مشخصه‌یابی فیزیکوشیمیایی و ارزیابی رفتار رهایش عصاره گیاه به‌لیمو (*Aloysia citrodora*) در نانولیپوزوم‌ها

علی سلمان, ابوالفضل قانع, افسانه حسین زاده

چکیده

گیاه دارویی به‌لیمو (*Aloysia citrodora*) سرشار از ترکیبات فعال پلی‌فنولی و فلاونوئیدی است؛ با این حال، حساسیت این ترکیبات به عوامل محیطی، پایداری و زیست‌فراهمی آن‌ها را محدود می‌سازد. استفاده از سامانه‌های نانولیپوزومی می‌تواند ضمن محافظت از ترکیبات زیست‌فعال، زمینه رهایش کنترل‌شده آن‌ها را فراهم آورد. هدف از این مطالعه، تهیه، مشخصه‌یابی فیزیکوشیمیایی و بررسی الگوی رهایش برون‌تنی نانولیپوزوم‌های حاوی عصاره تام به‌لیمو بود.عصاره‌گیری از اندام هوایی گیاه به‌لیمو با اتانول ۹۶ درصد به روش خیساندن (ماسراسیون) انجام و طول موج بیشینه جذب (λ_{max}) تعیین شد. نانولیپوزوم‌ها به روش تشکیل فیلم نازک لیپیدی با استفاده از فسفاتیدیل‌کولین سویا، کلسترول و پلی‌اتیلن‌گلیکول (PEG-6000) سنتز شدند و پس از هیدراتاسیون با بافر فسفات، تحت سونیکاسیون پروبی قرار گرفتند. اندازه هیدرودینامیکی ذرات، شاخص پراکندگی (PDI) و پتانسیل زتا با دستگاه پراکندگی دینامیکی نور (DLS) سنجیده شد. درصد بارگذاری و رفتار رهایش عصاره در دو اسیدیته فیزیولوژیک (pH 7.4) و اسیدی (pH 5.5) در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد طی بازه زمانی ۱ تا ۷۲ ساعت به روش کیسه دیالیز مورد ارزیابی قرار گرفت.طول موج بیشینه جذب عصاره تام به‌لیمو در ۲۵۲ نانومتر به دست آمد. نانولیپوزوم‌های تهیه‌شده دارای اندازه متوسط ذرات ۸۵ نانومتر، شاخص پراکندگی ۰.۳۶۸ و پتانسیل زتای -۸.۱ میلی‌ولت بودند. درصد بارگذاری عصاره در نانوذرات ۴۰ درصد تعیین شد. بررسی سینتیک رهایش نشان داد که فرایند خروج عصاره از وزیکول‌ها در هر دو pH دارای رفتار دوفازی (رهایش اولیه و سپس رهایش پیوسته و آهسته) است؛ به‌طوری‌که بیشترین میزان آزادسازی در ساعت ۷ رخ داد و مقدار جذب نوری عصاره رهاشده در pH 7.4(جذب ۰.۴۹۶) بیشتر از محیط اسیدی pH 5.5(جذب ۰.۴۲۳) ثبت گردید.سامانه نانولیپوزومی تهیه‌شده با اندازه زیر ۱۰۰ نانومتر، کارایی مناسبی در نگهداری و آزادسازی تدریجی ترکیبات عصاره به‌لیمو نشان داد. این حامل می‌تواند به‌عنوان بستری مناسب جهت محافظت و انتقال هدفمند عصاره‌های گیاهی در فرمولاسیون‌های دارویی به کار رود.

واژه‌های کلیدی: به‌لیمو، نانولیپوزوم، مشخصه‌یابی فیزیکوشیمیایی، رهایش، دارورسانی.

