

## بررسی اثرات محافظتی نانوامولسیون مبتنی بر روغن سیاه‌دانه حاوی

### کوئرستین در هایپرپلازی خوش خیم پروستات ناشی از تجویز تستوسترون

محمدعلی جعفری<sup>۱</sup>، نگار پناهی\*<sup>۲</sup>، سعید حصارکی<sup>۲</sup>، قاسم اکبری<sup>۳</sup>

#### چکیده

کوئرستین (Qu) نوعی فلاونوئید گیاهی است که در مبارزه با سلول‌های هایپرپلازی شده پروستات مفید است. در همین حال، روغن دانه سیاه‌دانه (NSO) در تسکین علائم هایپرپلازی خوش خیم پروستات (BPH) نوبدبخش است. هدف این مطالعه ارزیابی اثرات کوئرستین همراه با نانوامولسیون مبتنی بر NSO (Qu-NSO) بر روی یک مدل موش BPH بود. در گروه T القای BPH در موش‌های صحرایی با استفاده از تستوسترون انانتات به صورت زیر جلدی صورت گرفت. درمان‌های مختلف از جمله کوئرستین، NSO و Qu-NSO (۲۵ و ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم) خوراکی برای ارزیابی اثرات Qu-NSO انجام شد. اندازه کروی و پتانسیل زتا و زیکول‌های تشکیل شده اندازه گیری شد. وزن و شاخص پروستات با سطح خونی آنتیژن اختصاصی آن (PSA)، سطح خونی دی‌هیدروتستوسترون (DHT)، مارکرهای اکسیدان و آنتی‌اکسیدان در سرم، و هیستوپاتولوژی پروستات در مدل موش صحرایی مورد بررسی قرار گرفت. اندازه متوسط گلبول برای Qu-NSO با مقدار پتانسیل زتا برحسب میلی‌ولت بدست آمد. Qu-NSO وزن پروستات را ۴۰٪ و شاخص پروستات را ۸۷٪ نسبت به گروه تستوسترون کاهش داد. ضخامت و ارتفاع یافت پوششی و تعداد میکرو پاپیلاها در زیر میکروسکوپ در تیمار Qu-NSO به طور معنی‌داری بهتر شد. نانو دارو سطوح بافتی محتوای اکسیداتیو (MDA) را کاهش داد ( $p < 0.001$ ). در حالی که آنتی‌اکسیدان‌ها (فعالیت SOD و GPx) به طور معنی‌داری بیشتر شد ( $p < 0.001$ ). Qu-NSO کاهش وزن پروستات و خواص آنتی‌اکسیدانی مانند افزایش فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی و کاهش جراحات میکروسکوپی برتر از گروه فیناستراید بود.

واژگان کلیدی: هایپرپلازی پروستات، نانوامولسیون، سیاه‌دانه، طب جایگزین

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۵/۲۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۷/۲۸

#### مقدمه

هایپرپلازی خوش خیم پروستات باعث فشار بر مجرای ادرار و افزایش ضخامت دیواره مثانه و در نتیجه احتباس

می‌شود (۱). افزایش سطح دی‌هیدروتستوسترون (نگاره فعال تستوسترون، DHT) و عدم تعادل استروژن/تستوسترون باعث هایپرپلازی و بزرگ شدن پروستات می‌شود. مکانیسم عمل داروهای مورد استفاده برای درمان هایپرپلازی خوش خیم پروستات (BPH)، مهارکننده‌های  $5\alpha$  ردوکتاز (مهار تولید DHT)، مهار گیرنده آلفا-۱ و مهار فسفودی استراز نوع ۵ است که هر دو دسته اخیر، باعث شل شدن عضلات صاف در پروستات می‌شوند. در حالی که اثربخشی این داروها ثابت شده است، اثرات نامطلوب آن، از ناتوانی جنسی گرفته تا افت فشار خون و ژنیکوماستی (بزرگی پستان)، منجر به کاوش بیشتر برای ابزارهای جایگزین برای کنترل BPH شده است (۲). اثرات برجسته کوئرستین (۳،۵،۷،۳،۴-پنتاهیدروکسی فلاون) به عنوان بهترین فلاونوئیدهای مطالعه شده در سبزیجات و میوه‌ها شامل آنتی‌اکسیدان، ضد التهاب، ضد حساسیت، ضد سرطان، ضد فشار خون و همچنین فعالیت‌های ضد آتروژنیک است (۳). امروزه، توصیف شده است که کوئرستین می‌تواند سطح تستوسترون، هورمون لوتهینی و استرادیول را کاهش دهد (۴). کوئرستین می‌تواند سطوح اینترلوکین-۱ بتا ( $IL-1\beta$ )، فاکتور نکروز تومور آلفا ( $TNF-\alpha$ ) و اینترلوکین-۶ ( $IL-6$ ) را در خون کاهش دهد (۵). علاوه بر این، کوئرستین به دلیل مکانیسم اثر آن، از جمله القای آپوپتوز، مهار گیرنده‌های آندروژن، غیرفعال کردن مسیر سیگنالینگ فسفاتیدیل ۳-کیناز (PI3K)/AKT و

۱- گروه علوم پایه، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران panahiinegar@gmail.com

۲- گروه پاتوبیولوژی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۳- گروه علوم بالینی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

دارد و تأثیر مثبتی بر جلوگیری از BPH ناشی از تستوسترون دارد. سیستم های دارورسانی خود نانوامولسیون شده به دلیل درجه بالای نفوذ دارو از طریق بافت‌ها، پایداری و عوارض جانبی کمتر مرتبط با سایر داروها، به تدریج در فرمولاسیون های مختلف در زمینه دارویی به عنوان وسیله نقلیه یا سیستم های جدید تحویل دارو دارورسانی استفاده می‌شوند.

نانوامولسیون ها به دلیل اندازه کمتر، وسعت سطحی بیشتر و عدم لخته سازی، ادغام یا رسوب بافتی نسبت به میکرومولسیون ها برتری دارند. نانوامولسیون از ترکیب ایزوتوپی از روغن، سورفکتانت ها و ترکیبات کوسورفکتانت تشکیل شده است که به طور غریزی در تماس با مایع گوارشی امولسیون هایی را تشکیل می‌دهد. علاوه بر افزایش پایداری، نانوذرات مبتنی بر لیپیدی به‌عنوان سیستم‌های دارورسانی جدید، نشان داده شده که حلالیت دارو و رفتار انحلال را در دستگاه گوارش بهتر می‌کنند و در نتیجه برای افزایش جذب داروهای با حلالیت در آب ضعیف بهینه هستند (۱۰).

