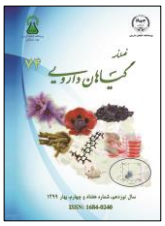
پژوهشکده گیاهان دارویی
جهاد دانشگاهی

فصلنامه گیاهان دارویی

Journal homepage: www.jmp.ir



مقاله تحقیقاتی

# ساخت سامانه نانولیپوزومی حاوی اسانس گیاه دارویی مشگک با دو روش سونیکاسیون و فیلتراسیون

**شهرزاد سالاری[۱،*]، مهرداد شمس‌الدینی[۲]**

[۱] بیوتکنولوژی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

[۲] موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، کرمان، ایران

**اطلاعات مقاله**

*گل‌واژگان:*
اسانس
کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی
مشگک
نانولیپوزوم

**چکیده**

**مقدمه:** گیاه مشگک (*Ducrosia anethifolia* (DC.) Boiss.) بومی ایران بوده و اسانس آن دارای خاصیت ضدسرطانی می‌باشد. **هدف:** اسانس‌ها به علت عدم پایداری کاربرد محدودی دارند. در این پژوهش ساخت نانولیپوزوم حاوی اسانس مشگک با فراوانی و توزیع اندازه مناسب به منظور افزایش پایداری اسانس برای استفاده در سامانه‌های دارورسانی مورد بررسی قرار گرفت. **روش بررسی:** با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی ترکیبات اسانس شناسایی شد و با روش آب پوشانی لایه نازک چربی لیپوزوم‌ها ساخته شدند. نانولیپوزوم‌ها با دو روش و فیلتراسیون و سونیکاسیون با دو ضریب مولی ۳:۲ و ۷:۳ و با نسبت ۳:۱ V/V اسانس به فاز چربی ساخته شدند. **نتایج:** نتایج نشان داد که سایز نانوذرات ساخته شده با ضریب مولی ۳:۲ با روش فیلتراسیون ۲۶۹/۸ نانومتر با فراوانی ۱۰۰ درصد و PDI ۰/۵۰۷ با محصورسازی ۳۴ درصد و با روش سونیکاسیون ۳۹/۴۹ و ۳۵۴/۴ نانومتر با فراوانی ۸۰/۷ به ۱۹/۳ درصد و PDI ۰/۸۵۶ با محصورسازی ۳۸ درصد به دست آمد. سایز ضریب مولی ۷:۳ با روش فیلتراسیون ۳۵۸/۹ نانومتر با فراوانی ۱۰۰ درصد و PDI ۰/۲۸۶ با محصورسازی ۴۳/۵ درصد و با روش سونیکاسیون ۲۲۴/۴ و ۵۳۳۰ نانومتر با فراوانی ۹۳ به ۷ درصد و PDI ۰/۲۲۹ با محصورسازی ۴۶ درصد به دست آمد. **نتیجه‌گیری:** نتایج نشان‌دهنده این مطلب مهم است که نانولیپوزوم‌های ساخته شده با روش سونیکاسیون نسبت به فیلتراسیون دارای اندازه ذرات کوچکتری جهت استفاده در سیستم نانوحامل‌های لیپوزومی بودند و ضریب مولی ۷:۳ نسبت به ۳:۲ از کارایی محصورسازی بیشتری برخوردار بود.

## ۱. مقدمه

گیاه مشگک (*Ducrosia anethifolia* (DC.) Boiss.)، گیاه دارویی از خانواده چتریان است که بومی ایران بوده و در طب سنتی به عنوان داروی سردرد و کمر درد استفاده می‌شود و ترکیب شیمیایی اسانس آن و داشتن اثر سایتوتوکسیک آن مورد بررسی قرار گرفته و تأیید شده است [۱]. داروهای

*مخففها:* PDI، شاخص پراکندگی ذرات؛ SEM، میکروسکوپ الکترونی روبشی.

* نویسنده مسؤول: az.sci2014@gmail.com; tajik@uk.ac.ir

**تاریخ دریافت:** ۱۶ آبان ۱۳۹۷؛ **تاریخ دریافت اصلاحات:** ۲۹ دی ۱۳۹۷؛ **تاریخ پذیرش:** ۹ اردیبهشت ۱۳۹۸

doi: 10.29252/jmp.19.74.229

© 2020. Open access. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)

گیاهی در مقایسه با داروهای شیمیایی دارای عوارض کمتری می‌باشند و اسانس‌های گیاهی هم خواص درمانی و مواد مؤثر درمانی آن گیاه را شامل می‌شوند به علت فراریت و عدم پایداری و حلالیت کم و اکسید شدن کاربرد محدودی دارند درنتیجه به منظور کنترل بهتر عوامل خارجی مؤثر در پایداری، ماندگاری و حفظ خواص مفید اسانس‌های و درک درست اثرات تدریجی این ترکیبات، از تکنیک‌های جدیدی مانند انکپسولاسیون استفاده می‌شود [۲]. اسانس‌ها که روغن‌های ضروری یا روغن‌های فرار نیز نامیده می‌شوند، روغن‌های مایع معطری هستند که از اجزای گیاه و توسط روش‌های مانند تخمیر و تقطیر به دست می‌آیند [۳]. از خواص روغن‌های فرار و ترکیبات آنها در ساخت ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروبی و نگهدارنده استفاده می‌شود [۴]. لیپوزوم به یک وزیکول میکروسکوپی شامل دولایه‌ی فسفولیپیدی گفته می‌شود که یک فضای مائی را احاطه می‌کند. ضخامت این لیپید دولایه به طور معمول بین ۳ تا ۶ نانومتر می‌باشد و لیپوزوم‌های تشکیل شده از آنها می‌توانند قطری بین ۵۰ نانومتر تا ۵۰ میکرومتر داشته باشند. لیپوزوم‌ها به دلیل خصوصیات آمفی‌پاتیک (دوگانه دوست) عناصر سازنده آن، امکان دارورسانی هم داروهای هیدروفیل و هیدروفوب را فراهم می‌کنند [۶، ۵]. لیپوزوم‌ها دارای کاربردهای وسیعی در پزشکی می‌باشند. اما مهم‌ترین کاربردهای آنها به عنوان حامل‌های دارویی در سیستم‌های نوین دارورسانی می‌باشد. برخی از دلایل اصلی که اساس کاربردهای وسیع لیپوزوم‌ها را در پژوهش‌های درمانی و زیستی پی‌ریزی کرده است شامل:

۱- تشابه ساختمان‌های دولایه‌ی لیپوزوم با غشای سلول و توانایی محدودسازی مواد آب‌گریز و آب دوست بوسیله‌ی آنها است [۷].

