن با نیترات فریک و تیمار سطحی با یون های سیترات، تهیه شد. سپس فروفلوئیدها با داروی Dox با استفاده از کمپلکس از پیش ساخته DOX-Fe^{2+} بارگذاری شدند در این روش ابتدا با جایگزین کردن هیدروژن در موقعیت ۱۱ مولکول دوکسوروبیسین (شکل ۸) با یون Fe(II) کمپلکس های DOX-Fe(II) تحت شرایط pH و غلظت کنترل شده تشکیل شد، سپس این کمپلکس ها تحت شرایط pH، دما و زمان انکوباسیون کنترل شده در تماس با ذرات قرار گرفتند، در این جا یون Fe(II) نقش واسطه را در بین دوکسوروبیسین و سطح ذره با شلاته شدن از طریق Dox و گروه های هیدروکسیل موجود در سطح، تحت شرایط آزمایشی ایفا می کند [۲۴]، (شکل ۸).



شکل ۱۰. پروفایل فعالیت سمی سلولی نانو ذرات SPION بارگذاری شده با DOX در مقایسه با DOX آزاد یا محلول در شرایط برون تن، سلول های سرطانی MCF-7 به مدت ۲۴ ساعت تیمار شده اند، تفاوت ها از نظر آماری برای غلظت های 10^{-6} – 10^{-10} M (مولار) مهم اند [۲۴].

Munnier و همکاران در سال ۲۰۱۱ کار مشابهی را برای بررسی مکانیسم های عملکردی نانوذرات اکسید آهن حامل DOX در شرایط *in vitro* بر روی سلول های MCF7 انجام دادند. سمیت سلولی سوسپانسیون DOX-SPION و همچنین خود DOX در حالت محلول در غلظتهای مساوی بر روی سلول های MCF7 با تست MTT ارزیابی شد با توجه به ویژگی فلورسانس درونی DOX، توزیع داخل سلولی آن در حالت آزاد و بارگذاری شده بر روی نانوذرات اکسید آهن، با روش تصویربرداری طیفی کانفوکال مورد مطالعه قرار گرفت و مشخص شد که توزیع داخل سلولی دوکسوروبیسین آزاد با دوکسوروبیسین بارگذاری شده بر روی نانوذرات متفاوت است. دوکسوروبیسین در حالت آزاد در هسته متمرکز شده بود ولی در حالت بارگذاری شده توزیع سیتوپلاسمی را نشان می داد. در این تحقیق مشخص شد که مسیر ورود نانوذرات حامل DOX از مسیر ورود DOX آزاد متفاوت است این مسیر ورود جدید که احتمالاً از طریق اندوسیتوز صورت می گیرد موجب افزایش سمیت سلولی نانوذرات می شود این اثر در بازه زمانی ۴ ساعته محسوس تر بود به طوری که در غلظت 10^{-6} M (۸.۶) نیمی از سلول ها در اثر تیمار با نانوذرات حامل DOX از بین رفته بودند در حالی که در همین غلظت DOX آزاد هیچ تاثیری بر روی بقاء سلول ها نداشت، نتایج حاکی از آن است که نانوذرات از طریق القاء استرس اکسیداتیو و آپوپتوز و مکانیسم های ناشناخته ی دیگری منجر به مرگ سلول می شوند [۲۵].