یکی از اهداف نانوپزشکی توسعه اثربخشی عوامل دارویی فعال برای اختلالات مزمن است. بنابراین، کوئرستین بر روی یک نانوحامل مبتنی بر روغن دانه سیاه‌دانه بارگذاری شد. این مطالعه ترکیب کوئرستین و روغن دانه سیاه‌دانه را هنگامی که به‌عنوان یک سیستم دارورسانی خود نانوامولسیون شده NSO بارگذاری شده با Qu (Qu-NSO (SNEDDS در مدیریت BPH ارزیابی کرد.

#### مواد و روش کار

##### روغن سیاه‌دانه

روغن دانه سیاه‌دانه خام و روغن نارگیل بکر از پژوهشکده گیاهان دارویی و مواد اولیه دانشکده داروسازی دانشگاه شهید بهشتی تهیه شد. کوئرستین، پلی اتیلن گلیکول 400 (PEG)، و Tween 80 همه توسط سیگما آلد ریچ

جلوگیری از رگزایی، به عنوان مکمل و درمان هایپرپلازی پروستات استفاده می‌شود. علاوه بر این، PI3K/AKT نقش حیاتی در تکثیر و پیشرفت هایپرپلازی پروستات ایفا می‌کند و به پیشگیری از آپوپتوز کمک می‌کند (۶). بنابراین، داروهای مبتنی بر کوئرستین در درمان و پیشگیری از BPH مورد توجه هستند. با این حال، کوئرستین به دلیل حلالیت ضعیف در آب، پایداری شیمیایی کم و فراهمی زیستی محدودیت های زیادی دارد (۳). از این رو، انجام آزمایش‌هایی برای افزایش حلالیت کوئرستین در آب، دسترسی زیستی و پایداری شیمیایی آب و تأیید تحویل و جذب آن ضروری است.

روغن دانه سیاه‌دانه به طور سنتی برای درمان آنفولانزا، آسم، برونشیت، سرفه، سرگیجه، فشار خون بالا، تب، التهاب، سردرد و آگزما استفاده می‌شود. همچنین، روغن سیاه‌دانه برای بیماری های مختلف از جمله دیابت، فشار خون بالا، داروهای تعدیل کننده ایمنی و ضد التهابی، محافظت کننده عصبی و سرطان در نظر گرفته شده است. علاوه بر این، مواد مغذی، به ویژه زیره سیاه، به عنوان یک مکمل غذایی برای درمان پروستات و مثانه جذاب هستند. دانه ها منابع غنی روغن ثابت هستند که به خاطر سطح بالایی از اسیدهای چرب غیراشباع مانند اولئیک، لینولئیک و اسید لینولئیک شناخته شده است (۷).

آنها می‌توانند از تکثیر سلول‌های هایپرپلاستیک پروستات ناشی از DHT و تستوسترون جلوگیری کنند. روغن دانه سیاه‌دانه همچنین می‌تواند  $\alpha$ -5 ردوکتاز را مهار کند، هدف دارویی آنزیمی DHT که برای تبدیل تستوسترون به DHT شناخته شده است (۸). تیموکینون، جزء فعال زیستی اصلی روغن دانه سیاه‌دانه، معمولاً برای میگرن و بیماری هایی مانند چاقی، آسم، منگارهات گوارشی، قاعدگی و شیردهی استفاده می‌شود (۹). با این حال، تحقیقات کمی در مورد روغن دانه سیاه‌دانه درگیر در آزمایش‌های داخل بدن وجود

مدت دو روز در دمای ۴۰ درجه سلسیوس نگه داشته شد، خنک شد و برای جداسازی فاز تشخیص داده شد.

اندازه وزیکولار و پتانسیل زتا

اندازه وزیکولی، پتانسیل زتا و میانگین اندازه نانوامولسیون روغن دانه سیاه‌دانه توسط نانو-ZS SZ-100 (هوریا، ژاپن) با استفاده از تکنیک پراکندگی نور پویا (DLS) ارزیابی شد.

بررسی روغن دانه سیاه‌دانه-کوئرستین Qu-NSO با میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)

مورفولوژی خارجی ذرات با مشاهده میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) با استفاده از TESCAN-Vega3 (TESCAN SEM، جمهوری چک) ارزیابی شد.

مطالعه درون تنی

موش‌های صحرایی نر ده هفته‌ای ویستار (وزن، ۱۸۰-۲۰۰ گرم) به طور آزاد تغذیه شدند و در اتاقی با تهویه مطبوع (۲۲±۲) درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۵۵±۵ (درصد) ۱۲ ساعت تحت نور-۱۲ ساعت چرخه تاریکی نگهداری شدند. تحقیق حاضر توسط کمیته اخلاق تحقیقات زیست پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی تایید شد. زمان سازگاری حیوان یک هفته قبل از شروع آزمایشات بود.

در این مطالعه، ۳۵ موش صحرایی به هفت گروه شامل پنج سری تقسیم شدند. مدل BPH با تزریق تستوسترون انانتات (۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به صورت زیر جلدی (SC) روزانه به مدت چهار هفته تجویز شد. به گروه T تستوسترون (۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت زیر جلدی) داده شد. گروه F فیناستراید (۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم خوراکی) + تستوسترون (۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت زیر جلدی) دریافت کردند. گروه NSO با نانوامولسیون زیره سیاه (NSO، ۱ میلی‌لیتر، خوراکی) + تستوسترون (۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم، زیرجلدی) تیمار شد. گروه‌های Qu25 و Qu50 به صورت خوراکی با دوز پایین و بالای

(سنت لویس، MO، ایالات متحده آمریکا) ارائه شدند. آمپول تستوسترون انانتات (۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) توسط صنایع شیمیایی ابوریحان (ایران) عرضه شد.