۲- لیپوزوم‌ها زیست تجزیه‌پذیر هستند و ایمونوژنیسیته نیستند و در تصویربرداری تشخیصی تومورها مورد استفاده قرار می‌گیرند، لیپوزوم‌ها می‌توانند داروها را به محل موردنظر در بدن برسانند و نیز مانع از رسیدن دارو به قسمت‌های حساسی از بدن مانند کبد و کلیه‌ها شوند [۸].

۳- لیپوزوم‌ها می‌توانند به عنوان منبع ذخیره عمل کنند و ماده‌ی به دام افتاده درون‌شان را به آرامی و طی زمان مشخص آزاد نمایند، بدین‌طریق در بازه‌ی زمانی معین، میزان دوز دارو را در جریان خون کنترل کنند [۹].

۴- حفاظت داروهایی که درون لیپوزوم‌ها جاسازی شده‌اند بویژه آنهایی که در قسمت آبی درونی به دام افتاده‌اند در برابر فاکتورهای مضری که در بدن میزبان وجود دارد [۱۰].

۵- لیپوزوم‌ها می‌توانند با تأثیرهایی که به شیوه‌های مختلف روی سلول‌های هدف دارند به ورود داروهایی که در حالت آزاد قادر نیستند به سلول داخل شوند، کمک کنند [۱۱].

۶- لیپوزوم‌ها با حمل داروهای هیدروفیل و هیدروفوب باعث افزایش اثر دارو می‌شوند [۱۲].

نانولیپوزوم‌ها ساختارهای وزیکولی بسته هستند که از لایه های لیپیدی دوگانه دوست تشکیل شده‌اند و بسته به تعداد لایه‌های لیپیدی به دو گروه تک لایه و چندلایه تقسیم می شوند [۱۳]. روش‌های سنتز لیپوزوم‌ها به دو روش انجام می‌گیرد، در روش اول تهیه فیلم نازک لیپیدی و سپس هیدراته کردن این فیلم با اضافه کردن بافر آبی انجام می‌شود و در این روش که بیشتر برای ساخت لیپوزوم مورد استفاده قرار می‌گیرد، لیپوزوم‌های بزرگ چند لایه تشکیل می‌شود، برای کوچک کردن و یکنواخت کردن آنها نیاز به استفاده از هموژنایزر یا التراسوند یا انجماد و گرم کردن می‌باشد. اما روش دوم که از طریق تزریق مستقیم حلال انجام می‌شود. در این روش محلول فسفولیپیدی حل شده در حلال آلی به طور مستقیم در بافر آبی تزریق می‌شود. به دلیل ورود مقدار کم لیپید در فاز آبی، معمولاً لیپوزوم‌های تک لایه و کوچک ساخته می‌شود و به روش‌های اضافی مانند هموژنایزر برای کاهش سایز و یکنواختی نیاز ندارد. این روش‌ها نیازمند یک فرایند بعدی مانند خلاء یا دیالیز برای حذف حلال آلی می‌باشند [۱۴].

با توجه به کاربردهای درمانی زیاد گیاه مشگک بومی استان کرمان و با توجه به این موضوع که اسانس‌های گیاهی به علت عدم پایداری و اکسید شدن کاربرد محدودی دارند و مزایای ساخت نانولیپوزوم که ذکر شد، در این پژوهش ساخت و بسته‌بندی نانوذرات لیپوزومی حاوی اسانس مشگک به روش آب‌پوشانی لایه نازک چربی صورت گرفت و ساخت نانولیپوزوم حاوی اسانس مشگک با سایز، فراوانی و توزیع اندازه مناسب به منظور افزایش پایداری اسانس برای استفاده در سامانه‌های داروررسانی مورد بررسی قرار گرفت.

## ۲. مواد و روش‌ها

مواد فسفولیپید ال آلفا فسفاتیدیل اتانول آمین دی اولئیل (L-α-Phosphatidylethanolamine, dioleoyl) و کلسترول همی سوکسینات (Cholesteryl hemisuccinate) از شرکت سیگما آلدریچ (Sigma, USA) تهیه شد و کلروفرم از شرکت مرک (Merck, Germany) تهیه شد، فیلتر ۰/۴۵ و ۰/۲۲ PTFE و بقیه مواد مورد استفاده در این پژوهش دارای گرید آنالیتیکال بوده و از شرکت مرک تهیه شدند.

### ۱.۲. *استخراج اسانس مشگک*

برای استخراج اسانس مشگک ابتدا برگ گیاه مشگک خشک شده، کاملاً آسیاب شده و با استفاده از روش تقطیر با آب و با استفاده از دستگاه کلونجر اسانس روغنی و فرار آن استخراج شد. سپس اسانس گرفته شده درظرف شیشه‌ای تیره و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و دور از نور خورشید تا زمان شناسایی و تعیین ترکیبات آن نگهداری شد.

