

## طراحی، ساخت، مشخصه‌یابی و ارزیابی زیستی نانوذرات آلومینا پوشش داده شده با پلیمر کیتوسان

الهام رستمی<sup>۱\*</sup>، الهام حویزی<sup>۲</sup>

۱- گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۲- گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

\*مسئول مکاتبات: e.rostami@scu.ac.ir

DOI: 10.22034/ascij.2021.687825

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۵/۰۳

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۱/۲۵

### چکیده

امروزه شاهد پیشرفت روز افزون نانوتکنولوژی کاربرد در زمینه های مختلف پزشکی، دارورسانی و... می باشیم. سیستم های انتقال داروی نوین، منجر به بهبود عملکرد در زمینه بیماری های مختلف از جمله انواع سرطان گشته است. نانو ذرات آلومینا به دلیل خواص حرارتی کاربردی وسیعی در این زمینه دارند. در کنار کاربردهای فراوان این نانوذرات، متاسفانه یکی از مخاطرات بحث سمیت نانوذرات آلومینا است. همچنین اصلاح سطحی این نانوذرات با بیوپلیمر کیتوسان، منجر به بهبود خاصیت زیست در دسترس پذیری این نانوذرات می شود. در این تحقیق نانوذرات آلومینا توسط بیوپلیمر کیتوسان پوشش داده شده اند. در این مطالعه تیمار سلول های هلا به وسیله آلومینا و آلومینا/کیتوسان برای ۲۴ ساعت انجام پذیرفت و غلظت IC50 برای آن مشخص گردید. اثرات سمیت این ترکیبات با استفاده از آزمون MTT و با رنگ آمیزی های آکریدین اورنج/ اتیدیوم بروماید مورد سنجش قرار گرفت. آنالیزهای های اندازه گیری سایز ذرات، نشان دهنده سایز حدوداً ۷۰ نانومتر می باشد. بررسی های FTIR بر روی نانوذرات آلومینا و آلومینا/کیتوسان انجام شده است که به خوبی اصلاح سطحی نانوذرات آلومینا را نشان می دهد. همچنین عکسهای TEM از نانوذرات گرفته شده است که همگی تایید کننده سایز مناسب این نانوذرات برای سیستم انتقال دارو می باشد. نتایج مربوط به ارزیابی زیستی نانوذرات به خوبی نشان دهنده ی پوشش دهی موفق آنها توسط پلیمر کیتوسان بود. به علاوه نتایج نشان داد که نمونه های آلومینا به صورت وابسته دوز دارای سمیت بالاتر بوده و غلظت IC50 آنها حدود ۲۵ میلی مولار بود در حالی که نمونه های پوشش دار به طور کاملاً معنی داری دارای سمیت پایین تری بوده و در غلظتهای ۵ میلی مولار به پایین سمیت معنی داری بر سلول های هلا نداشتند.

کلمات کلیدی: نانوذرات آلومینا، کیتوسان، زیست تخریب پذیر، سمیت.

### مقدمه

بهبود، تشخیص، مشاهده و کنترل سیستم های زیستی می باشد. اندازه های کوچک ذرات منجر به سهولت عبور از سلول های اپیتلیال و آندوتلیال می شود و براحتی جذب جریان گردش خون و لنف و همچنین

نانوتکنولوژی علمی است که با موادی در اندازه های نانو و با خواصی کاملاً جدید سر و کار دارد. این علم با موادی در اندازه های ۱ تا ۱۰۰ نانومتر سر و کار دارد (۲۴). از کاربردهای مختلف نانوتکنولوژی در

اگرچه مطالعات بسیاری برای شناسایی و بررسی پتانسیل اثرات سمیت نانوذرات انجام گرفته اما مکانیسم‌های القاء سمیت به وسیله نانو ذرات تا به امروز مشخص نگردیده است. نشان داده شده است که نانوذرات اکسید تیتانیوم، با غلظت یک دهم که سبب مهار قابل توجه رشد سلولی می‌شود، سمیت سلولی را به وسیله افزایش حداکثری سطح رونویسی عوامل آنتی اکسیدانی در سلول القا می‌کند (۲). به صورت مشابه ای در یک آزمایش حیوانی بر موش صحرایی نانوذرات آلومینا سبب آسیب DNA و فروپاشی کروموزومی در شرایط درون تنی شدند. به علت این که نانوذرات از نظر ابعاد حد فاصل بین توده ماده و اتم ها قرار دارند بنابراین اندازه ذرات به عنوان یک پارامتر مهم در تعیین اثرات زیستی نانوذرات مورد توجه قرار گرفته است اما به هر حال اثر اندازه ذره بر سمیت سلولی هنوز به خوبی شناخته نشده است (۲۸). به عنوان مثال مشخص شده است که نانو ذرات اکسید تیتانیوم با ابعاد ۲۰ نانومتر در مقایسه با نانوذراتی با ابعاد بزرگتر (تا حد ۲۵۰ نانومتر که ابعاد زیرمیکرونی محسوب می‌گردند) باعث اثرات ریوی حادتری در مدل درون تنی در موش صحرایی شده است.