فرمول روغن دانه سیاه‌دانه-کوئرستین Qu-NSO

یک مخلوط همگن با هم زدن کوئرستین ۳٪، ۳۰٪ Tween 80 به عنوان سورفکتانت، ۱۰٪ روغن نارگیل و ۱۰٪ NSO به مدت ۱۰ دقیقه در ۵۰ درجه سلسیوس تشکیل شد (۱۵، ۱۶). ماده PEG 400 با غلظت ۲۰٪ با آب دیونیزه ۲۷٪ (حلال) مخلوط شد و به قطره فاز روغن اضافه شد تا در ۵۰ درجه سلسیوس قطره شود. برای ساختن نانو امولسیون با غلظت ۱٪/۵ کوئرستین، مانند قبل عمل شد و ۲۸/۵٪ آب دیونیزه به آن اضافه گردید. پس از خنک شدن در دمای اتاق، مخلوط با استفاده از دستگاه سونیکاتور پروب (۲۰ کیلوهرتز، ۱۵۰۰ وات، Sonics، Newtown، CT، ایالات متحده آمریکا) به مدت ۱۰ دقیقه اولتراسونیک شد. پس از این مرحله، یک سیستم دارو رسانی خود نانو امولسیون تشکیل شد و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (۲۰).

ارزیابی روغن دانه سیاه‌دانه-کوئرستین Qu-NSO

پراکندگی آبی Qu-NSO برای احراز نانوامولسیون شدن خود به خود و با وضوح مورد بررسی قرار گرفت. ثبات از طریق سه مرحله ارزیابی شد. اول، سانتیفریوژ، شامل رقیق کردن فرمول با یک محیط آبی قبل از سانتیفریوژ کردن مخلوط در ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه و سپس مشاهده ترکیب برای جداسازی فاز بود. مرحله دوم و سوم شامل چرخه‌های انجماد-ذوب و گرمایش-خنک کننده بود. ابتدا مخلوط با استفاده از آب دیونیزه به نسبت ۵۰:۱ رقیق شد. سپس به مدت دو روز در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شد و سپس اجازه داده شد ذوب شود و برای جداسازی قطعه مشاهده شود. پس از آن، مخلوط به

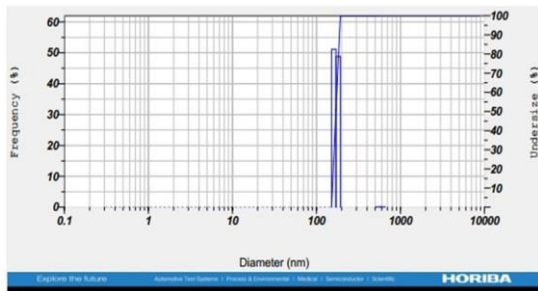
و نمودارها تهیه شد. سطح معنی داری برای تمامی مقایسه‌ها  $p < 0/05$  در نظر گرفته شد.

### نتایج

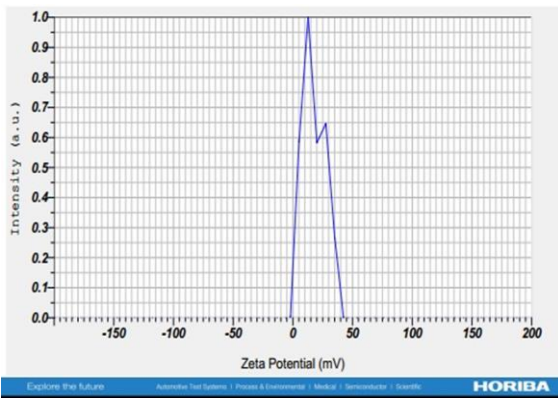
ارزیابی فرمول روغن دانه سیاه‌دانه-کوئرستین Qu-NSO

اندازه گلوبول و پتانسیل زتا

ترکیب روغن نارگیل ۱۰٪، NSO ۱۰٪، توئین ۳۰٪ و PEG 400 ۲۰٪ نشان داد که اندازه کروی برای Qu-NSO، ۱۰/۹  $\pm$  ۱۷۱/۹ نانومتر، با مقدار پتانسیل زتا ۱۷/۳+ میلی‌ولت بود که توسط طرح های مخلوط نشان داده شده است (نگاره ۱ و ۲).



نگاره ۱. ارزیابی اندازه گلوبول (nm) نانومولسیون روغن سیاه‌دانه



نگاره ۲. ارزیابی پتانسیل زتا (۲۲) نانومولسیون با تحرک الکتروفورتیک میانگین  $0/000135 \text{ cm}^2/\text{Vs}$

بررسی سطح توسط SEM

تصاویر SEM از نظر ظاهری دال بر کروی بودن و زیکول‌های تشکیل شده بودند. بررسی Qu-NSO نشان داد که اندازه متوسط ذرات Qu-NSO قطر ۱۰۰۰ نانومتر

کوئرستین (۲۵ و ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم) + تستوسترون (۵ میلی گرم بر کیلوگرم، زیرجلدی) تحت درمان قرار گرفتند. گروه‌های Qu50-NSO و Qu25-NSO به صورت خوراکی با دوز پایین و بالای خوراکی Qu-NSO (۲۵ و ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم) + تستوسترون (۵ میلی گرم بر کیلوگرم، زیرجلدی) تجویز شدند. داروها به مدت چهار هفته روزانه دریافت شد. هفتاد و دو ساعت پس از دریافت دوز نهایی، از CO2 برای معدوم کردن موش‌ها استفاده شد.

### شاخص پروستات و ارزیابی بافت

شاخص پروستات (نسبت وزن پروستات به وزن بدن، mg/g) محاسبه شد. سرم برای اندازه گیری دی هیدروتستوسترون (DHT)، آنتی ژن اختصاصی پروستات (PSA)، پارامترهای استرس اکسیداتیو، از جمله میزان مالون‌دی‌آلدئید (MDA)، سطح سوپراکساید دیسموتاز (SOD) و فعالیت گلوکوتیون پراکسیداز (GPx) به دست آمد (۱۱). تمام مراحل طبق دستورالعمل سازنده کیت ZellBio (GmbH) انجام شد.