### ۲.۲. *بررسی انحلال‌پذیری و پایداری دمایی اسانس مشگک*

با استفاده از دستگاه بن ماری و در دمای ۴۱ درجه سانتی‌گراد انجام شد. ابتدا حجم ۱ میلی‌لیتر از اسانس مشگک در لوله فالکون ۱۵ میلی‌لیتر، ریخته شد و سپس حجم ۵ میلی‌لیتر از آب مقطر به آن اضافه شد و بعد از گذشت ۱/۵ ساعت، انحلال‌پذیری و پایداری دمایی اسانس مشگک بررسی شد.

### ۳.۲. *تهیه محلول بافر PBS*

برای تهیه محلول بافر PBS با pH برابر ۷/۴ ابتدا ۲ محلول ساخته شد. در ساخت محلول اول، ۹/۰۷۰۳ گرم از $KH_2PO_4$ با ۵/۱ گرم از NaCl مخلوط شد و به حجم ۱ لیتر رسید و محلول دوم با استفاده از مخلوط، ۱۱/۸۷گرم $Na_2HPO_4.2H_2O$ با ۵/۵ گرم از NaCl و رسیدن به حجم ۱ لیتر ساخته شد. سپس ۱۹/۷ میلی‌لیتر از محلول اول با ۸۰/۳ میلی‌لیتر از محلول دوم ترکیب شد و درنهایت ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول بافری ساخته شده در ظرف شیشه‌ای اتوکلاو شد و در یخچال نگهداری شد.

### ۴.۲. *آنالیز و بررسی ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس مشگک با استفاده از کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی*

ابتدا نمونه‌ای از اسانس آماده‌سازی شد و به دستگاه کروماتوگرافی گازی شرکت Agilent Technologies آمریکا مدل CP 3800 GC with Split/Splitless Inlet با مشخصات دتکتور Flame Ionization Detector (FID) و مشخصات ستون CP-SIL 5CB طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۱ میلی‌متر و ضخامت داخلی ۰/۳۲ میکرومتر تزریق شده و مناسب‌ترین برنامه دمایی ستون برای جداسازی ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس مشگک به دست آمد. همچنین درصد ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس مشگک و شاخص بازداری هر ترکیب محاسبه شد. سپس اسانس مشگک به دستگاه گاز کروماتوگرافی متصل به طیف‌سنج جرمی هم تزریق شده و طیف جرمی ترکیبات اسانس به دست آمد. شناسایی ترکیب‌های اسانس با استفاده از شاخص بازداری و بررسی طیف‌های جرمی هر یک از اجزای تشکیل‌دهنده اسانس و مقایسه آنها با طیف‌های مرجع انجام شد. در این پژوهش دستگاه گاز کروماتوگرافی جرمی از نوع شرکت Agilent

Technologies آمریکا مدل Varian Saturn 2000 با مشخصات دتکتور GC/MS/MS و Mass range from 10 to 650 amu و مجهز به منبع یونش EI و مجهز به منبع کتابخانه‌ای NIST MS Library V.2.0.1 با مشخصات ستون HP-5MS، طول ۵۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت داخلی ۰/۲۵ میکرومتر مورد استفاده قرار گرفت و نمودار جذب برای هر یک از ترکیبات رسم شد.

*۵.۲. ساخت نانولیپوزوم حاوی اسانس مشگک*

از روش آب‌پوشانی لایه نازک چربی [۱۵] برای ساخت نانولیپوزوم‌های حاوی اسانس استفاده شد. فاز چربی شامل ال آلفا فسفاتیدیل اتانول آمین دی اولئیل و کلسترول همی سوکسینات با ضرایب مولی ۳:۲ و ۷:۳ و با نسبت ۳:۱ حجمی به حجمی (V/V) اسانس مشگک به فاز چربی در کلروفرم به خوبی حل شدند. سپس حلال در دستگاه روتاری اواپوراتور متصل به سیستم خلاء تحت دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد و دور ۱۸۰ rpm تبخیر شده و لایه نازک چربی ایجاد شد. سپس به منظور حذف کامل حلال، حباب به مدت ۴ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. برای آب پوشانی از بافر استریل PBS در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد و دور ۱۸۰ rpm و زمان ۱ ساعت استفاده شد و نانولیپوزوم‌های ساخته شده حاوی اسانس با استفاده از سانتریفیوژ با دور ۱۰۰۰۰ و زمان ۱۰ دقیقه از اسانس آزاد جدا شدند. برای کوچک کردن پارتیکل‌های ساخته شده از دو روش سونیکاسیون و فیلتراسیون استفاده شد که برای این منظور از فیلترهای با اندازه منافذ ۰/۴۵ و ۰/۲۲ میکرون و از دستگاه پروب سونیکاسیون طی ۵ سیکل ۲ دقیقه‌ای استفاده شد.

*۶.۲. اندازه‌گیری سایز و توزیع نانولیپوزوم‌های حاوی اسانس مشگک*

با استفاده از دستگاه نانو سایزر DLS, Nano Sizer, instrument با زاویه پراکنش ۹۰ درجه و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، اندازه‌گیری سایز و شاخص سایز و شاخص پراکندگی نانوحامل‌های لیپوزومی ساخته شده انجام شد.

*۷.۲. بررسی موفولوژی*

با استفاده از دستگاه میکروسکوپ الکترونی روبشی ساخت شرکت KYKY و مدل EM3200، از نانولیپوزوم‌های تولید شده حاوی اسانس تصویر گرفته شد، بدین‌منظور ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه نانولیپوزومی حاوی اسانس روی لام خشک شد و بررسی شکل و ساختار نانولیپوزوم‌های تولید شده، انجام شد.

*۸.۲. اندازه‌گیری کارایی محصورسازی*

با استفاده از اتانول به نسبت ۱ به ۲۰ دیواره نانولیپوزوم را شکسته و اسانس محصور شده، آزاد شد و از طریق مقایسه منحنی جذب اسانس اولیه و اسانس آزاد شده با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر مقدار اسانس بارگذاری شده، تعیین و کارایی محصورسازی محاسبه شد.