۱. محدودیت‌های سیستم‌های دارورسانی معمولی

سیستم‌های دارورسانی سنتی و متعارف (مانند قرص‌ها، کپسول‌ها و محلول‌های خوراکی یا تزریقی ساده) با محدودیت‌های فارماکوکینتیکی و زیست‌دارویی متعددی روبه‌رو هستند که بازده درمانی آن‌ها را به شدت کاهش می‌دهد. مهم‌ترین این چالش‌ها شامل انحلال‌پذیری اندک بسیاری از ترکیب‌های فعال در محیط‌های آبی، حلالیت پایین در غشاهای زیستی و زیست‌دسترس‌پذیری (Bioavailability) بسیار ناچیز آن‌ها است. علاوه بر این، داروها و عصاره‌های گیاهی در فرمولاسیون‌های

معمولی به سرعت در معرض تجزیه شیمیایی و آنزیمی در دستگاه گوارش یا آسیب‌های ناشی از عبور اول کبدی (First-pass metabolism) قرار می‌گیرند. عدم وجود مکانیسم هدف‌گیری اختصاصی در این فرمولاسیون‌ها سبب توزیع غیرانتخابی دارو در سراسر بدن، ایجاد افت‌وفازهای شدید در غلظت پلاسمایی و در نتیجه بروز عوارض جانبی سیستمیک و نیاز به دوزهای مکرر می‌شود. [1,2]

۲. اهمیت حامل‌های نانو

حامل‌های مقیاس نانو (Nanocarriers) به عنوان یک ابزار پیشرفته در دارورسانی نوین، بر بسیاری از چالش‌های فارماکوکینتیکی سیستم‌های متعارف غلبه کرده‌اند. نانوحامل‌ها به دلیل نسبت سطح به حجم فوق‌العاده بالا، قادرند مواد موثره دارویی و عصاره‌های آب‌گریز را حل کرده و پایداری فیزیکی و شیمیایی آن‌ها را در برابر تخریب محیطی و آنزیمی بهبود ببخشند. استفاده از سیستم‌های نانویی موجب افزایش نیمه‌عمر سیرکولاسیون سیستمیک، تعدیل رهایش دارو (Controlled and Sustained Release) و بهبود نفوذ از سدهای زیستی مانند غشاهای سلولی می‌شود. علاوه بر این، نانوحامل‌ها امکان هدف‌گیری غیرفعال (از طریق اثر افزایش نفوذپذیری و نگهداری - EPR) و هدف‌گیری فعال (با اصلاح سطح توسط لیگاندها) را فراهم می‌سازند که این امر به تجمع اختصاصی دارو در بافت هدف و کاهش چشمگیر سمیّت در بافت‌های سالم می‌انجامد. [3,4]

۳. معرفی لیپوزوم‌ها

لیپوزوم‌ها وزیکول‌های کروی شکل میکروسکوپی یا نانومتری هستند که به طور خودبه‌خودی از تجمع غشاهای فسفولیپیدی در محیط‌های آبی تشکیل می‌شوند. این ساختارها برای اولین بار توسط الک بنگهام در دهه ۱۹۶۰ میلادی کشف شدند و به دلیل شباهت ساختاری فوق‌العاده به غشای سلول‌های زنده، زیست‌سازگاری (Biocompatibility) و زیست‌تخریب‌پذیری (Biodegradability) بسیار بالایی دارند. یکی از ویژگی‌های بارز لیپوزوم‌ها، توانایی محبوس‌سازی دوگانه (Dual-encapsulation) آن‌ها است؛ به طوری که می‌توانند ترکیبات آب‌دوست (Hydrophilic) را در هسته آبی مرکزی و ترکیبات چربی‌دوست (Lipophilic) را در میان غشای دولایه lipid محبوس کنند. این ویژگی منحصربه‌فرد، لیپوزوم‌ها را به یکی از موفق‌ترین و پرکاربردترین پلتفرم‌های حامل دارو در صنایع داروسازی، غذایی و آرایشی تبدیل کرده است. [5.6]