### ارزیابی بافت پروستات

هر سه لوب پروستات (قدامی، پشتی و جانبی) جمع آوری شد و طول، عرض و ارتفاع تعیین شد و برای رنگ آمیزی هماتوکسیلین و اتوزین (H&E) نگهداری شد. اندازه و ضخامت سلول‌های اپیتلیال در بافت پروستات برای شناسایی اثر روغن دانه سیاه‌دانه-کوئرستین Qu-NSO بر BPH با امتیازهای ۰ (طبیعی)، ۱ (افزایش جزئی)، ۲ (افزایش قابل توجه) و ۳ (افزایش شدید) ارزیابی شد.

### تحلیل آماری

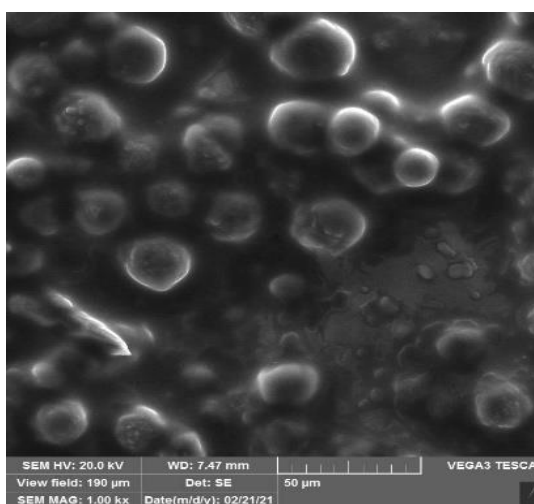
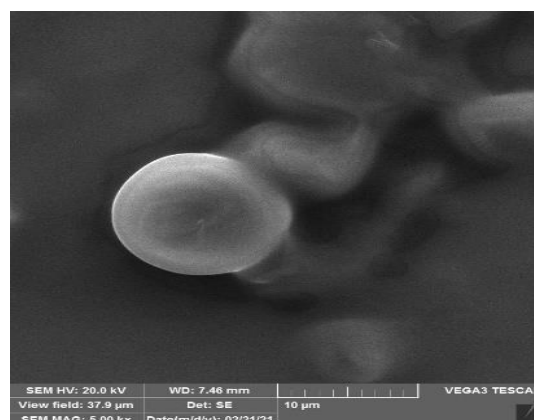
داده ها با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه، آزمون های آماری (Kruskal-Wallis, One Way ANOVA) . با استفاده از نرم افزار گرافپد پریسم ۹ تجزیه و تحلیل گردید

طور موثر وزن پروستات، شاخص پروستات، PSA و DHT را کاهش داد ( $p < 0.001$ ). وزن بدن نسبت به گروه کنترل تغییر معنی‌داری نشان نداد. نانوامولسیون کوئرستین با دوز پایین منجر به کاهش قابل توجه وزن پروستات (۰.۹٪)، شاخص پروستات (۰.۴۶٪) و DHT نیز (۰.۶۱٪) شد. تجویز نانوامولسیون کوئرستین (۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) باعث کاهش قابل توجه وزن بدن (۰.۲۵٪) شد. گروه کوئرستین ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم و نانوامولسیون سیاه‌دانه تفاوت معنی‌داری در شاخص پروستات و DHT نسبت به گروه T نشان دادند. قابل ذکر است، کاهش معنی‌داری در PSA تنها در هنگام استفاده از نانوامولسیون به عنوان روش تحویل دارو شناسایی شد (جدول ۱).

اثر روغن دانه سیاه‌دانه-کوئرستین Qu-NSO بر بافت پروستات

هایپرپلازی واضح غددی در ساختار بافتی پروستات پس از ۲۸ روز دریافت تستسترون زیر جلدی در گروه T مشاهده شد. این هایپرپلازی از نوع پایپلار بصورت چین خوردگی داخل آلوئولی با پوشش استوانه‌ای بلند بود (نگاره‌های ۴ و ۵ a). در گروه F، سلول‌های آلوئولی استوانه‌ای کوتاه بودند و هایپرپلازی کمی به نگاره پایپلاری داشتند (نگاره ۵ b). اندازه لومن غدد پروستات در موش‌های تحت درمان با فیناستراید در مقایسه با گروه T کاهش نشان داد. در گروه‌های Q25 (نگاره ۴ و ۵ c) و Qu50 (نگاره‌های ۴ و ۵ d) رشد پایپلاری با پوشش استوانه‌ای بلند هنوز مانند گروه T هایپرپلاستیک بود. در گروه‌های Qu25NSO (نگاره‌های ۴ و ۵ e) و Qu50NSO (نگاره‌های ۴ و ۵ f) پوشش بلند و هایپرپلازی پایپلاری نسبت به گروه T بهبود یافت که منجر به برجستگی پایپلاری کمتر و سلول‌های با ساختار بافت‌شناسی نزدیک به معمول شد. کمترین اپیتلیوم

است. با این حال، از تجزیه و تحلیل SEM (20000x) مشخص شد که ذرات خوشه‌بندی شده‌اند و به صورت دانه‌های ریز در گروه‌های Qu-NSO ظاهر شدند (نگاره ۳). ذرات با اندازه بین ۱۰۰ تا ۱۰۰۰ نانومتر برای ذرات با چهارچوب میکرونانو مناسب هستند. علاوه بر این، بدلیل وجود کوئرستین در ساختار نانوامولسیون، اندازه ذرات آن بزرگتر از DLS است.



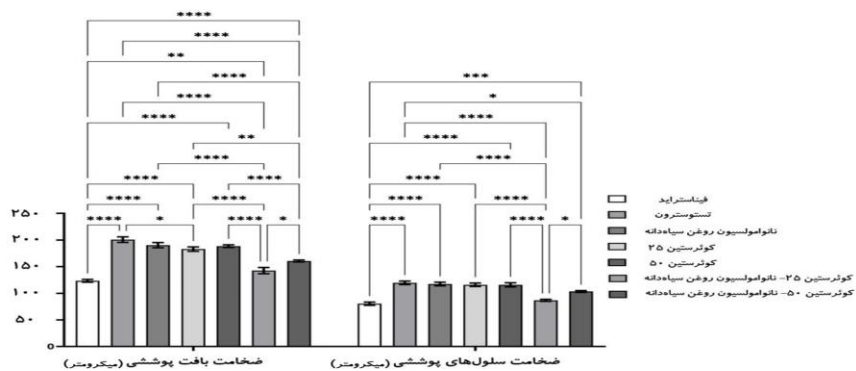
نگاره ۳. تصویر میکروسکوپ الکترونی SEM از Qu-NSO