هدف از این تحقیق پوشش دهی نانو ذرات آلومینا با کیتوسان و بررسی سمیت این نانوذرات بر روی رده سلولی HeLa با استفاده از آزمون MTT و با رنگ آمیزی‌های آکریدین اورنج/ اتیدیوم بروماید می‌باشد.

#### مواد و روش‌ها

در این پژوهش کیتوسان با وزن مولکولی متوسط از شرکت مرک خریداری گردید. حلال دی متیل فرمامید بدون آب و استون از شرکت کم لب تهیه شدند. آلومینا از شرکت نانوپیشگامان مشهد خریداری گردید.

امکان دسترسی به بافت‌ها و اندام‌های حساس مثل مغز، قلب، طحال، مغز استخوان و گره‌های لنفوی را دارا می‌باشند (۸، ۱۹، ۲۶). امروزه استفاده از نانوذرات، منجر به نقاط نوید بخشی در درمان انواع سرطان‌ها گردیده است. انواع نانوذرات در این زمینه‌ها کاربرد دارند. انواع نانوذرات پلیمری، لیپیدی، سرامیکی و فلزی در زمینه های انتقال دارو کاربرد فراوان دارند. سایز کوچک نانوذرات منجر به وارد شدن این ذرات به جریان گردش خون و توانایی ورود آنها به کوچکترین مویرگ‌ها در بافت‌ها می‌باشد. از این توانایی نانوذرات برای ورود به بافت سرطانی و افزایش نفوذپذیری (EPR effect) در این بافتها استفاده می‌گردد (۲۶). در کنار کاربردهای گسترده این نانوذرات در زمینه‌های مختلف نانو تکنولوژی، فراماسیوتیکس و دارورسانی هدفمند، بحث سمیت این نانوذرات مطرح است. به دلیل کاربردهای متنوع و گسترده این نانوذرات، زمینه بررسی مطالعات سمیت آنها از درجه اهمیت بالایی برخوردار است. برخی از مطالعات نشان دادند که نانوذرات آلومینا منجر به القای آپاپتوز در سلولها می گردند. همچنین بعضی از مطالعات در محیط سلولی نشان‌دهنده تخریب DNA و کروموزومی در مدل‌های موش صحرایی شده است (۲۵).

در این میان کاربرد نانو اکسیدهای فلزی به عنوان حامل داروهای ضدسرطان به خوبی مشهود است. نانو ذرات اکسید آهن، روی، مس و آلومینا بهترین مثالها در این زمینه می باشند. ژاوو و همکاران، آلومینا عامل دار شده با پروتیین را برای درمان سرطان سیستم ایمنی به کار بردند. اکسیفپرز و همکارانش از آلومینای متخلخل عامل دار شده به عنوان حامل پروتیین سرم گاوی برای درمان هدفمند سلول‌های توموری Hep G2 استفاده کرد (۱۰).

ساخت کشور آلمان. برای اندازه‌گیری سایز نانوذرات به کار گرفته شد.

**کشت و مشاهده مورفولوژی سلول‌های HeLa:** در این پژوهش سلول‌های سرطانی هلا از انستیتو پاستور تهران خریداری شده و در شرایط انکوباتور (شرکت سینا، ایران) در دمای ۳۷ درجه، کربن دی اکسید ۵٪ تکثیر شدند. سلول‌های HeLa در پلیت‌ها ۹۶ خامه به تعداد  $10^4 \times 1$  در هر چاهک کشت داده شدند. همچنین تیمار ۲۴ ساعته این سلول‌ها به وسیله غلظت ۲۵ میلی مولار آلومینا و آلومینا/کیتوسان انجام پذیرفت (۹، ۱۲، ۲۱) و سپس تغییرات مورفولوژی سلول‌ها در زیر میکروسکوپ معکوس (Bioered, USA) مشاهده شدند.