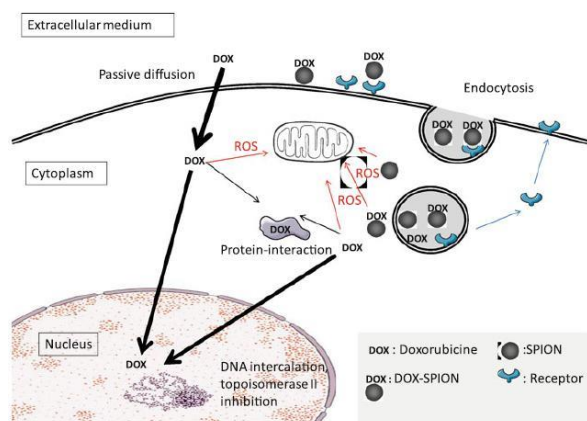
Naqvi و همکاران در سال ۲۰۱۰ تحقیقی را در رابطه با سنتز نانوذرات اکسید آهن و اصلاح سطح آن با Tween 80 و بررسی سمیت سلولی آن با روش MTT منتشر کردند هدف این تحقیق بررسی تاثیر پارامترهای زمان و غلظت بر پتانسیل سمیت سلولی نانوذرات و همچنین القاء فرایند استرس اکسیداتیو توسط نانوذرات بود. نتایج حاصل از TEM و اندازه گیری پتانسیل زتا نشان داد که نانوذرات اکسید آهن اصلاح شده با Tween 80، کروی شکل بوده و با اندازه ۱۵ تا ۳۰ نانومتر سنتز شده اند. نتایج



شکل ۹. اتصال کمپلکس $DOX-Fe^{2+}$ به سطح نانو ذرات SPION: a- بارگذاری DOX در مقابل نسبت وزنی اولیه drug/SPION. b- آزاد شدن دوکسوروبیسین از فروفلوئید SPION بارگیری شده با دارو در شرایط *in vitro* (بافر تریس در $pH=7.4$)، [۲۴].

همچنین در این مطالعه اثرات زیستی داروی DOX در دو حالت آزاد و بارگذاری شده بر روی نانوذرات SPION در غلظت های مشابه و در شرایط *in vitro* مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت اثرات زیستی داروی DOX در دو حالت گفته شده با اندازه گیری سمیت سلولی آنها بر روی رده سلولی کارسینومای سینه (MCF7) طی تیمار ۲۴ ساعته از طریق تست MTT مورد ارزیابی قرار گرفت (شکل ۱۰). نتایج حاصل از تست MTT نشان داد که DOX در حالت بارگذاری شده اثر سمی قوی-تری نسبت به حالت آزاد دارد. این اثر در غلظت های پایین مشهود است اما در غلظت های بالا اثرات سمی مشابهی دارند. مقادیر IC_{50} برای DOX آزاد و DOX بارگذاری شده (DOX-SPION) به ترتیب ۱/۲ و ۰/۷ میکرو مولار بدست آمد. در این مطالعه همچنین اثرات سمی SPION و کمپلکس $DOX-Fe^{2+}$ مورد بررسی قرار گرفت و مشخص شد که نانوذرات SPION به تنهایی اثر سمی بر روی سلول های MCF7 دارند و سمیت کمپلکس $DOX-Fe^{2+}$ مشابه سمیت DOX محلول بود. تحلیل نتایج فوق به این صورت بود که اثر سیتوتوکسیک قوی ذرات DOX-SPION به خاطر آزاد شدن داروی DOX بر روی غشاء سلولی یا ورود دارو بواسطه نانوذرات به درون سلول است [۲۴].