اثر روغن دانه سیاه‌دانه-کوئرستین Qu-NSO بر وزن بدن، وزن پروستات، شاخص پروستات، آنتی ژن اختصاصی پروستات و دی‌هیدروتستوسترون نتایج نشان دهنده افزایش وزن بدن، وزن پروستات، شاخص پروستات و DHT در گروه T است. فیناستراید به

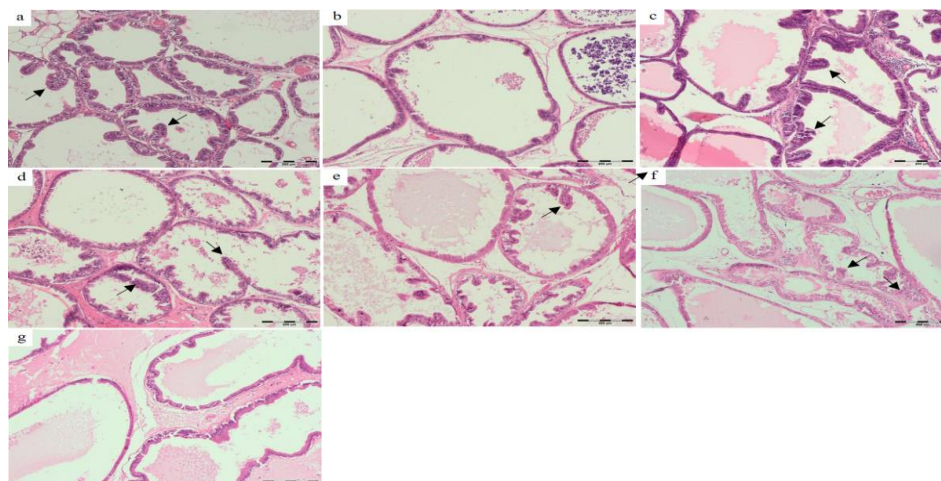
جدول ۱. اثر روغن دانه سیاه‌دانه-کوئرستین Qu-NSO بر وزن بدن، وزن پروستات، شاخص پروستات، آنتی‌ژن اختصاصی پروستات (PSA)، و دی‌هیدروتستوسترون (DHT) مدل موش BPH القا شده با تستوسترون.

گروه	وزن بدن (گرم)	وزن پروستات (میلی‌گرم)	شاخص پروستات	PSA (ng/ml)	DHT (ng/ml)
T	12/6±257/5	0/07±2/6	0/3±10/06	0/01±0/7	0/05±3/6
F	8/5±263/7	0/08±1/6	0/3±6/16	0/02±0/34	0/01±2/96
NSO	10/8±255	0/05±1/57	0/3±6/07	0/02±0/44	0/04±1/67
Qu25	10/4±252/5	0/05±1/65	0/3±6/59	0/02±0/63	0/03±2/8
Qu50	12/5±253/7	0/04±1/6	0/2±6/06	0/02±0/5	0/04±2/2
Qu25NSO	12/9±235	0/02±1/4	0/2±5/3	0/03±0/33	0/03±1/4
Qu50NSO	7/4±5242/5	0/02±1/57	0/05±6/03	0/02±0/51	0/04±1/6

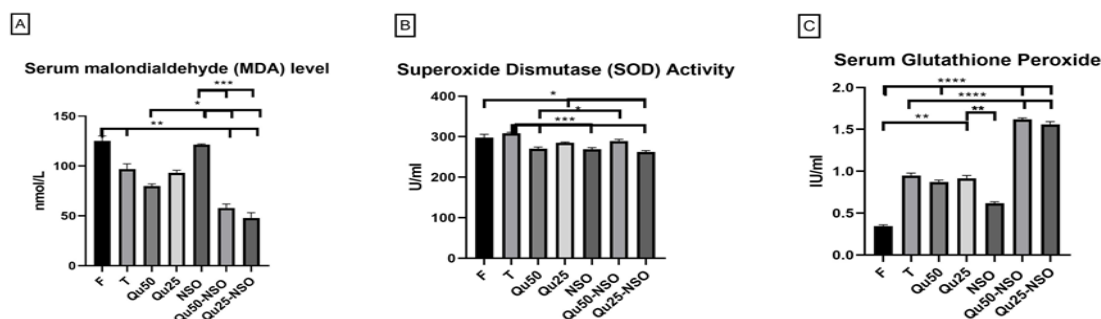
T: تستوسترون انانتات (5 میلی‌گرم بر کیلوگرم). F: فیناستراید (1 میلی‌گرم بر کیلوگرم، خوراکی). NSO: نانوامولسیون روغن سیاهدانه (1 میلی لیتر، خوراکی). Qu25: 25 میلی‌گرم بر کیلوگرم کوئرستین. Qu50: 50 میلی‌گرم بر کیلوگرم کوئرستین. Qu25NSO: (25 کوئرستین- نانوامولسیون روغن سیاهدانه میلی‌گرم بر کیلوگرم). Qu50NSO: (50 کوئرستین- نانوامولسیون روغن سیاهدانه میلی‌گرم بر کیلوگرم). // مقادیر میانگین  $\pm$  SE (n = 6) هستند. \*  $p < 0/05$  و \*\*  $p < 0/01$  در مقایسه با گروه تستسترون (T). #  $p < 0/05$ ، و ##  $p < 0/01$  در مقایسه با گروه فیناستراید (F). تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از آزمون توکی انجام شد.



نگاره ۴. نمودار مقایسه ای اثرات محافظتی روغن دانه سیاه‌دانه-کوئرستین بر پروستات هایپرپلاستیک



نگاره ۵. برش بافتی نشان دهنده اثرات محافظتی روغن دانه سیاه‌دانه-کوئرستین بر پروستات هایپرپلازی یافته (رنگ آمیزی H&E، ۲۰۰×) - پیکان: برجستگی پاپیلاری. نوار مقیاس=۱۰۰ میکرومتر. اثرات نانومولسیون روغن سیاه‌دانه حاوی Qu، فیناستراید و نانومولسیون روغن سیاه‌دانه بر BPH (a). گروه T تستوسترون، (b) گروه فیناستراید F، (c) گروه NSO نانومولسیون روغن سیاه‌دانه، (d) و (e) گروه‌های Qu50 و Qu25، و (f) و (g) گروه‌های Qu50NSO و Qu25NSO هستند.