**انجام تست MTT:** سلول‌های HeLa در پلیت‌ها ۹۶ خانه به تعداد  $10^4 \times 1$  در هر چاهک کشت داده شدند. همچنین تیمار ۲۴ ساعته این سلول‌ها به وسیله غلظت ۱، ۵، ۱۰، ۲۵ و ۵۰ میلی‌مولار آلومینا و آلومینا/کیتوسان انجام پذیرفت به منظور بررسی میزان بقای سلولی با روش MTT پلیت‌های سلولی از انکوباتور خارج شده، محیط رویی به همراه دارو خارج شده و با PBS شستشو داده شد. سپس به هر چاهک  $100 \mu\text{m}$  از محلول MTT با غلظت ۰/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اضافه شد و پلیت به مدت ۳ تا ۴ ساعت در انکوباتور قرار داده شد. پس از این مدت محتویات کشت را خارج کرده و ۱۰۰ میکرولیتر DMSO (دی‌متیل سولفوکساید) به هر چاهک اضافه شد. پس از آن‌که هر چاهک به آرامی پیتپاژ شده و به مدت ۱۵ دقیقه در انکوباتور قرار گرفتند. پس از آن پلیت در دستگاه الایزایدردر (Fax 2100, USA) قرار گرفت و جذب نوری آن با طول موج ۵۷۰ نانومتر خوانده شد و درصد زیستایی محاسبه شد. برای هر کدام از غلظت‌ها ۳ تکرار در نظر گرفته شد. همچنین

**تهیه نانوذرات آلومینا پوشش داده توسط پلیمر کیتوسان:** ابتدا محلول ۱۵۰ میلی لیتر دی متیل فرمامید خشک حاوی ۱/۵ گرم کیتوسان همزده می‌شود. سپس ۰/۴۷ گرم معادل ۲ میلی‌مول (EPO( 2,3 epoxypropoxy propyltrimethoxy silane) اضافه می‌شود. مخلوط به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد همزده می‌شود. پس از آن ۲/۵ گرم آلومینا به محلول اضافه می‌شود و دوباره مخلوط به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد همزده می‌شود و در نهایت نانوذرات با فیلتراسیون جدا می‌شوند (۶، ۷).

**دستگاه طیف‌سنج مادون قرمز:** دستگاه Fourier Transform Infrared Spectroscopy-FTIR یا طیف سنج مادون قرمز از تجهیزات آزمایشگاهی برای دستیابی به طیف مادون قرمز جذبی یا نشری یک ماده جامد، مایع یا گاز است. از این دستگاه برای بررسی قرار گرفتن کیتوسان بر روی نانو آلومینا استفاده شد. مدل دستگاه MIRACEL 10 ساخت شرکت شیمادزو می باشد (۳).

**دستگاه میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM):** میکروسکوپ الکترونی عبوری ابزاری ویژه برای تعیین ساختار و مورفولوژی مواد محسوب می‌شود که مطالعات ریزساختاری مواد با قدرت تفکیک بالا و بزرگنمایی خیلی زیاد را امکان‌پذیر می‌باشد. این دستگاه جهت بررسی مورفولوژی و ساختار نانوذرات آلومینا استفاده گردید. مدل دستگاه Zeiss- می‌باشد. قبل از انجام آنالیز نمونه‌ها به نسبت ۱ به ۲ رقیق شدند. همچنین رنگ آمیزی توسط یورانیل استات به مدت ۳۰ ثانیه انجام شد. همچنین عکسها از نمونه تازه تهیه شده، گرفته شد.

**دستگاه اندازه‌گیری سایز ذرات:** دستگاه اندازه‌گیری سایز ذرات مدل ANALYSEET22 FRITSCH

بررسی مورفولوژی سلول‌های هلا با استفاده از میکروسکوپ اینورت نشان داد که سلول‌های HeLa تحت تیمار ۲۴ ساعته با غلظت ۲۵ میلی‌مولار نانوذره آلومینا و آلومینا/کیتوسان از نظر ظاهری با سلول‌های گروه کنترل تفاوت بارزی داشتند. بدین صورت که در سلول‌های تیمار یافته چروکیدگی و کاهش حجم سلول، متراکم شدن هسته، کاهش حجم سیتوپلاسم، از دست دادن مورفولوژی طبیعی سلول‌ها و ارتباط و تعامل سلولی و ایجاد ظاهر سلول‌های منفرد دیده شد. که بیانگر این مسئله است که ترکیبات دارای اثر سمی اند و سبب پیشبرد سلول به سمت مرگ سلولی می‌شوند (شکل ۳).