## ۳. نتایج

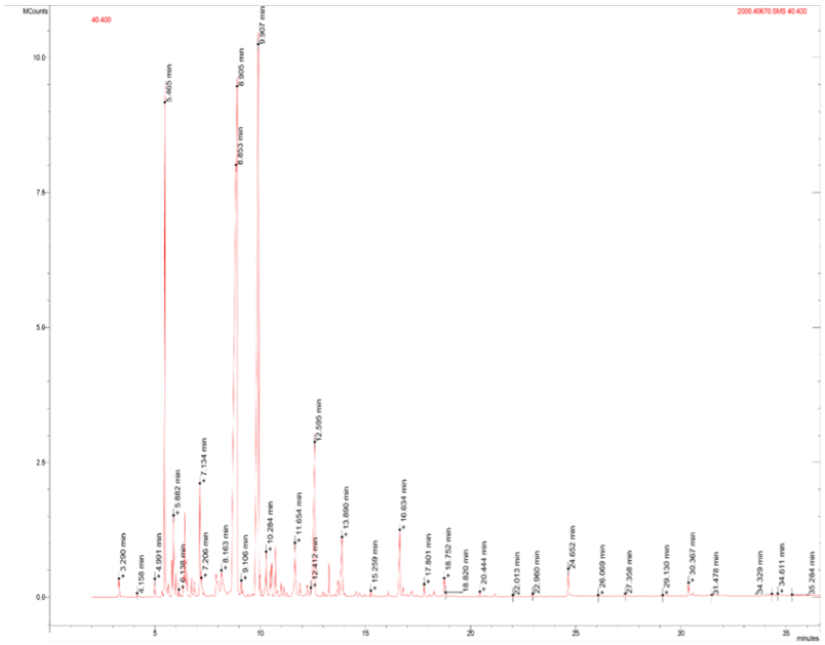
*۱.۳. نتایج آنالیز ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس مشگک با استفاده از کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی*

شکل ۱ ترکیبات اساسی تشکیل‌دهنده اسانس مشگک را از لحاظ دارا بودن بیشترین درصد با استفاده از کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی نشان می‌دهد.

بر اساس نتایج به دست آمده، مشاهده شد که بیشترین ترکیب تشکیل‌دهنده اسانس مشگک را ترکیب دکانال که جزء آلکان‌های اکسیژن‌دار می‌باشد و مقدار ۲۲/۲۹ درصد را تشکیل می‌دهد (جدول ۱).

*۲.۳. نتایج تست انحلال‌پذیری و پایداری دمایی اسانس مشگک*

نتایج آزمون انحلال‌پذیری و پایداری دمایی اسانس مشگک نشان داد که اسانس مشگک در آب محلول نبوده و بعد از گذشت ۱/۵ ساعت در دمای ۴۱ درجه سانتی‌گراد محلول نبوده و تبخیر نشد.



**شکل ۱.** آنالیز اسانس مشگک با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی

**جدول ۱.** بیشترین ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس مشگک بر اساس زمان بازداری کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی

| ردیف | ترکیب | درصد | زمان بازداری (دقیقه) |
|---|---|---|---|
| ۱ | دکانال | ۲۲/۲۹ | ۸/۸۵ |
| ۲ | دکانول | ۲۲/۱۸ | ۹/۹۰۶ |
| ۳ | دودکانول | ۱۱/۷۹ | ۸/۹۰۵ |

*۳.۳. نتایج تست انحلال‌پذیری و پایداری دمایی اسانس مشگک*

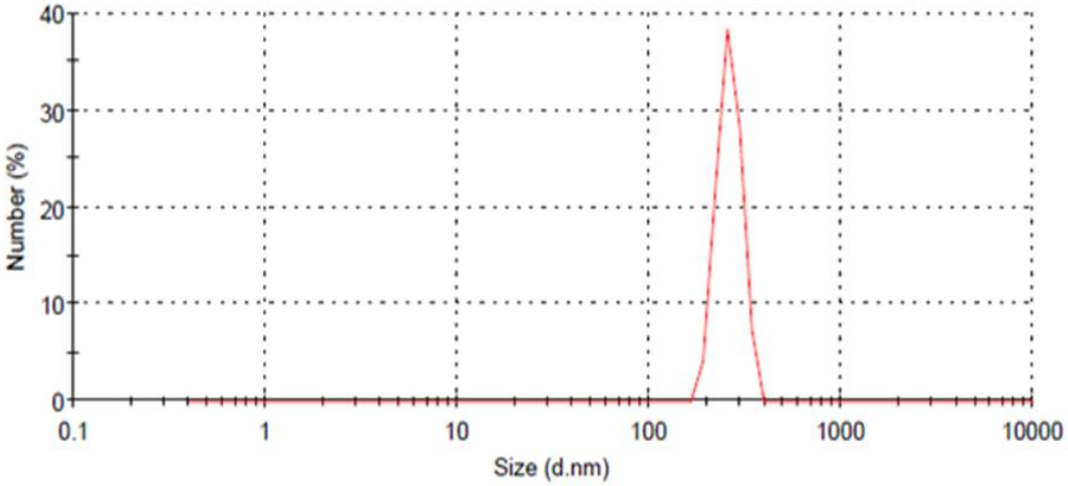
نتایج آزمون انحلال‌پذیری و پایداری دمایی اسانس مشگک نشان داد که اسانس مشگک در آب محلول نبوده و بعد از گذشت ۱/۵ ساعت در دمای ۴۱ درجه سانتی‌گراد محلول نبوده و تبخیر نشد.