Dox آزاد است، نانوذرات حامل Dox احتمالاً از طریق مکانیسم اندوسیتوز وارد سلول می شوند و این مکانیسم شانس غلبه بر مقاومت سلول های سرطانی نسبت به داروی Dox را افزایش می دهد، چون این مکانیسم سریع و از طریق انتشار غیرفعال از میان غشاء اتفاق می افتد [۲۹، ۴۲]. نتایج مطالعات Munier و همکاران نشان می دهد که نانوذرات اکسید آهن مسیرهای ورود و توزیع داخل سلولی Dox به سلول های سرطانی را تغییر می دهند و همچنین مکانیسم های عملکردی بیشتری را جهت مهار آنزیم توپوایزومراز (II) اعمال می کنند. آنها در تحقیق دیگری که برای بررسی مکانیسم های عملکردی و توزیع و میانکنش داخل سلولی Dox در حالت آزاد و بارگذاری شده بر روی نانوذرات سوپراکسید آهن (SPION) انجام دادند به این نتیجه رسیدند که توزیع داخل سلولی Dox در حالت آزاد و بارگذاری شده متفاوت است و سمیت Dox در حالت بارگذاری شده بیشتر از حالت آزاد دارو بود. غلظت Dox استفاده شده در هر دو حالت آزاد و بارگذاری شده بر روی نانوذرات هم اندازه بوده ($4 \mu\text{M}$) و تیمار، ۲۴ و ۴۸ ساعت بر روی رده سلولی سرطانی MCF7 انجام شد. مشاهدات آنها این بود که در تیمار ۴ ساعته سوپراکسید آهن Dox-SPION، سمیت سلولی بیشتری نسبت به Dox آزاد، بر روی سلول های MCF7 دارد به طوری که درصد مرگ و میر سلول ها در حالت تیمار با ترکیب Dox-SPION نزدیک به ۴۰٪ می رسید در حالی که درصد میرایی سلول ها در حالت تیمار با Dox آزاد، تنها ۱۰٪ بود. این اثر صرفاً نمی تواند به غلظت داخل سلولی داروی آزاد شده نسبت داده شود. این در حالی بود که هر دو ترکیب با یک غلظت ($4 \mu\text{M}$) استفاده شده بودند. تغییر در توزیع داخل سلولی Dox در حالتی که بواسطه SPION، انتقال یافته بود نشان می دهد که این سمیت سلولی بالا منشاء سیتوپلاسمی دارد [۲۵]. نتایج تحقیقات صورت گرفته، ورود نانوذرات اکسید آهن حامل دوکسوروبیسین را از طریق مکانیسم اندوسیتوز که مکانیسم سریعی می باشد، مورد تایید قرار می دهد (شکل ۱۱). همچنین Dox به عنوان منشاء تولید ROS به خوبی شناخته شده است که این فرایند به عنوان مکانیسم ثانویه عملکرد دارو عمل می کند [۳۰].



تست MTT نشان می دهد که زنده مانی سلول های ماکروفاژ مورین (J774) بعد از تیمار ۳ ساعته و در غلظت های پایین ($25-200 \mu\text{g/mL}$)، بیشتر از ۹۵٪ می باشد در حالی که در غلظت های بالاتر ($300-500 \mu\text{g/mL}$) و تیمار ۶ ساعت، زنده مانی سلول ها به ۵۵ تا ۶۵٪ کاهش یافت. سنجش آپتوزیز-نکروزیز با روش پروپیدیوم یداید و رنگ آمیزی Hoechst 33342 انجام شد نتایج این سنجش نشان داد که اکثر سلول ها با مکانیسم آپتوزیز از بین رفته اند نتایج حاصل از سنجش H2DCFDA مشخص کرد که با افزایش غلظت نانوذرات میزان تولید گونه های فعال اکسیژن (ROS) افزایش پیدا کرده که خود منجر به آسیب و مرگ سلول می شود [۲۶].

Kayal و Ramanujan در سال ۲۰۱۰ تحقیقی را در مورد سنتز نانوذرات اکسید آهن جهت هدفگیری مغناطیسی دارو برای درمان ناحیه ای یا locoregional سرطان منتشر کردند. آنها نانوذرات اکسید آهن را با روش رسوبگذاری همزمان اکسیدهای آهن سنتز کرده و سطح آن را با پلی وینیل الکل (PVA) پوشش دهی کردند. خصوصیات فیزیکوشیمیایی و مورفولوژیکی نانوذرات پوشیده شده با PVA با روش های TEM, TGA, FTIR, XRD و VSM مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که هسته مغناطیسی حامل ها که همان مگنتیت یا (Fe_3O_4) می باشد، به اندازه ۱۰ نانومتر بود. مغناطیس سنجی نمونه ارتعاشی در دمای اتاق نشان داد که ذرات رفتار سوپراپارامغناطیس دارند. اتصال PVA به نانوذرات با FT-IR تایید شد و مقدار PVA اتصال یافته به نانوذرات با آنالیز تجزیه وزنی (TGA) بدست آمد در ادامه فرایند بارگذاری و رهایش داروی Dox بر روی نانوذرات اکسید آهن پوشش داده شده با PVA مورد بررسی قرار گرفت. طیف FT-IR اتصال Dox به نانوذرات پوشیده شده با PVA را تایید می کند. نتایج نشان داد که میزان رهایش دارو از حامل خود طی ۸۰ ساعت ۴۵٪ می باشد، یعنی از ۱۰۰٪ داروی جذب شده ۴۵٪ آن آزاد شده بود. رهایش دارو تابع فرایند کنترل شده انتشار Fickian بود. نتیجه کلی از این تحقیق این بود که نانوذرات اصلاح شده با PVA و بارگیری شده با Dox پتانسیل بالایی را در هدفگیری مغناطیسی دارو دارند [۲۷].