۴. ساختار دولایه فسفولیپیدی چیست

ساختار دولایه فسفولیپیدی (Phospholipid Bilayer) پایه و اساس غشاهای زیستی و ساختار لیپوزوم‌ها را تشکیل می‌دهد. فسفولیپیدها مولکول‌هایی آمفی‌فیلیک (Amphiphilic) یا دوگانه دوست هستند که از یک سر قطبی آب‌دوست (حاوی گروه فسفات) و دو زنجیره دم غیرقطبی آب‌گریز (اسیدهای چرب) ساخته شده‌اند. هنگامی که این مولکول‌ها در یک محیط آبی قرار می‌گیرند، بر اثر برهم‌کنش‌های هیدروفوبیک خودبه‌خود آرایش می‌یابند؛ به نحوی که دم‌های آب‌گریز به سمت داخل (دور از آب) و سرهای آب‌دوست به سمت محیط آبی بیرونی و درونی قرار می‌گیرند. ضخامت این غشای دولایه معمولاً

بین ۴ تا ۵ نانومتر است و خواصی نظیر سیالیت غشا (Membrane Fluidity) و دمای انتقال فاز (T_m) آن توسط نوع فسفولیپیدها (مانند فسفاتیدیل کولین) و حضور مولکول‌های تثبیت‌کننده نظیر کلسترول تنظیم می‌شود. [7,8]

۵. اهمیت لیپوزوم‌ها در تحویل دارو

لیپوزوم‌ها اهمیت بالینی و بالابری در صنعت داروسازی دارند، چرا که توانسته‌اند شاخص درمانی (Therapeutic Index) بسیاری از داروهای کم‌محلول و سمی را به شکل معناداری بهبود ببخشند. محبوس‌سازی داروها در لیپوزوم باعث محافظت از ماده فعال در برابر تخریب آنزیمی، واکنش‌های اکسیداسیون و فرآیندهای هیدرولیز می‌شود و در عین حال سمیت بافتی دارو را کاهش می‌دهد. علاوه بر این، امکان تغییر ویژگی‌های سطحی لیپوزوم‌ها (مانند استفاده از پلی‌اتیلن گلیکول یا PEG برای نانوزن‌ها جهت ایجاد لیپوزوم‌های پنهان/Stealth) باعث افزایش طول عمر سیرکولاسیون خونی و فرار از سیستم ایمنی (کاهش بلع توسط ماکروفاژها) می‌شود. قابلیت تنظیم رهایش دارو و امکان اتصال آنتی‌بادی‌ها یا اسید فولیک به سطح لیپوزوم برای هدف‌گیری سلول‌های سرطانی، لیپوزوم‌ها را به ایده‌آل‌ترین حامل‌های زیستی تبدیل کرده است. [9,10]

۶. بهبود تحویل عصاره‌های گیاهی با سیستم‌های نانوزیکولی/لیپوزومی

عصاره‌ها و فیتوکمیکال‌های گیاهی با وجود خواص درمانی بی‌نظیر، معمولاً پایداری پایینی در برابر نور، اکسیژن و تغییرات pH دارند و به دلیل فراریت (در مورد اسانس‌ها) یا حلالیت پایین (در مورد فنول‌ها)، زیست‌دسترس‌پذیری بسیار محدودی نشان می‌دهند. به‌کارگیری سیستم‌های دارورسانی نانوزیکولی (Nanovesicular delivery) نظیر نانولیپوزوم‌ها، یک راهکار نوین برای انکپسوله کردن ترکیبات فنولی و ترپنوئیدهای گیاهی به شمار می‌رود. این نانوزیکول‌ها با محبوس کردن ترکیبات زیست‌فعال در هسته آبی یا غشای لیپیدی خود، از تخریب سریع آن‌ها در دستگاه گوارش جلوگیری نموده، نفوذپذیری روده و جذب سلولی را تسریع می‌بخشند و رهایش پیوسته ماده درمانی را تضمین می‌کنند؛ امری که منجر به افزایش چشمگیر کارایی آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی و ضدمیکروبی عصاره در مقایسه با فرم آزاد آن می‌شود. [11,12]