**آزمون زیست‌پذیری:** آزمون MTT برای بررسی اثر آلومینا و آلومینا/کیتوسان بر رده سلولی HeLa در غلظت‌های ۱، ۵، ۱۰، ۲۵ و ۵۰ میلی‌مولار انجام گرفت، نتایج آماری نشان داد که زیست‌پذیری سلول‌های HeLa بعد از مواجهه با این دوزها از آلومینا و آلومینا/کیتوسان به صورت وابسته به دوز و به طور معنی‌داری نسبت به نمونه ی کنترل کاهش یافت. همچنین نتایج نشان داد که میزان سمیت آلومینا/کیتوسان در مقایسه با آلومینا به طور معنی‌داری کاهش یافته است. نتایج آماری میزان زیست‌پذیری سلول‌ها با دوزهای مختلف در شکل ۴ نشان داده شده است. همچنین غلظت IC50 بدست آمده آلومینا بر سلول‌های هلا در دوز ۲۵ میلی‌مولار تعیین گردید که میزان بقای سلول‌های هلا در این دوز برای آلومینا/کیتوسان حدود ۷۵ درصد تخمین زده شد (نمودار ۱).

**نتایج حاصل از رنگ آمیزی آکریدین اورنج/ اتیدیوم بروماید:** آکریدین اورنج رنگی است که توسط سلول‌های زنده جذب شده و وارد DNA سلول زنده می‌شود و در زیر میکروسکوپ یک نمای سبز رنگ به کروماتین سلول زنده می‌دهد و سلول‌هایی که دچار مرگ سلولی شده‌اند در زیر

در پلِت ۳ چاهک نمونه کنترل (بدون تیمار) برای هر غلظت در نظر گرفته شد.

**انجام رنگ آمیزی آکریدین اورنج/ اتیدیوم بروماید:** در این روش ابتدا سلول‌ها در پلِت ۹۶ خانه به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند. سپس سلول‌ها تحت تیمار با غلظت IC50 آلومینا قرار گرفته به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند و در ادامه محیط رویی از چاهک خارج و به آن محلول آکریدین اورنج/ اتیدیوم بروماید با غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر اضافه گردید و بعد از ۵ دقیقه به وسیله میکروسکوپ فلئورسنت (Olympus, Japan) مشاهده و عکسبرداری شد (۴، ۵).