*۴.۳. نتایج اندازه‌گیری سایز و توزیع و کارایی محصورسازی نانولیپوزوم های حاوی اسانس مشگک*

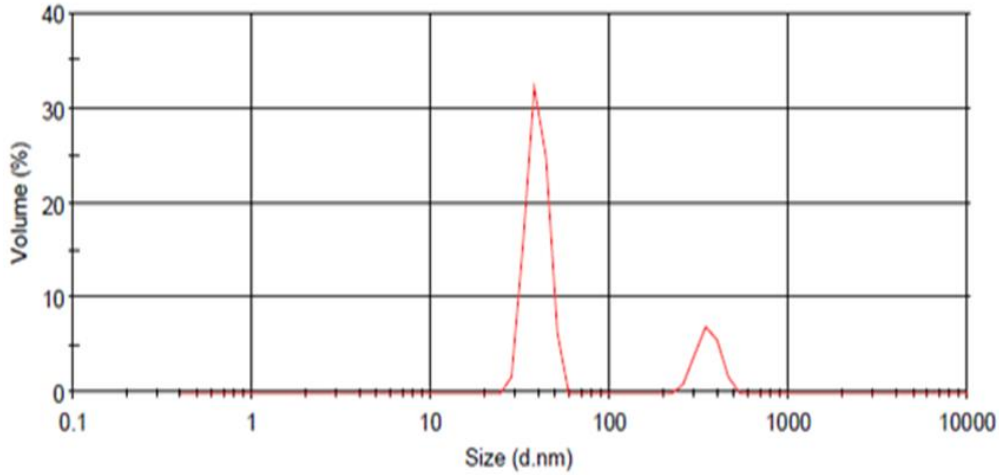
شکل‌های ۲ و ۳ نشان می‌دهد که سایز نانوذرات ساخته شده با ضریب مولی ۳:۲ و نسبت V/V ۳:۱ اسانس مشگک به فاز چربی ساخته با روش فیلتراسیون ۲۶۹/۸ نانومتر با فراوانی ۱۰۰ درصد و PDI ۰/۵۰۷ با کارایی محصورسازی ۳۴ درصد و سایز نانولیپوزوم‌های ساخته شده با ضریب مولی ۳:۲ و نسبت V/V ۳:۱ اسانس مشگک به فاز چربی با روش سونیکاسیون ۳۹/۴۹ و ۳۵۴/۴ نانومتر با فراوانی ۸۰/۷ به ۱۹/۳ درصد و PDI ۰/۸۵۶ با کارایی محصورسازی ۳۸ درصد به دست آمد.

شکل‌های ۴ و ۵ نشان می دهد که سایز نانولیپوزوم های ساخته شده با ضریب مولی ۷:۳ و نسبت V/V ۳:۱ اسانس مشگک به فاز چربی با روش فیلتراسیون ۳۵۸/۹ نانومتر با فراوانی ۱۰۰ درصد و PDI ۰/۲۸۶ با کارایی محصور سازی

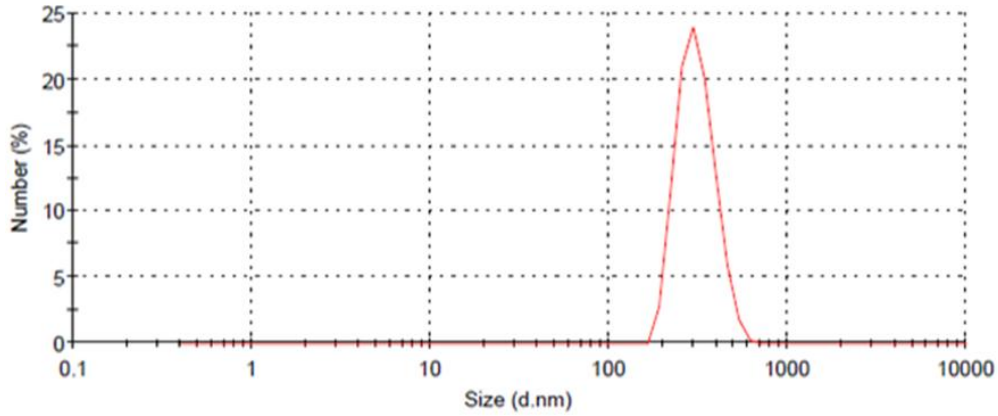
۴۳/۵ درصد و سایز نانولیپوزوم‌های ساخته شده با ضریب مولی ۷:۳ و نسبت V/V ۳:۱ اسانس مشگک به فاز چربی با روش سونیکاسیون ۲۲۴/۴ و ۵۳۳۰ نانومتر با فراوانی ۹۳ به ۷ درصد و PDI ۰/۲۲۹ با کارایی محصورسازی ۴۶ درصد به دست آمد که نشان‌دهنده این مطلب مهم هست که نانولیپوزوم‌های ساخته شده با روش سونیکاسیون نسبت به روش فیلتراسیون دارای اندازه ذرات کوچکتری جهت استفاده در سیستم نانوحامل‌های لیپوزومی می‌باشند و نانولیپوزوم‌های ساخته شده با ضریب مولی ۷:۳ و نسبت V/V ۳:۱ اسانس مشگک به فاز چربی نسبت به نانولیپوزوم‌های ساخته شده با ضریب مولی ۳:۲ و نسبت V/V ۳:۱ اسانس مشگک به فاز چربی از کارایی محصورسازی بیشتری برخوردار بودند.