۴- اثرات بیولوژیکی ضد سرطانی نانو سامانه های هدفمند مغناطیسی بارگیری شده با دوکسوروبیسین

Shen و همکاران در مطالعه ای که در مورد بررسی مقاومت سلول های سرطانی MDA-MB-435 نسبت به داروی Dox انجام دادند، دریافتند که یک ژن به نام MDR1 که توسط سلول های انسان کد می شود، عامل مقاومت سلول های سرطانی نسبت به داروی Dox است. این ژن یک نوع پرتئین ترانسپورتر غشائی به نام گلیکوپروتئین P را کد می کند که نقش پمپاژ کردن دارو را به خارج از سلول ایفا می کند و همین عامل موجب مقاومت سلول ها نسبت به Dox می شود [۲۸]. بررسی ها نشان می دهند که سمیت زود هنگام نانوذرات اکسید آهن حامل Dox ناشی از مسیر ورود و مکانیسم عملکردی متفاوت آنها نسبت به

شکل ۱۱: جذب نانوذرات را از طریق اندوسیتوز و همچنین توزیع و میانکنش داخل سلولی Dox در حالت آزاد و بارگذاری شده بر روی نانوذرات اکسید آهن را به صورت شماتیک نشان می دهد [۲۵].

نتایج تحقیقات انجام شده توسط Aljarrah و همکاران نشان می دهد که نانوذرات اکسید آهن (Fe_2O_3) به تنهایی نمی-توانند رشد سلول های MCF7 را مهار کنند، چون نانوذرات (Fe_2O_3) به تنهایی قادر به تولید ROS نیستند. Aljarrah و همکاران نتیجه گرفتند که با پیش تیمار سلول های MCF7 با نانوذرات Fe_2O_3 و با قراردادن سلول ها در معرض میدان مغناطیسی استاتیک (SMF) قبل از این که سلول ها با Dox تیمار شوند، افزایش قابل ملاحظه ای در قطعه قطعه شدن DNA در مرحله G1 مشاهده شد. نتایج نشان می دهد که این تیمار، نقش مهمی در حساس کردن سلول های سرطانی نسبت به القاء مرگ آپوپتوتیک سلول ها با داروی دوکسوروبیسین دارد. این محققین به این نتیجه رسیدند که میدان مغناطیسی استاتیک (SMF) به تنهایی قادر به القاء مرگ سلول سرطانی نیست. میدان مغناطیسی استاتیک تنها در حضور نانوذرات اکسید آهن و Dox، موجب مهار رشد سلول ها می شود. پتانسیل آپوپتوتیک میدان مغناطیسی استاتیک، به دلیل توانایی آن در القاء تغییر شکل سلول می باشد [۲۱]. علاوه بر استرس اکسیداتیو که توسط نانوذرات اکسید آهن القا شده است، این تاثیر ممکن است موجب وارد شدن استرس فیزیکی از طریق تغییر در سطوح داخل سلولی کلسیم شود این تغییر موجب القاء پاسخ پرتئین تا نخورده (UPR) در سلول می شود این پاسخ موجب افزایش تجمع پرتئین های تانخورده یا بد تانخورده در سلول می شود. تداوم در پاسخ UPR در حضور دوکسوروبیسین و نانوذرات اکسید آهن موجب مرگ سلول از طریق القاء استرس شبکه آندوپلاسمی (ER) خواهد شد [۳۱، ۴۱]. مکانیسم دیگری که برای مرگ سلول پیشنهاد شده است این است که SMF ممکن است موجب مهار فرایندهای ترمیم آسیب DNA شود. بنابراین آسیبی که به DNA توسط مهارکننده توپوایزومراز (I) یعنی دوکسوروبیسین، وارد شده بود ترمیم نشده و سلول ها خودکشی خواهند کرد [۳۱]. تشکلات سلولی مختلفی مانند کربوهیدرات ها، لیپیدها و اسیدهای نوکلئیک ممکن است به خاطر افزایش سطوح گونه های فعال اکسیژن (ROS) آسیب ببینند این افزایش در سطوح ROS ممکن است موجب القاء تخریب برگشت ناپذیر DNA شود [۳۲]. ROS در افزایش نفوذپذیری غشاء سلولی در سلول های اندوتلیال نقش ایفا می کند [۳۳]. جدیداً گزارش شده است که نانو ذرات مرکب اکسید آهن/کبالت می توانند آپوپتوزیز سلولی را در رده سلولی سرطانی کبد انسانی (HepG2) از طریق تولید ROS القاء کنند [۳۴]. Choi و همکاران دریافتند که بعد از ورود نانوذرات مگنتیت به سلول های سرطانی ریه (A549) تولید ROS به طور چشمگیری افزایش می یابد [۳۵]. Aroui و همکاران در مطالعات خود پی بردند که Dox جفت شده با پپتیدهای نفوذکننده به سلول (cpp)، توزیع داخل سلولی متفاوتی در مقایسه با Dox آزاد دارد، در این توزیع، Dox در