نگاره ۶. اثر Qu-NSO SNEDDS بر (A) سطح MDA، (B) فعالیت SOD و (C) سطح GPx سرم: همه موش‌ها به مدت ۲۸ روز تحت درمان با تستوسترون (T، ۵ mg/kg SC) بودند. همچنین گروه F فیناستراید، گروه‌های (۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، Qu50 و Qu25 کوئرستین (۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن روزانه)، گروه‌های Qu50NSO و Qu25NSO نانومولسیون روغن سیاه‌دانه حاوی کوئرستین (۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم / کیلوگرم) و گروه NSO نانومولسیون روغن سیاه‌دانه را دریافت کردند.

پایین و بالای کوئرستین به طور معنی‌داری فعالیت MDA سرم را در مقایسه با گروه T (تفاوت میانگین: ۳۸/۸۹ nmol/L،  $p < 0/05$ ) و گروه F (تفاوت میانگین: ۶۷/۲۲ nmol/L،  $p = 0/0045$ ) کاهش داد (نگاره ۶A). میانگین فعالیت SOD سرم در گروه Qu25-NSO نسبت به گروه‌های T به طور معنی‌داری کاهش یافت (میانگین تفاوت: ۴۵/۷۰ U/ml،  $p = 0/0004$ ). درمان Qu-NSO به

آلئولی و چین خوردگی داخل مجرا در گروه‌های F و Qu50NSO مشاهده شد (نگاره ۵g). اثر روغن دانه سیاه‌دانه-کوئرستین Qu-NSO بر میزان MDA، SOD و GPx سرم میانگین MDA سرم در گروه‌های F نسبت به گروه T به طور معنی‌داری افزایش یافت (میانگین اختلاف: ۲۸/۳۳ nmol/L،  $P < 0/05$ ). درمان Qu-NSO با دوزهای

آنزیمهای خونی و هم ابعاد و پاتولوژی پروستات بهبود می‌بخشد (۱۳).

کاهش سطح DHT تنها زمانی قابل مشاهده بود که از Qu-NSO (۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم) استفاده شد. مطالعات انسانی اثر کاهشی استفاده از کوئرستین را بر سطح سرمی DHT نشان داده است. همچنین به خوبی توضیح داده شده است که اثرات کوئرستین بر روی سیستم آندروژنی عمدتاً توسط مدولاسیون گیرنده آندروژن (AR) به جای تولید DHT انجام می‌شود. مشخص شده است که افزایش فراهمی زیستی کوئرستین در ریزمحیط تومور به آن اثر مهاری قابل توجهی بر روی ژن AR به شیوه‌ای وابسته به دوز می‌دهد (۱۴).

التهاب مزمن ناشی از تستوسترون در سلول‌های اپیتلیال پروستات به تدریج منجر به هایپرپلازی سلولی می‌شود که منجر به احتباس ادرار، تکرر ادرار، عفونت‌های دستگاه ادراری و سنگ مثانه می‌شود (۱۵). این مطالعه با هدف افزایش تحویل کوئرستین و ارزیابی اثرات ترکیبی Qu-NSO در برابر یک مدل موش BPH انجام شد.

یک مدل موش BPH القا شده با تستوسترون معمولاً برای آزمایش عوامل بالقوه ضد BPH استفاده می‌شود (۲۶). القای BPH در این مدل‌ها با افزایش وزن، اندازه، حجم، شاخص و سطح DHT پروستات مشخص می‌شود. نشانگرهای پاتولوژیک BPH شامل بزرگ شدن حفره غدد، تکثیر اپیتلیوم پروستات و سلول‌های استرومایی و ارتشاح سلول‌های التهابی است (۱۶). این مطالعه نشان داد که درمان BPH ناشی از تستوسترون در موش‌ها با Qu-NSO به مدت ۲۸ روز به طور قابل توجهی پیشرفت BPH را مهار کرد، همانطور که با کاهش وزن پروستات، شاخص پروستات و شدت هیستوپاتولوژی مشهود است. علاوه بر این، درمان با Qu-NSO در ۲۵ و ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم و ۵ میلی گرم بر کیلوگرم فیناستراید باعث افزایش سطح

طور معنی‌داری فعالیت SOD را در مقایسه با گروه‌های دریافت کننده فقط کوئرستین افزایش داد (تفاوت میانگین:  $22.68 \text{ U/ml}$ ,  $p > 0.0095$ ) (نگاره B ۶).

تفاوت معنی‌داری در سطوح GPx بین گروه‌های Qu-NSO در مقابل T ( $p > 0.001$ )، F ( $p > 0.001$ )، Qu25 ( $p < 0.001$ ) و Qu50 ( $p > 0.001$ ) مشاهده شد. تفاوت معنی‌داری در فعالیت SOD در بین گروه‌های Qu25-NSO و Qu50-NSO وجود نداشت (نگاره C ۶).

### بحث

هدف اصلی از توزیع ترکیبی کوئرستین با روغن دانه سیاه‌دانه افزایش فعالیت بیولوژیکی کوئرستین بعنوان دارودر برابر BPH بود. این بر اساس استفاده از روغن دانه سیاه‌دانه، با فعالیت ثابت آن در بافت‌های پروستات، به عنوان ماده تشکیل دهنده روغن NSO بود. فرمول روغن دانه سیاه‌دانه - کوئرستین Qu-NSO از طریق طراحی تجربی برای بهبود کارایی با کنترل اندازه و شارژ نانوامولسیون انجام شد. نانوامولسیون برای تحویل کوئرستین بهترین پایداری ذخیره‌سازی حرارتی و دسترسی زیستی خوب را نشان داد. مطالعه Yusuf و همکاران تایید کردند که نانوذرات کوئرستین به دلیل آزادسازی کنترل شده کوئرستین از زمینه پلیمری (نانوذرات) پایدارتر و موثرتر از کوئرستین آزاد هستند. مکانیسم احتمالی افزایش فعالیت بیولوژیکی پس از بارگذاری کوئرستین در نانوذرات پلیمری عمدتاً به دلیل تغییر در نفوذپذیری غشاء، جذب و پیوند نانوذرات با غشای سلولی است (۱۲).