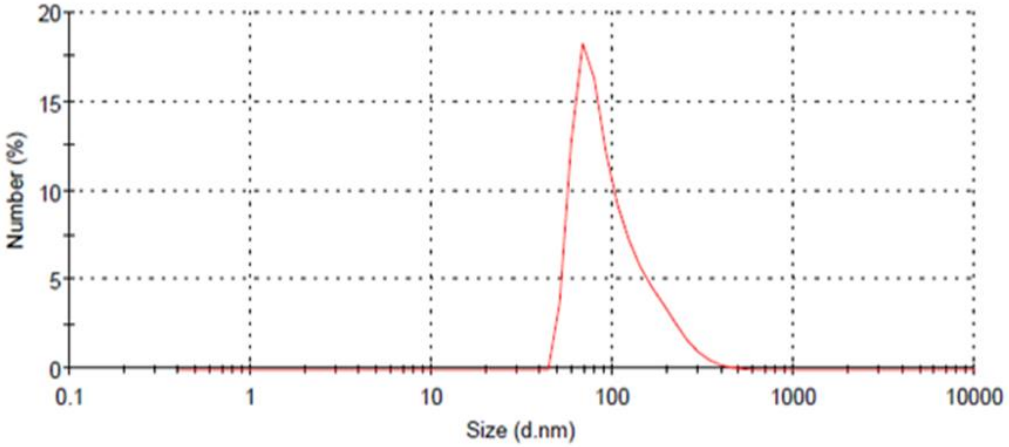

**شکل ۲.** سایز نانولیپوزوم‌های با ضریب مولی **۳:۲** و نسبت **V/V ۳:۱** اسانس مشگک به فاز چربی با روش فیلتراسیون



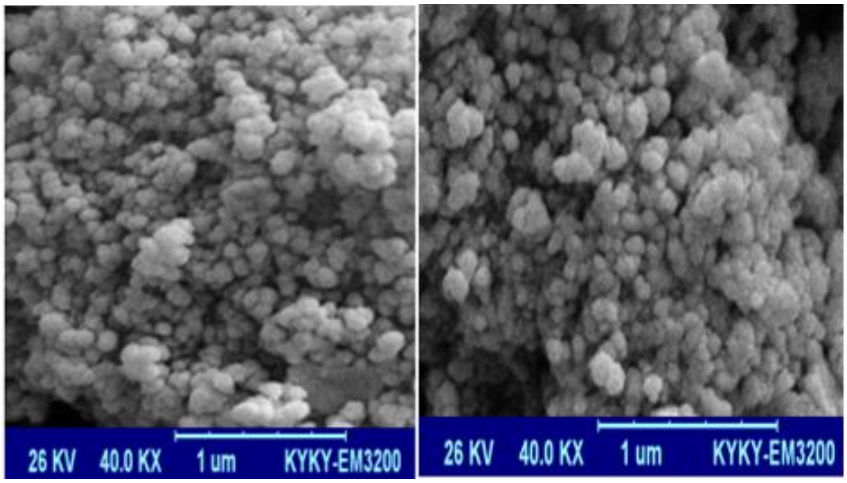

**شکل ۳.** سایز نانولیپوزوم‌های با ضریب مولی **۳:۲** و نسبت **V/V ۳:۱** اسانس مشگک به فاز چربی با روش سونیکاسیون



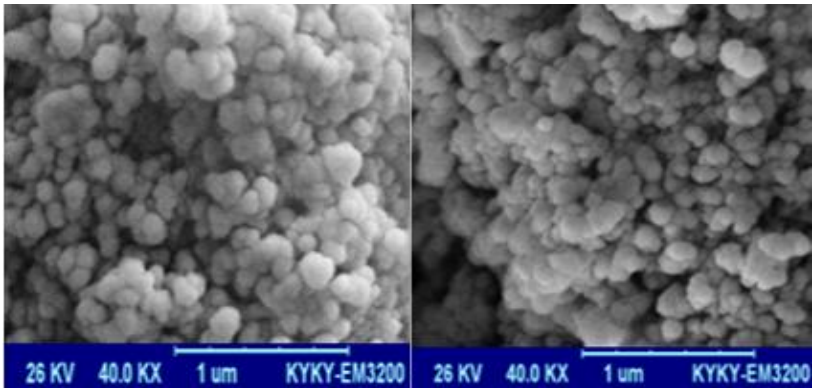

**شکل ۴.** سایز نانولیپوزوم‌های با ضریب مولی ۷:۳ و نسبت V/V ۳:۱ اسانس مشگک به فاز چربی با روش فیلتراسیون




**شکل ۵.** سایز نانولیپوزوم‌های با ضریب مولی ۷:۳ و نسبت V/V ۳:۱ اسانس مشگک به فاز چربی با روش سونیکاسیون




**شکل ۶.** تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی (**SEM**) نانولیپوزوم‌های با ضریب مولی **۳:۲** و نسبت **V/V ۳:۱** اسانس مشگک به فاز چربی. تصویر سمت راست با روش سونیکاسیون و تصویر سمت چپ با روش فیلتراسیون




**شکل ۷.** تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) نانولیپوزوم‌های با ضریب مولی ۷:۳ و نسبت V/V ۳:۱ اسانس مشگک به فاز چربی.