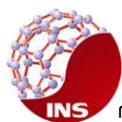
هسته شناسایی نشد. با این وجود این کانژوگه ها برای لاین سلولی سرطان سینه (MDA-MB231) سمی بودند. این مطالعه نشان می دهد که میزان تولید ROS بعد از تیمار با مولکول های کانژوگه Dox-cpp به اندازه کافی بالا می رود تا آپوپتوزیز را القاء کند [۳۶].

۵- نتیجه گیری

طبق مطالعات و نتایج بدست آمده در این مقاله می توان نتیجه گرفت که هدفمند کردن نانوذرات مغناطیسی اکسید آهن با لیگاندهای مولکولی مختلف و نیز همراه شدن این نانو ذرات با پوشش های پلی مری مختلف موجب جذب و به دام اندازی داروی دوکسوروبیسین در سطح این نانو ذرات شده و نیز موجب تمرکز و انتقال بالای این دارو به سلول های سرطانی می شود [۷، ۳۷]. همچنین پایداری و زیست سازگاری نانوذرات را بالا برده و مانع از تجمع یا لخته شدن ذرات می شود. نانوذرات مغناطیسی اکسید آهن به تنهایی اثر سمی بر روی سلول های سرطانی ندارند اما در حالت بارگیری شده با دوکسوروبیسین، مرگ سلولی را در مقایسه با دوکسوروبیسین آزاد به میزان بالاتری القاء می کنند [۳۸]. نتیجتاً می توان از این نانوذرات برای بهبود تأثیر و کاهش اثرات سمی دارو پس از تکمیل این آزمایش ها در شرایط محیط زنده استفاده کرد. احتمال می رود که توزیع و میانکنش داخل سلولی داروی Dox در حالت آزاد و بارگذاری شده بر روی نانوذرات اکسید آهن متفاوت است و نانوذرات بارگیری شده با Dox از طریق تقویت تولید ROS یا مکانیسم های ناشناخته دیگر نقش مهمی را در ایجاد سمیت سلولی بالا دارند [۳۹]. به طور کلی می توان نتیجه گرفت که با قرار دادن پوشش ها و گروه های عاملی مختلف بر روی نانوذرات مغناطیسی می توان آنها را در زمینه های مختلف مانند دارورسانی، از بین بردن سلول های سرطانی، و دیگر زمینه های پزشکی و زیست شناسی به کار برد [۴۰]. مطالعه حاضر پتانسیل نانوذرات اکسید آهن را در طراحی نانوحامل های مغناطیسی جدید و هدفمند کردن آنها با دیگر مولکول ها برای انتقال دارو و شیمی درمانی سرطان نشان می دهد.