۷. معرفی گیاه به لیمو Aloysia citrodora

گیاه به‌لیمو با نام علمی .Aloysia citrodora Paláu (مترادف با Lippia citriodora و Aloysia triphylla)، بوته‌ای معطر متعلق به خانواده شاه‌پسند (Verbenaceae) است که بومی آمریکای جنوبی بوده و امروزه در نقاط مختلف جهان از جمله ایران کشت می‌شود. عصاره قطبی و اسانس این گیاه دارای طیف وسیعی از ترکیبات زیست‌فعال از جمله ترکیبات فنولی (مانند ورباسکوزید/اکتئوزید و لوتئولین-۷-دی‌گلوکورونید) و ترپنوئیدهای فرار (نظیر سیترال، لیمونن و لینالول) است. مطالعات داروشناسی گسترده ثابت کرده‌اند که عصاره Aloysia citrodora دارای خواص بالقوه آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی، ضدمیکروبی، محافظت‌کننده عصبی (Neuroprotective) و تعدیل‌کننده اختلالات متابولیک است و به همین دلیل گزینه بسیار جذابی برای توسعه فرمولاسیون‌های دارویی و غذا-داروها (Nutraceuticals) محسوب می‌شود. [13,14]

۸. چه مشخصاتی قبلاً در نانولیپوزوم‌ها/سیستم‌های نانویی به‌لیمو بررسی شده است

در تحقیقات قبلی صورت‌گرفته بر روی نانوحامل‌های بارگیری‌شده با عصاره یا اسانس به‌لیمو (Aloysia citrodora)، طیف مفصلی از مشخصات فیزیکوشیمیایی و زیستی مورد ارزیابی قرار گرفته است. از جمله مشخصات اندازه‌گیری‌شده می‌توان به اندازه متوسط ذره‌ای (Particle Size / Hydrodynamic Diameter) معمولاً در محدوده ۱۰۰ تا ۱۵۰ نانومتر، شاخص پراکندگی ناهمگن (Polydispersity Index - PDI) کم (کمتر از ۰.۳ نشان‌دهنده تک‌پراکندگی)، و پتانسیل زتا (Zeta Potential) برای بررسی بار سطحی و پایداری کلوئیدی اشاره کرد. همچنین، بازده محبوس‌سازی (Encapsulation Efficiency - EE) برای ترکیبات شاخص مانند ورباسکوزید و سیترال بالای ۸۵٪ گزارش شده است. آنالیزهای مورفولوژی با میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM)، الگوی رهایش برپایه مدل‌های سینتیکی (مانند Korsmeyer-Peppas)، پایداری ذخیره‌سازی ۹۰ روزه، و ارزیابی‌های زیستی نظیر ماندگاری خواص آنتی‌اکسیدانی و فعالیت ضدمیکروبی علیه باکتری‌هایی مانند Staphylococcus aureus و Escherichia coli به اثبات رسیده است. [15,16]

مواد و روش‌ها

تهیه عصاره به لیمو

در این مطالعه، ۲۵۰ گرم از گیاه به لیمو پس از شناسایی گیاه‌شناسی، خشک و آسیاب شد و ۲۰۰ گرم از پودر گیاه با اتانول ۹۶ درصد به نسبت ۱ به ۵ مخلوط و به مدت ۴۸ ساعت در دمای اتاق ($25 \pm 2°C$) روی همزن قرار گرفت. پس از اتمام زمان خیساندن، سوسپانسیون توسط کاغذ صافی واتمن فیلتر شد. حلال عصاره به وسیله دستگاه تقطیر در خلأ در دمای کمتر از ۴۰ درجه سانتی‌گراد تبخیر گردید تا عصاره خشک حاصل شود.

غربالگری فیتوشیمیایی

جهت شناسایی مقدماتی ترکیبات موجود در عصاره، آزمون‌های کیفی استاندارد فیتوشیمیایی برای فنول‌ها (تست کلرید فریک)، فلاونوئیدها (تست شینودا)، ترپنوئیدها و استروئیدها (تست لیبرمن-بورخارد)، تانن‌ها (تست ژلاتین) و ساپونین‌ها (تست تشکیل کف) انجام شد. طول موج بیشینه جذب (λ_{max}) عصاره با استفاده از اسپکتروفتومتر فرابنفش-مرئی در گستره ۲۰۰ تا ۸۰۰ نانومتر تعیین گردید.