## ۴. بحث

اسانس‌ها یا روغن‌های فرار در دسته مواد مجاز توسط سازمان غذا و داروی آمریکا قرار می‌گیرند و در اتحادیه اروپا روغن‌های فرار در غلظتی کمتر از ۲ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن در هر روز به عنوان افزودنی مجاز و ایمن شناخته می‌شوند [۲]. استفاده از یک سیستم دارورسانی که بتواند این خواص ارزشمند درمانی را به طور مؤثر به سلول و بافت هدف برساند قطعاً کمک قابل توجهی به سیستم درمانی رایج خواهد نمود، از آنجا که دارو نقش درمانی دارد، باید تا رسیدن به محل هدف در بدن محافظت شود و خواص شیمیایی و بیولوژیکی خود را حفظ کند. برخی از داروها به شدت سمی بوده و می‌توانند سبب اثرات جانبی منفی شده و اگر حین آزاد شدن تخریب شوند، اثر درمانی آنها کاهش می‌یابد. به عنوان مثال، در شیمی درمانی داروهای مصرفی تا حد قابل توجهی سمی هستند و افزایش مقدار آنها می‌تواند اثر معکوس بگذارد و حتی به مرگ بیمار منجر شود. به بیان دیگر، اگر دارو بتواند مستقیماً به بافت هدف برسد و بر روی سایر قسمت‌های بدن تأثیر نگذارد، به مراتب مؤثرتر خواهد بود [۱۳]. در این پژوهش، آنالیز اسانس مشگک با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی انجام شد و بیشترین ترکیبات اسانس مشگک مقادیر ۲۲/۲۹، ۲۲/۱۸ و ۱۱/۷۹ درصد و با شاخص بازداری ۸/۸۵، ۹/۹۰۶ و ۸/۹۰۵ دقیقه به دست آمد. سپس نانولیپوزوم‌های حاوی اسانس مشگک که به عنوان یک نانوحامل با خاصیت دارویی است با استفاده از دو روش سونیکاسیون و فیلتراسیون و دو ضریب مولی ۳:۲ و ۷:۳ و با نسبت ۳:۱ حجمی به حجمی اسانس مشگک به فاز چربی، ساخته شدند که نتایج نشان داد که نانولیپوزوم‌های تهیه شده با روش سونیکاسیون نسبت به روش فیلتراسیون از میانگین اندازه ذرات کوچکتری جهت استفاده در سیستم نانوحامل‌های لیپوزومی برخوردار می‌باشند و نانولیپوزوم‌های ساخته شده با ضریب مولی ۷:۳ و نسبت V/V ۳:۱ اسانس مشگک به فاز چربی نسبت به نانولیپوزوم‌های ساخته شده با ضریب مولی ۳:۲ و نسبت V/V ۳:۱ اسانس مشگک به فاز چربی از کارایی محصورسازی مناسب‌تری نسبت به سایز را در مقایسه با پژوهش‌های پیشین در زمینه محصورسازی را دارا بودند. در سال ۲۰۱۴ تائو و همکاران توانستند نانوذرات بتا دکستران حاوی اسانس آویشن را با سایز ۳۲۰۰ نانومتر تهیه کنند و نانوذرات ساخته شده آگلومره نبودند و به علت سایز بزرگ کارایی محصورسازی ۸۰ درصد اسانس را داشتند [۱۶]. همچنین در این سال تریفکویک و همکاران نیز دانه‌های بزرگ کیتوزانی ۸۹۰ میکرومتر حاوی اسانس آویشن را به منظور بهبود خواص آنتی‌باکتریال با ۶۰ درصد محصورسازی اسانس، سنتز کردند [۱۷]. در سال ۲۰۱۳ حسینی و همکاران نیز توانستند نانو ذرات کیتوزانی حاوی اسانس پونه کوهی را با اندازه

۳۴۴ نانومتر تهیه کنند [۵]. کلیا و همکارانش نیز در سال ۲۰۱۳ توانستند نانوذرات لیپوزومی حاوی اسانس ترنج را برای غلبه بر حلالیت کم اسانس ترنج سنتز کنند [۱۸]. نتایج میکروسکوپ الکترونی روبشی نشان داد نانولیپوزوم‌ها دارای ساختار کروی و یکنواخت و همگن هستند و نانولیپوزوم‌های ساخته شده با روش سونیکاسیون دارای سایز کوچک‌تری نسبت به روش فیلتراسیون هستند.

## ۵. نتیجه‌گیری

نانولیپوزوم‌های ساخته شده می‌توانند در دارورسانی هدفمند مورد استفاده قرار گیرند و از آنجایی که داروهای گیاهی در مقایسه با داروهای شیمیایی از عوارض کمتری برخوردار می‌باشند، شناسایی یک سیستم دارورسانی نوین که بتواند جایگزین مناسبی برای سیستم‌های متداول درمانی شود، کمک قابل توجهی به علم پزشکی می‌کند. هدف این پژوهش بیشتر استفاده کردن از گیاهان دارویی و خواص آنها من جمله اسانس گیاهان دارویی مشگک بومی ایران در دارورسانی بود که از طریق ساخت نانولیپوزوم مورد بررسی قرار گرفت.

## مشارکت نویسندگان

شهرزاد سالاری ۹۵ درصد، مهرداد شمس‌الدینی ۵ درصد

## تضاد منافع

خیر وجود ندارد.

## تقدیر و تشکر

از دانشگاه علوم پزشکی کرمان در مراحل آنالیز و SEM تقدیر و تشکر می‌شود.

## منابع

**1.** Shahabipour S, Firuzi O and Asadollahi M. Essential oil composition and cytotoxic activity of Ducrosia anethifolia and Ducrosia flabellifolia from Iran. *J. Essent. Oil Res.* 2013; 25: 160-63.

**2.** Nedovic V, Kalusevic A, Manojlovic V, Levic S and Bugarski B. An overview of encapsulation technologies for food applications. *Procedia Food Sci.* 2011; 1: 1806-15.

**3.** Pavelkova A, Kacaniova M, Horska E, Rovna K, Hleba L and Petrova J. The effect of vacuum packaging, EDTA, oregano and thyme oils on the microbiological quality of chicken's breast. *Anaerobe* 2014; 29: 128 -38.

**4.** Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods *a review*. *International Journal of Food Microbiol* 2004; 94(3): 223-53.

**5.** Hosseini SF, Zandi M, Rezaei M and Farahmandghavi F. Two-step method for encapsulation of oregano essential oil in chitosan nanoparticles: preparation, characterization and in vitro release study. *Carbohydr Polym.* 2013; 95(1): 50-6.

**6.** Zasadzinski JA. Novel methods of enhanced retention in and rapid, targeted release from liposomes. *Current Opinion in Colloid & Interface Science* 2011; 16(3): 203-14.