۶- منابع

1. Xing M, Yan F, Yu S and Shen P. Efficacy and cardiotoxicity of liposomal doxorubicin-based chemotherapy in advanced breast cancer: a meta-analysis of ten randomized controlled trials. *PLoS one*, 10(7): e0133569, 2015.
2. Kibria G, Hatakeyama H, Sato Y and Harashima H. Anti-Tumor Effect via Passive Anti-angiogenesis of PEGylated Liposomes Encapsulating Doxorubicin in Drug Resistant Tumors. *International journal of pharmaceutics*, 2016.
3. Leonard R.C, Williams S, Tulpule A, Levine A.M, Oliveros S. Improving the therapeutic index of



13. Galluzzi L, Kroemer G. A four-lane highway to cancer. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2016.
14. Jain T.K, Richey J, Strand M, Leslie-Pelecky D.L, Flask C.A, Labhasetwar V. Magnetic nanoparticles with dual functional properties: Drug delivery and magnetic resonance imaging. *Biomaterials*. 29: 4012-4021, 2008.
15. Zuccala E. Chemotherapy: Clocking up resistance. *Nature Reviews Cancer*, 2016.
16. Wicki A, Witzigmann D, Balasubramanian V, Huwyler J. Nanomedicine in cancer therapy: challenges, opportunities, and clinical applications. *Journal of Controlled Release*, 200:138-157, 2015.
17. Xu R, Zhang G, Mai J, Deng X, Segura-Ibarra V, Wu S, Shen J, Liu H, Hu Z, Chen L and Huang Y. An injectable nanoparticle generator enhances delivery of cancer therapeutics. *Nature biotechnology*, 2016.
18. Benyettou F, Flores O, Alonso J, Ravoux F, Rezgui R, Jouiad M, Nehme SI, Parsapur RK, Olsen JC, Selvam P, Trabolsi A. Mesoporous γ -Iron Oxide Nanoparticles for Magnetically Triggered Release of Doxorubicin and Hyperthermia Treatment. *Chemistry-A European Journal*. 14;22(47):17020-8, 2016.
19. Mosafer J, Abnous K, Tafaghodi M, Mokhtarzadeh A, Ramezani M. In vitro and in vivo evaluation of anti-nucleolin-targeted magnetic PLGA nanoparticles loaded with doxorubicin as a theranostic agent for enhanced targeted cancer imaging and therapy. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 30;113:60-74, 2017.
20. Gupta A.K, Wells S. Surface-modified superparamagnetic nanoparticles for drug delivery: preparation, characterization, and cytotoxicity studies. *IEEE transactions on nanobioscience*. 3: 66-73, 2004.
21. Aljarrah K, Mhaidat N.M, Al-Akhras M.A, Aldaher A.N, Albiss B, Aledealat K, Alsheyab F.M. Magnetic nanoparticles sensitize MCF-7 breast cancer cells to doxorubicin-induced apoptosis. *World Journal of Surgical Oncology*. 10: 62, 2012.
- anthracycline chemotherapy: focus on liposomal doxorubicin (Myocet). *Breast*, 18: 218-224, 2009.
4. Lühmann T, Meinel L. Nanotransporters for drug delivery. *Current opinion in biotechnology*, 39: 35-40, 2016.
5. Shevtsov M.A, Multhoff G. Recent developments of magnetic nanoparticles for theranostics of brain tumor. *Current drug metabolism*, 2016.
6. Cole A.J, Yang V.C, David A.E. Cancer theranostics: the rise of targeted magnetic nanoparticles. *Trends in biotechnology*. 29: 323-332, 2011.
7. Ghanbari M, Asadi A, Rostamzadeh S. Study of the Cytotoxicity Effect of Doxorubicin-loaded/Folic acid-Targeted Super Paramagnetic Iron Oxide Nanoparticles on AGS Cancer Cell Line. *J Nanomed Nanotechnol*, 7(368):2, 2016.
8. Hajba L, Guttman A. The use of magnetic nanoparticles in cancer theranostics: Toward handheld diagnostic devices. *Biotechnology advances*, 34(4): 354-361, 2016.
9. Masoudi A, Madaah Hosseini H.R, Seyed Reyhani S.M, Shokrgozar M.A, Oghabian M.A, Ahmadi R. Long-term investigation on the phase stability, magnetic behavior, toxicity, and MRI characteristics of superparamagnetic Fe/Fe-oxide core/shell nanoparticles. *International Journal of Pharmaceutics*. 439: 28-40, 2012.
10. McBain S.C, Yiu H.H, Dobson J. Magnetic nanoparticles for gene and drug delivery. *International Journal of Nanomedicine*. 3: 169-180, 2008.
11. Heidari Majd M, Asgari D, Barar J, Valizadeh H, Kafil V, Abadpour A, Moumivand E, Mojarad J.S, Rashidi M.R, Coukos G, Omid, Y. Tamoxifen loaded folic acid armed PEGylated magnetic nanoparticles for targeted imaging and therapy of cancer. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 106: 117-125, 2013.
12. Cohen Y, Shoushan S.Y. Magnetic nanoparticles-based diagnostics and theranostics. *Current Opinion in Biotechnology*. 24: 672-681, 2013.