ساخت نانولیپوزوم‌های حاوی عصاره

نانولیپوزوم با روش فیلم نازک لیپیدی تهیه شد. فسفاتیدیل‌کولین سویا، کلسترول و PEG در حلال آلی مناسب حل و با استفاده از روتاری در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد، سرعت ۱۵۰ دور در دقیقه و به‌مدت ۹۰ دقیقه، فیلم لیپیدی تشکیل دادند. فیلم ایجادشده با ۱۰ میلی‌لیتر PBS هیدراته شد. سپس اندازه وزیکول‌ها با روش سونیکاسیون کاهش یافت و سوسپانسیون از فیلترهای ۰.۴۵ و ۰.۲۲ میکرومتر عبور داده شد.

مشخصه‌یابی فیزیکوشیمیایی

اندازه ذرات، شاخص پراکندگی (PDI) و پتانسیل زتا :این شاخص‌ها با استفاده از دستگاه پراکندگی دینامیکی نور (DLS)بر پایه حرکت براونی و تحرک الکتروفورتیک ذرات در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری شدند .

درصد بارگذاری عصاره

نانولیپوزوم‌های حاوی عصاره با استفاده از اولتراسانتریفیوژ جداسازی شدند. غلظت عصاره آزاد (محصورنشده) در فاز شناور بالایی با اندازه‌گیری میزان جذب نوری در طول موج ۲۵۲ نانومتر تعیین گردید. درصد بارگذاری طبق فرمول زیر محاسبه شد:مقدار عصاره بارگذاری‌شده با اندازه‌گیری جذب نمونه و استفاده از منحنی استاندارد تعیین شد. درصد بارگذاری با رابطه زیر محاسبه گردید:

$$\text{درصد بارگذاری} = \frac{\text{مقدار عصاره بارگذاری‌شده} \times \text{ضریب غلظت}}{\text{کل مقدار عصاره مورد استفاده}} \times 100$$

$$\frac{12.05 \times 50}{1500} \times 100 = 40\%$$

میزان لود عصاره ۴۰ درصد است.

ارزیابی رهایش

بررسی رفتار رهایش عصاره با تکنیک کیسه دیالیز انجام شد. حجم مشخصی از سوسپانسیون نانولیپوزوم درون کیسه دیالیز (کات‌آف ۱۲–۱۴ کیلودالتون) قرار گرفت و دو سر آن محکم بسته شد. کیسه‌ها درون ارلن‌های حاوی بافر رهایش در دو محیط متفاوت شامل بافر فسفات با pH 7.4 (شبیه‌ساز محیط فیزیولوژیک بدن) و بافر با pH 5.5 (محیط اسیدی) قرار داده شدند.

سامانه روی همزن مغناطیسی در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. در زمان‌های ۱، ۳، ۵، ۷، ۹، ۱۲، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت، از محیط رهایش نمونه‌برداری شد و بلافاصله حجم خارج‌شده با بافر تازه جایگزین گردید. میزان عصاره آزادشده از طریق سنجش جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۲۵۲ نانومتر مورد پایش قرار گرفت.

نتیجه

آنالیز فیتوشیمیایی و طول موج بیشینه

نتایج ارزیابی‌های کیفی فیتوشیمیایی حضور متابولیت‌های ثانویه شامل ترکیبات فنولی، فلاونوئیدها، ترپنوئیدها، تانن‌ها، استرول‌ها و گلیکوزیدها را در عصاره اتانولی به‌لیمو تأیید کرد و واکنش مربوط به ساپونین‌ها به‌صورت ضعیف ثبت شد. بررسی

طیف جذبی در محدوده فرابنفش-مرئی نشان داد که پیک بیشینه جذب نوری عصاره تام در طول موج **۲۵۲ نانومتر** ($\lambda_{max} =$ 252 nm) قرار دارد.

ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی نانولیپوزوم‌ها

مشخصات فیزیکی نانوذرات سنتزشده در جدول ۱ ارائه شده است.