**7.** Singh K and Mezei M. Liposomal ophthalmic drug delivery system. Dihydrostreptomycin sulfate. *International Journal of Pharmaceutics* 1984; 19(3): 263-69.

**8.** Minko T. New generation of liposomal drugs for cancer. *Anti-cancer Agents in Medicinal Chem.* 2006; 6(6): 537-52.
**9.** Peer D. Nanocarriers as an emerging platform for cancer therapy. *Nat. Nano.* 2007; 2(12): 751-60.
**10.** Wu G. Chapter 14 Synthesis, Characterization, and Optical Response of Gold Nanoshells Used to Trigger Release from Liposomes, in Methods in Enzymology. *D. Nejat, Editor* 2009; 464: 279-307.
**11.** Anderson LJE and et al. Optically guided controlled release from liposomes with tunable plasmonic nanobubbles. *J. Controlled Release* 2010; 144(2): 151-8.
**12.** Liu Z and et al. siRNA Delivery into Human T Cells and Primary Cells with Carbon-Nanotube Transporters. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 2007; 46(12): 2023-27.
**13.** Arias JL. Nanotechnology and Drug Delivery. Nanoplatforms in Drug Delivery. CRC Press USA 2014, pp: 216-18.
**14.** Mozafari MR. Nanoliposomes and Their Applications in Food Nanotechnology. *Journal of Liposome Res.* 2008; 18(4): 309-27.
**15.** Begum K, Sarker A, Shimu IJ, Chowdhury MMI and Jalil R. Characterization of Nanoemulsion Prepared from Self-emulsifying Rifampicin and its Antibacterial Effect on Staphylococcus aureus and Stap epidermidis Isolated from AcneDhaka. *Uni. J. Pharm. Sci.* 2016; 117-29.
**16.** Tao F, Hill LE, Peng Y and Gomes CL. Synthesis and characterization of β-cyclodextrin inclusion complexes of thymol and thyme oil for antimicrobial delivery applications. *LWT-Food Sci. Technol.* 2014; 59(1): 247-55.
**17.** Trifkovic KT, Milasinovic NZ, Djordjevic B, Krusic MTK, Knezevic-Jugovic ZD, Nedovic VA and Bugarski BM. Chitosan microbeads for encapsulation of thyme (*Thymus serpyllum* L.) polyphenols, *Carbohydr. Polym.* 2014; 111: 901-7.
**18.** Celia C, Trapasso E, Locatelli M, Navarra M, Ventura CA, Wolfram J and et al. Anticancer activity of liposomal bergamot essential oil (BEO) on human neuroblastoma cells. *Colloids Surf. B Biointerfaces.* 2013; 112: 548-53.

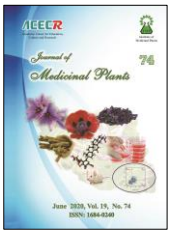
How to cite this article: Salari Sh, Shamsaddini M. The production of nanoliposomal system containing *Ducrosia anethifolia* (DC.) Boiss. essential oil made by sonication and filtration methods. ***Journal of Medicinal Plants*** 2020; 19(74): 229-238.
doi: 10.29252/jmp.19.74.229

*J. Med. Plants* 2020; 19(74): 229-238

Institute of Medicinal Plants

**Journal of Medicinal Plants**

Journal homepage: www.jmp.ir



**Research Article**

# The production of nanoliposomal system containing *Ducrosia anethifolia* (DC.) Boiss essential oil made by sonication and filtration methods

**Shahrzad Salari[1,*], Mehrdad Shamsaddini[2]**

[1] *Biotechnology, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran*
[2] *Razi Vaccine and Serum Research Institute, Kerman, Iran*

ARTICLE INFO

*Keywords:*
*Ducrosia anethifolia*
Essential Oil
Gas Chromatography Coupled with Mass Spectrometer (GC-MS) Nanoliposome

ABSTRACT

**Background:** *Ducrosia anethifolia* (DC.) Boiss is native to Iran and its essential oil has cytotoxic effects. **Objective:** Herbal Essences have limited application due to instability. In this research, nanoliposome containing Ducrosia essential oil has been studied for abundance and size distribution to enhance the essential oil stability for use in drug delivery systems. **Methods:** Essential oil was prepared and GC-MS were used to identify the extracted compounds. Thin-film hydration method was then used to create small liposome loaded with the extract. Nano-liposomes were made by sonication and filtration methods with molar ratios 7:3, 3:2 and ratios of 3:1 V/V Essential oil to lipid phase. **Results:** The results showed that size of nanoparticles made by sonication method with molar ratios of 3:2 was 39.49 to 354.4 nm with 80.7 to 19.3 % abundance and PDI of 0.856 Encapsulation Efficiency 38% and size of liposomes prepared using filtration method was 269.8 nm with 100% abundance and PDI of 0.507 with Encapsulation Efficiency 34% and results of nanoliposomes made by sonication with molar ratios of 7:3 and ratios of 3:1 was 224.4 to 5330 nm with 93 to 7 % abundance and PDI of 0.229 with Encapsulation Efficiency 46%. The size of liposomes prepared using filtration was 358.9 nm with 100% abundance and PDI of 0.286 with Encapsulation Efficiency 43.5%. **Conclusion:** It is important to note that the nanoliposomes produced by the sonication are smaller than filtration for use in the liposomal nanoscale system and Encapsulation Efficiency nanoliposomes made by molar ratios 7:3 was more than 3:2 molar ratios.

*Abbreviations:* PDI, Poly Dispersity Index; SEM, Scanning Electron Microscope.

* Corresponding author: az.sci2014@gmail.com, tajik@uk.ac.ir

doi: 10.29252/jmp.19.74.229
Received 7 November 2018; Received in revised form 19 January 2019; Accepted 29 April 2019

© 2020. Open access. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)