- pharmacologic developments in antitumor activity and cardiotoxicity. *Pharmacological Reviews*. 56: 185-229, 2004.
31. Mhaidat N.M, Alali F.Q, Matalqah S.M, Matalka II, Jaradat S.A, Al-Sawalha N.A, Thorne R.F. Inhibition of MEK sensitizes paclitaxel-induced apoptosis of human colorectal cancer cells by downregulation of GRP78. *Anticancer Drugs*. 20: 601-606, 2009.
 32. Larochelle S. Oxidative damage: A pathway to stress. *Nature chemical biology*, 12(2), pp.53-53, 2016.
 33. Apopa P.L, Qian Y, Shao R, Guo N.L, Schwegler-Berry D, Pacurari M, Porter D, Shi X, Vallyathan V, Castranova V, Flynn D.C. Iron oxide nanoparticles induce human microvascular endothelial cell permeability through reactive oxygen species production and microtubule remodeling. *Particle and Fibre Toxicology*. 6: 1, 2009.
 34. Ahamed M, Akhtar M.J, Khan M.M, Alhadlaq H.A and Alshamsan A. Cobalt iron oxide nanoparticles induce cytotoxicity and regulate the apoptotic genes through ROS in human liver cells (HepG2). *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 148: 665-673, 2016.
 35. Choi S.J, Oh J.M, Choy J.H. Toxicological effects of inorganic nanoparticles on human lung cancer A549 cells. *Journal of Inorganic Biochemistry*. 103: 463-471, 2009.
 36. Aroui S, Brahim S, De Waard M, Breard J, Kenani A. Efficient induction of apoptosis by doxorubicin coupled to cell-penetrating peptides compared to unconjugated doxorubicin in the human breast cancer cell line MDA-MB 231. *Cancer Letters*. 285: 28-38, 2009a.
 37. Netto C, Toma H.E, Andrade L.H. Superparamagnetic nanoparticles as versatile carriers and supporting materials for enzymes. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*. 86: 71-92, 2012.
 38. Yang Y, Guo Q, Peng J, Su J, Lu X, Zhao Y and Qian Z. Doxorubicin-Conjugated Heparin-Coated Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles for Combined Anticancer Drug Delivery and Magnetic Resonance Imaging. *Journal of*
 22. Gonzales M, Mitsumori L.M, Kushleika J.V, Rosenfeld M.E, Krishnan K.M. Cytotoxicity of iron oxide nanoparticles made from the thermal decomposition of organometallics and aqueous phase transfer with Pluronic F127. *Contrast Media and Molecular Imaging*. 5: 286-293, 2010.
 23. Yang X, Chen L, Han B, Yang X, Duan H. Preparation of magnetite and tumor dual-targeting hollow polymer microspheres with pH-sensitivity for anticancer drug-carriers. *Polymer*. 51: 2533-2539, 2010.
 24. Munnier E, Cohen-Jonathan S, Linassier C, Douziech-Eyrolles L, Marchais H, Souce M, Herve K, Dubois P, Chourpa I. Novel method of doxorubicin-SPION reversible association for magnetic drug targeting. *International Journal of Pharmaceutics*. 363: 170-176, 2008.
 25. Munnier E, Cohen-Jonathan S, Herve' K, Linassier C, Souce' M, Dubois P, Chourpa I. Doxorubicin delivered to MCF-7 cancer cells by superparamagnetic iron oxide nanoparticles: effects on subcellular distribution and cytotoxicity. *Journal of Nanoparticle Research*. 13: 959-971, 2011.
 26. Naqvi S, Samim M, Abdin M, Ahmed F.J, Maitra A, Prashant C, Dinda A.K. Concentration-dependent toxicity of iron oxide nanoparticles mediated by increased oxidative stress. *International Journal of Nanomedicine*. 5: 983-989, 2010.
 27. Kayal S, Ramanujan R.V. Doxorubicin loaded PVA coated iron oxide nanoparticles for targeted drug delivery. *Materials Science and Engineering: C*. 30: 484-490, 2010.
 28. Shen F, Chu S, Bence A.K, Bailey B, Xue X, Erickson P.A. Quantitation of doxorubicin uptake, efflux, and modulation of multidrug resistance (MDR) in MDR human cancer cells. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 324:95-102, 2008.
 29. Shen Y, Tang H, Zhan Y, Van Kirk E.A, Murdoch W.J. Degradable Poly(beta-amino ester) nanoparticles for cancer cytoplasmic drug delivery. *Nanomedicine : nanotechnology, biology, and medicine*. 5: 192-201, 2009.
 30. Minotti G, Menna P, Salvatorelli E, Cairo G, Gianni L. Anthracyclines: molecular advances and