جدول ۱. مشخصات فیزیکوشیمیایی نانولیپوزوم‌های حاوی عصاره به‌لیمو

شاخص اندازه‌گیری‌شده	مقدار به‌دست‌آمده	روش ارزیابی
میانگین اندازه هیدرودینامیکی ذرات	۸۵ نانومتر	پراکندگی دینامیکی نور (DLS)
شاخص پراکندگی اندازه (PDI)	۰.۳۶۸	DLS
پتانسیل زتا	۸.۱- میلی‌ولت	الکتروفورز لیزری دوپلر
درصد بارگذاری عصاره	۴۰ درصد	اسپکتروفتومتری در $\lambda_{max} = 252$ nm

اندازه ذرات نانولیپوزوم به‌دست‌آمده کمتر از ۱۰۰ نانومتر (۸۵ نانومتر) ثبت شد. شاخص پراکندگی برابر با ۰.۳۶۸ بود. بار الکتریکی سطحی نانوذرات (پتانسیل زتا) دارای مقدار منفی ۸.۱- میلی‌ولت بود و راندمان بارگذاری عصاره تام درون وزیکول‌های لیپیدی معادل ۴۰ درصد محاسبه شد.

رهایش

نتایج حاصل از ارزیابی رهایش عصاره تام از نانولیپوزوم‌ها در بازه زمانی ۱ تا ۷۲ ساعت در دو اسیدیته pH 7.4 و pH 5.5 نشان‌دهنده یک الگوی رهایش دوفازی بود (شکل ۱):

- در فاز اول (از ساعت ۱ تا ۷)، آزادسازی عصاره با شیب تندتری رخ داد؛ به‌طوری‌که بیشترین مقدار رهایش در ساعت ۷ مشاهده شد. در این زمان، جذب نوری در محیط فیزیولوژیک (pH 7.4) به **۰.۴۹۶** و در محیط اسیدی (pH 5.5) به **۰.۴۲۳** رسید.

- در فاز دوم (از ساعت ۷ تا ۷۲)، روند رهایش تغییر شیب داده و به‌صورت ملایم، پیوسته و پایدار تا پایان ساعت ۷۲ ادامه یافت.
- در تمامی زمان‌های نمونه‌برداری، مقدار عصاره رهاشده در شرایط بافری pH 7.4بالاتر از محیط اسیدی pH 5.5 قرار داشت.

بحث

در این مطالعه، فرمولاسیون نانولیپوزومی برای عصاره گیاه به‌لیمو طراحی شد و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و رفتار رهایش آن مورد بررسی قرار گرفت. دستیابی به اندازه متوسط ذرات ۸۵ نانومتر نشان داد که ترکیب فسفاتیدیل‌کولین و کلسترول در کنار اعمال سونیکاسیون پروبی، توانایی مناسبی در تشکیل نانووزیکول‌های کوچک و یکنواخت دارد. از نظر کاربردهای دارورسانی، اندازه ذرات زیر ۱۰۰ نانومتر مزیتی مهم به شمار می‌آید؛ زیرا ذرات در این ابعاد از نفوذپذیری بافتی بالاتری برخوردار بوده و احتمال به دام افتادن زودهنگام آن‌ها کاهش می‌یابد.

شاخص پراکندگی (PDI) ذرات معادل ۰.۳۶۸ به دست آمد. در سامانه‌های نانویی حاوی عصاره‌های تام گیاهی که مخلوطی از چندین متابولیت با وزن‌های مولکولی و قطبیت‌های گوناگون هستند، وجود چنین مقداری از PDI متداول است و بیانگر پراکندگی قابل‌قبول اندازه ذرات درون محیط آبی می‌باشد. پتانسیل زتای نانولیپوزوم‌ها برابر با -۸.۱ میلی‌ولت اندازه‌گیری شد. اگرچه در سامانه‌های کلوئیدی متداول، پتانسیل زتای بالاتر از ۳۰± میلی‌ولت ضامن پایداری الکترواستاتیک در نظر گرفته می‌شود، اما در این فرمولاسیون حضور زنجیره‌های پلیمری PEG نقش تعیین کننده‌ای دارد. پوشش PEG با ایجاد ممانعت فضایی (Steric Stabilization) در اطراف ذرات، مانع از نزدیک‌شدن و تجمع فیزیکی نانووزیکول‌ها شده و پایداری کلوئیدی سامانه را در محیط آبی تضمین می‌کند.