گزارش شده است که دوزهای NSO بارگذاری شده با کوئرستین به طور معنی‌داری تکثیر سلولی پروستات، وزن پروستات و وزن بدن را کاهش می‌دهد. این مطالعه نشان داد که مخلوط کوئرستین و روغن دانه سیاه‌دانه در فرمول Qu-NSO کارایی کوئرستین را در مدیریت BPH هم از نظر



بوسیله NSO به طور معنی‌داری شدت جراحات پاتولوژی را با دوزهای ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم کاهش داد (۱۳). کار قبلی Hiipakka و همکاران در سال ۲۰۰۲ نشان دادند که پلی فنول‌های چای سبز باعث کاهش تولید DHT و تکثیر سلول‌های پروستات می‌شود. محتوای پلی فنلی سیاه‌دانه که  $\alpha 5$  ردوکتاز را مهار می‌کند، به طور بالقوه با اثرات مفید آن مرتبط است. zerafatjou و همکاران در سال ۲۰۲۱ پیشنهاد کردند که ترکیبات غنی از اسیدهای چرب مانند دانه کدو تنبل می‌تواند از تکثیر سلول‌های پروستات با کاهش سطح تستوسترون و DHT جلوگیری کند (۱۹). نانومولسیون‌های مبتنی بر روغن دانه سیاه‌دانه به دلیل خواص منحصر به فرد، کارایی بیولوژیکی بالا و پایداری مورد توجه قرار گرفته است. به دلیل کارایی بیولوژیکی بالا، نانومولسیون‌های مبتنی بر روغن دانه زیره سیاه اخیراً توجه قابل توجهی را به خود جلب کرده است. هنگامی که با کوئرستین معمولی مقایسه می‌شود، کارایی آن در درجه اول به فراهمی زیستی بالا، فعالیت سطحی بالا و سمیت کم آن نسبت داده می‌شود. Qu-NSO به دلیل پایداری بالا به عنوان یک مکمل غذایی و برای درمان پزشکی استفاده شده است (۱۳).

استرس اکسیداتیو ناشی از عدم تعادل رادیکال آزاد-آنتی‌اکسیدان در توسعه BPH بسیار مهم است. تولید بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن در طول التهاب منجر به استرس اکسیداتیو می‌شود که باعث آسیب بافتی و بیماری‌های مرتبط با اکسیداتیو می‌شود. بیماران BPH اغلب MDA خون، نشانگر استرس اکسیداتیو، و کاهش سطح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند گلوکوتاتیون پراکسیداز و GSH را نشان می‌دهند (۲۰). این مطالعه روی توانایی Qu-NSO در کاهش آسیب اکسیداتیو ناشی از تستوسترون کار کرد. این مطالعه همچنین سطوح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و

تستوسترون در سرم موش و بافت پروستات شد. این درمان اثر مهاری در داخل بدن Qu-NSO را در برابر  $\alpha 5$  ردوکتاز تأیید کرد و اثرات مشاهده شده از یک الگوی وابسته به دوز پیروی کرد. روش تحویل داروی نانومولسیون دوز موثر دارو را برای کاهش بیشتر شاخص پروستات افزایش داده است.

کوئرستین یک فلاونول رژیم برجسته است که معمولاً در میوه‌ها و سبزیجات یافت می‌شود. اثرات ضد هایپرپلازی آن شامل القای از دست دادن زنده ماندن سلولی، آپوپتوز و آثار هیستوپاتولوژی است. در نمای میکروسکوپی شاهد برگشت موثر و معنی‌دار اپیتلیوم بلند و هایپرپلازی یافته به حالت کوتاه تر طبیعی در گروه‌های دریافت کننده Qu-NSO نسبت به گروه تستسترون بود. بهترین وضعیت در گروه آخر یعنی تیمار Qu50NSO شبیه گروه فیناستراید F دیده شد.

مطالعات Fu و همکاران در سال ۲۰۲۲ نشان داد که کوئرستین می‌تواند بدون ایجاد سمیت برای کبد یا برای سیستم تولید مثلی، BPH را در موش‌های صحرایی کاهش می‌دهد. کوئرستین به عنوان مؤلفه حیاتی مسئول درمان BPH در متون علمی شناخته شده است. این ترکیب باعث کاهش تکثیر و کاهش استرس اکسیداتیو همراه افزایش بیان Nrf2 در سلول‌های پوششی پروستات هایپرپلازی یافته افزایش موجب کاهش BPH می‌شود (۱۷).

فیناستراید با مهار فعالیت  $\alpha 5$  ردوکتاز، با حفظ آنتی‌اکسیدان‌ها و کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از DHT موجب کاهش سطح DHT خون می‌شود. گیاهان دارویی مورد استفاده برای درمان BPH در کاهش سطح DHT پلاسما و پروستات نقش داشته و مطابق با تحقیقات قبلی، وزن و اندازه پروستات را کاهش می‌دهد (۱۸). در یک تحقیق با افزایش PSA، DHT، حجم پروستات و شاخص پروستات در مدل BPH موش صحرایی اشاره کرد و درمان