14. Thermogravimetric analyzer
 15. Multidrug resistance
 16. P-glycoprotein
 17. Physical stress
 18. Unfolded protein response (UPR)
 19. Endoplasmic reticulum stress
39. Mallick N, Anwar M, Asfer M, Mehdi S.H, Rizvi M.M.A, Panda A.K, Talegaonkar S and Ahmad F.J. Chondroitin sulfate-capped superparamagnetic iron oxide nanoparticles as potential carriers of doxorubicin hydrochloride. Carbohydrate Polymers, 2016.
 40. Wei H, Bruns O.T, Chen O and Bawendi M.G. NANOPARTICLES FOR MAGNETIC RESONANCE IMAGING APPLICATIONS. Massachusetts Institute of Technology, U.S. Patent 20,160,074,538, 2016.
 41. Xu C, Sun S. New forms of superparamagnetic nanoparticles for biomedical applications. Advanced Drug Delivery Reviews. 65: 732-743, 2012.
 42. Mahmoudi M, Simchi A, Imani M, Shokrgozar M.A, Milani A.S, Hafeli U.O, Stroeve P .A new approach for the in vitro identification of the cytotoxicity of superparamagnetic iron oxide nanoparticles. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. 75: 300-309, 2010.
 43. Kearney A.S. Prodrugs and targeted drug delivery. Advanced Drug Delivery Reviews. 19: 225-239, 1996.
 44. Gautier J, Allard-Vannier E, Munnier E, Souc M, Chourpa I. Recent advances in theranostic nanocarriers of doxorubicin based on iron oxide and gold nanoparticles. Journal of Controlled Release. 169: 48-61, 2013.

۷- پی نوشت

1. Doxorubicin= (Dox)
2. Poly(N,N0-methylenebisacrylamide-co-methacrylic acid)= P(MBAAm-co-MAA)
3. Poly(methacrylic acid) /poly(N,N0-methylenebisacrylamide-co-methacrylic acid)= PMAA/P(MBAAm-co-MAA)
4. Poly(methacrylic acid)= PMAA
5. Magnetic remanence
6. Confocal spectral imaging
7. Murine macrophage (J774) cells
8. Necrosis-apoptosis assay
9. Propidium iodide
10. Hoechst-33342 staining
11. H2DCFDDA assay
12. Reactive oxygen species (ROS)
13. Magnetic drug targeting