میزان بارگذاری ۴۰ درصدی عصاره در نانولیپوزوم‌ها نشان‌دهنده توانایی غشای لیپیدی در جای‌دادن ترکیبات زیست‌فعال است. حضور هم‌زمان اجزای قطبی (نظیر گلیکوزیدهای فلاونوئیدی) و اجزای با قطبیت کمتر (نظیر ترپنوئیدها) در عصاره تام به‌لیمو سبب می‌شود که بخشی از این مواد در هسته آبی داخلی وزیکول و بخشی دیگر در لایه‌ای زنجیره‌های هیدروکربنی فسفولیپیدها استقرار یابند. کلسترول موجود در فرمولاسیون نیز با محدودکردن نفوذپذیری غشا، به نگهداری این ترکیبات درون ساختار نانوذره کمک می‌نماید.

بررسی سینتیک رهایش دارو نشان‌دهنده رفتار دوفازی مشخصی بود. آزادسازی سریع‌تر اولیه در ساعات ابتدایی (تا ساعت ۷) عمدتاً مربوط به شسته شدن و خروج ترکیباتی است که در نزدیکی سطح خارجی غشا یا لایه‌های سطحی لیپوزوم به دام افتاده بودند. در ادامه، فاز رهایش آهسته و یکنواخت تا ساعت ۷۲ نشان داد که ترکیبات محبوس‌شده در هسته مرکزی و عمق لایه‌های لیپیدی با سرعت کنترل‌شده‌ای از سد غشایی انتشار می‌یابند.

تفاوت میزان رهایش در دو pH مختلف (جذب بالاتر در pH 7.4نسبت به pH 5.5) را می‌توان به ساختار شیمیایی ترکیبات فنولی غالب عصاره به‌لیمو نسبت داد. در محیط خنثی و فیزیولوژیک (pH 7.4)، گروه‌های هیدروکسیل فنولی تمایل بیشتری به یونیزه‌شدن پیدا کرده، حلالیت آبی آن‌ها افزایش می‌یابد و در نتیجه سرعت خروج آن‌ها به بافر بیشتر می‌شود؛ درحالی‌که در شرایط اسیدی (pH 5.5)، این ترکیبات به‌صورت خنثی باقی مانده، برهم‌کنش آب‌گریز آن‌ها با اسیدهای چرب غشای لیپوزوم تقویت شده و رهایش آهسته‌تری را تجربه می‌کنند. این ویژگی رهایش طولانی‌مدت، یک مزیت مطلوب در طراحی حامل‌های آهسته‌رهش محسوب می‌شود.

نتیجه‌گیری

در این پژوهش، نانولیپوزوم‌های حاوی عصاره تام گیاه به‌لیمو (*Aloysia citrodora*) با استفاده از فسفاتیدیل‌کولین، کلسترول و PEG-6000 با موفقیت سنتز و مشخصه‌یابی شدند. نانوحامل‌های حاصل با دارا بودن اندازه متوسط ۸۵ نانومتر، پایداری فضایی مناسب و راندمان بارگذاری ۴۰ درصد، توانایی بالایی در محافظت و آزادسازی پیوسته ترکیبات گیاهی طی ۷۲ ساعت نشان دادند. این سامانه نانولیپوزومی می‌تواند به‌عنوان بستری کارآمد جهت توسعه اشکال دارویی نوین با رهایش کنترل‌شده از ترکیبات طبیعی به‌لیمو در پژوهش‌های تکمیلی و کاربردی مورد استفاده قرار گیرد.