- Hyperplasia. Evid Based Complement Alternat Med. 2022;2022:8962889.
- Miernik A, Gratzke C. Current Treatment for Benign Prostatic Hyperplasia. Dtsch Arztebl Int. 2020;117(49):843-54.
  - Jia Q, Cao H, Shen D, Li S, Yan L, Chen C, et al. Quercetin protects against atherosclerosis by regulating the expression of PCSK9, CD36, PPAR $\gamma$ , LXR $\alpha$  and ABCA1. Int J Mol Med. 2019;44(3):893-902.
  - Shah M, Shrivastva VK, Mir MA, Sheikh WM, Ganie MA, Rather GA, et al. Effect of quercetin on steroidogenesis and folliculogenesis in ovary of mice with experimentally-induced polycystic ovarian syndrome. Front Endocrinol (Lausanne). 2023;14:1153289.
  - Sul OJ, Ra SW. Quercetin Prevents LPS-Induced Oxidative Stress and Inflammation by Modulating NOX2/ROS/NF-kB in Lung Epithelial Cells. Molecules. 2021;26(22).
  - Matter WF, Brown RF, Vlahos CJ. The inhibition of phosphatidylinositol 3-kinase by quercetin and analogs. Biochem Biophys Res Commun. 1992;186(2):624-31.
  - Alizadeh SR, Ebrahimzadeh MA. Quercetin derivatives: Drug design, development, and biological activities, a review. Eur J Med Chem. 2022;229:114068.
  - Khader M, Eckl PM. Thymoquinone: an emerging natural drug with a wide range of medical applications. Iran J Basic Med Sci. 2014;17(12):950-7.
  - Pottoo FH, Ibrahim AM, Alammam A, Alsinan R, Aleid M, Alshehhi A, et al. Thymoquinone: Review of Its Potential in the Treatment of Neurological Diseases. Pharmaceuticals (Basel). 2022;15(4).
  - Buya AB, Beloqui A, Memvanga PB, Pr at V. Self-Nano-Emulsifying Drug-Delivery Systems: From the Development to the Current Applications and Challenges in Oral Drug Delivery. Pharmaceutics. 2020;12(12).
  - Zandeh-Rahimi Y, Panahi N, Hesaraki S, Shirazi-Beheshtiha SH. Protective Effects of Phoenixin-14 Peptide in the Indomethacin-

شاخص‌های پراکسیداسیون لیپیدی را با آنالیز هموزنه های بافت پروستات ارزیابی کرد.

نتایج نشان داد که تیمار ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم Qu-NSO با کاهش سطح MDA، پراکسیداسیون لیپیدی را در بافت پروستات کاهش داد. سطوح SOD به دلیل درمان Qu-NSO بالا بود. محتوای غنی از فنول و فلاونوئید Qu-NSO، همانطور که از طریق تجزیه و تحلیل فیتوشیمیایی نشان داده شده است، اثر آنتی‌اکسیدانی قوی اعطا می‌کند. این ترکیبات در گیاهان مختلف اثرات بیولوژیکی گسترده ای از جمله اثرات ضد التهابی و آنتی‌اکسیدانی از خود نشان می‌دهند (۲۱). در واقع Qu-NSO در کاهش وزن پروستات و خواص آنتی‌اکسیدانی مانند افزایش فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی برتر از گروه فیناستراید بود.

این نتایج پتانسیل Qu-NSO را برای افزایش وضعیت آنتی‌اکسیدانی در موش‌های BPH القاء شده با تستوسترون، افزایش سطوح SOD و GPx برجسته می‌کند. افزایش نرخ پراکسیداسیون لیپیدی در گروه کنترل با کاهش قابل توجه نرخ در نانوامولسیون سیاه دانه با گروه Qu مقابله شد و اثرات آنتی‌اکسیدانی محافظ در برابر BPH را تقویت کرد. این نتایج نشان می‌دهد که روش نانو می‌تواند اثرات مفید کوئرستین را بر نشانگرهای هیپرپلازی پروستات منتقل کند و دوز موثر را کاهش دهد.

قدردانی

واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران، از این کار حمایت کرد.

#### فهرست منابع

- Azadeh F, Gharib FZ, Hosseini SM. Effects of Glycyrrhiza Glabra (Licorice) Root Extract on the Hormones, Serum Biochemicals, and Hematological Parameters in Dogs with Benign Prostatic

- Induced Duodenal Ulcer: An Experimental Study. *Int J Pept Res Ther*. 2022;28(1):43.
12. Yusuf A, Almotairy ARZ, Henidi H, Alshehri OY, Aldughaim MS. Nanoparticles as Drug Delivery Systems: A Review of the Implication of Nanoparticles' Physicochemical Properties on Responses in Biological Systems. *Polymers (Basel)*. 2023;15(7).
  13. Sadeghimanesh A, Gholipour S, Torki A, Amini-Khoei H, Lorigooini Z, Habtemariam S. Inhibitory effects of *Nigella sativa* seed oil on the testosterone-induced benign prostatic hyperplasia in rats. *Biomedicine (Taipei)*. 2021;11(1):19-25.
  14. Lu X, Yang F, Chen D, Zhao Q, Chen D, Ping H, et al. Quercetin reverses docetaxel resistance in prostate cancer via androgen receptor and PI3K/Akt signaling pathways. *Int J Biol Sci*. 2020;16(7):1121-34.
  15. Lee SWH, Chan EMC, Lai YK. The global burden of lower urinary tract symptoms suggestive of benign prostatic hyperplasia: a systematic review and meta-analysis. *Scientific reports*. 2017;7(1):7984.
  16. Siegel YI, Zaidel L, Hammel I, Korczak D, Lindner A. Histopathology of benign prostatic hyperplasia after failure of hyperthermia treatment. *Br J Urol*. 1991;68(4):383-6.
  17. Fu W, Chen S, Zhang Z, Chen Y, You X, Li Q. Quercetin in Tonglong Qibi decoction ameliorates testosterone-induced benign prostatic hyperplasia in rats by regulating Nrf2 signalling pathways and oxidative stress. *Andrologia*. 2022;54(9):e14502.
  18. Hiipakka RA, Zhang HZ, Dai W, Dai Q, Liao S. Structure-activity relationships for inhibition of human 5 $\alpha$ -reductases by polyphenols. *Biochem Pharmacol*. 2002;63(6):1165-76.
  19. Zerfatjou N, Amirzargar M, Biglarkhani M, Shobeirian F, Zoghi G. Pumpkin seed oil (*Cucurbita pepo*) versus tamsulosin for benign prostatic hyperplasia symptom relief: a single-blind randomized clinical trial. *BMC Urol*. 2021;21(1):147.
  20. Kramer G, Mitteregger D, Marberger M. Is benign prostatic hyperplasia (BPH) an immune inflammatory disease? *Eur Urol*. 2007;51(5):1202-16.
  21. Csikós E, Horváth A, Ács K, Papp N, Balázs VL, Dolenc MS, et al. Treatment of benign prostatic hyperplasia by natural drugs. *Molecules*. 2021;26(23):7141.