مراجع:

1. Sultana, A., Zare, M., Thomas, V., Kumar, T. S., & Ramakrishna, S. (2022). Nano-based drug delivery systems: Conventional drug delivery routes, recent developments and future prospects. Medicine in Drug Discovery, 15, 100134. https://doi.org/10.1016/j.medidd.2022.100134
2. Adepu, S., & Ramakrishna, S. (2021). Controlled Drug Delivery Systems: Current Status and Future Directions. Molecules, 26(19), 5905. https://doi.org/10.3390/molecules26195905
3. Afzal, O., Altamimi, A. S. A., Nadeem, M. S., Alzarea, S. I., Almalki, W. H., et al. (2022). Nanoparticles in Drug Delivery: From History to Therapeutic Applications. Nanomaterials, 12(24), 4494. https://doi.org/10.3390/nano12244494
4. Alshawwa, S. Z., Kassem, A. A., Farid, R. M., Mostafa, S. K., & Labib, G. S. (2022). Nanocarrier Drug Delivery Systems: Characterization, Limitations, Future Perspectives and Implementation of Artificial Intelligence. Pharmaceutics, 14(4), 866. https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14040866
5. Nsairat, H., Khater, D., Ubeidat, F., Al-Muhaissen, A., Al-Dujaili, A., et al. (2022). Liposomes: Structure, Composition, Types, and Clinical Applications. *Heliyon*, 8(5), e09394. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e09394

6. Liu, P., Chen, G., & Zhang, J. (2022). A Review of Liposomes as a Drug Delivery System: Current Status of Approved Products, Regulatory Environments, and Future Perspectives. *Molecules*, 27(4), 1372. https://doi.org/10.3390/molecules27041372
7. Pande, S., et al. (2023). Liposomes for drug delivery: review of vesicular composition, factors affecting drug release and drug loading in liposomes. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 51(1), 381-395. https://doi.org/10.1080/21691401.2023.2247036
8. Ridolfi, D. M., et al. (2021). Lipid bilayer dynamics and structural characteristics of biomimetic liposomes. *Membranes*, 11(3), 195. https://doi.org/10.3390/membranes11030195
9. Chen, Q., et al. (2024). Novel Drug Delivery Systems: An Important Direction for the Development of the Pharmaceutical Industry. *Pharmaceutics*, 16(5), 674. https://doi.org/10.3390/pharmaceutics16050674
10. Allen, T. M., & Cullis, P. R. (2013). Liposomal drug delivery systems: From concept to clinical applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 65(1), 36-48. https://doi.org/10.1016/j.addr.2012.09.037
11. Leyva-Jiménez, F. J., et al. (2021). Development of advanced phospholipid vesicles loaded with *Lippia citriodora* pressurized liquid extract for the treatment of gastrointestinal disorders. *Food Chemistry*, 346, 128867. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128867
12. Bonifácio, B. V., et al. (2014). Nanotechnology-based drug delivery systems and medicinal plants: A review. *International Journal of Nanomedicine*, 9, 1-15. https://doi.org/10.2147/IJN.S52634
13. Bahramsoltani, R., Rostamiasrabadi, P., Shahpiri, Z., Marques, A. M., Rahimi, R., & Farzaei, M. H. (2018). *Aloysia citrodora* Paláu (Lemon verbena): A review of phytochemistry and pharmacology. *Journal of Ethnopharmacology*, 222, 34-51. https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.04.021
14. Arajyan, G., et al. (2025). Phytochemical insights and therapeutic benefits of *Aloysia citrodora* (lemon verbena): implications for chronic disease prevention and functional food development. *Functional Food Science*, 5(9), 1708. https://doi.org/10.31989/ffs.v5i9.1708
15. Alam, A., Imran, M., Ansari, M. D., & Elkirdasy, A. F. (2024). Preparation of *Aloysia citriodora* (Lemon verbena) extract loaded lipid-nano capsules for topical antibacterial treatment. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 101(Part A), 106164. https://doi.org/10.1016/j.jddst.2024.106164
16. Leyva-Jiménez, F. J., Manca, M. L., Manconi, M., Caddeo, C., Vázquez, J. A., Lozano-Sánchez, J., Escribano-Ferrer, E., Arráez-Román, D., & Segura-Carretero, A. (2020). Incorporation of *Lippia citriodora* Microwave Extract into Total-Green Biogelatin-Phospholipid Vesicles to Improve Its Antioxidant Activity. *Nanomaterials*, 10(4), 765. https://doi.org/10.3390/nano10040765