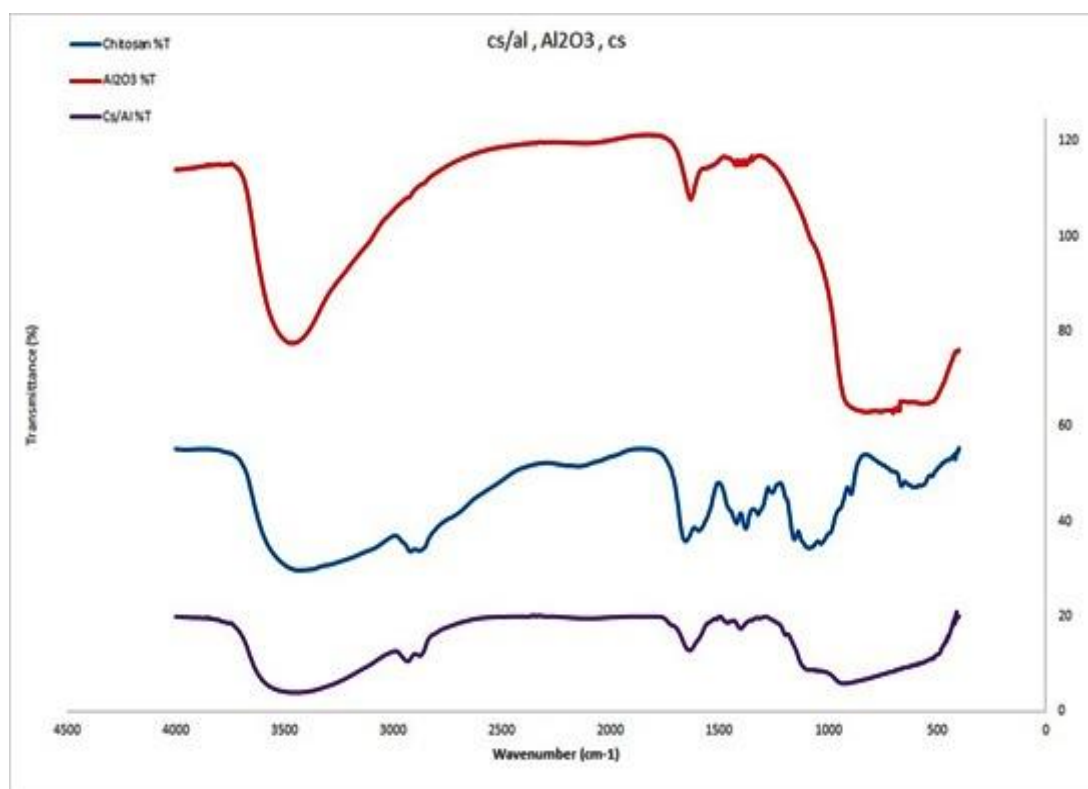
## نتایج

پیک‌های مربوط به دستگاه مادون قرمز در ناحیه ۲۸۰۰-۳۴۰۰ نشادهنده حضور گروه‌های هیدروکسیل مربوط به کیتوسان می‌باشند. پیک‌های ناحیه ۱۳۰۰-۱۴۰۰ مربوط به پیوندهای آمیدی کیتوسان می‌باشد در محدوده ۹۰۰ تا ۱۰۰۰ پیک‌های مربوط به آلومینا وجود دارد. طیف بنفش رنگ به خوبی گروه‌های عاملی کیتوسان را بروی آلومینا نشان می‌دهد (۱۳، ۱۴، ۱۷، ۲۰). عکس‌های میکروسکوپ الکترونی عبوری به خوبی سایز تقریباً ۱۰۰ نانومتری ذرات را تایید می‌کند و همچنین نشان می‌دهد که ذرات نسبتاً گرد و کروی می‌باشند. این امر در بحث دارورسانی این ذرات قابل اهمیت می‌باشد (۱۶، ۲۹، ۳۱). همچنین عکس‌ها حاکی از آن است که نانوذرات آلومینا نسبتاً جدا از هم هستند. دستگاه اندازه‌گیری سایز، اندازه ذرات در حدود ۷۰ نانومتر را تایید می‌کند. همچنین توزیع اندازه ذرات به شکل گوسین گواه خوبی بر توزیع یکنواخت این ذرات می‌باشد.

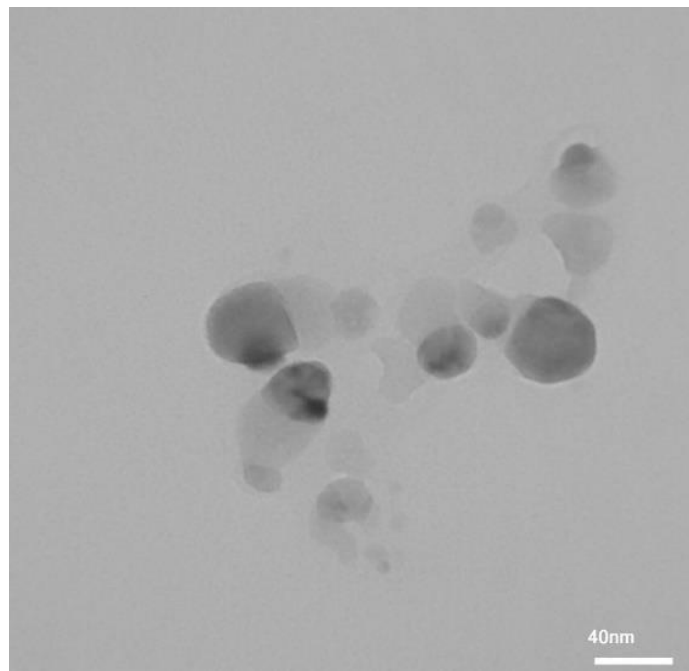
**مورفولوژی سلول‌ها:** به منظور بررسی مورفولوژی سلول‌ها از میکروسکوپ معکوس مشاهده شد.

گروه کنترل کشیده، شفاف و سبز رنگ که نشان دهنده زنده بودن آنهاست و سلول‌های گروه تحت تیمار، به رنگ نارنجی نارنجی، چروکیده که تاییدی بر مرگ سلولی آپوپتوزی در گروه سلولی تیمار شده بودند که این علائم در سلول‌های گروه تیمار با الومینا در مقایسه با گروه تیمار با آلومینا/کیتوسان شدیدتر و بارزتر بود (شکل ۴).

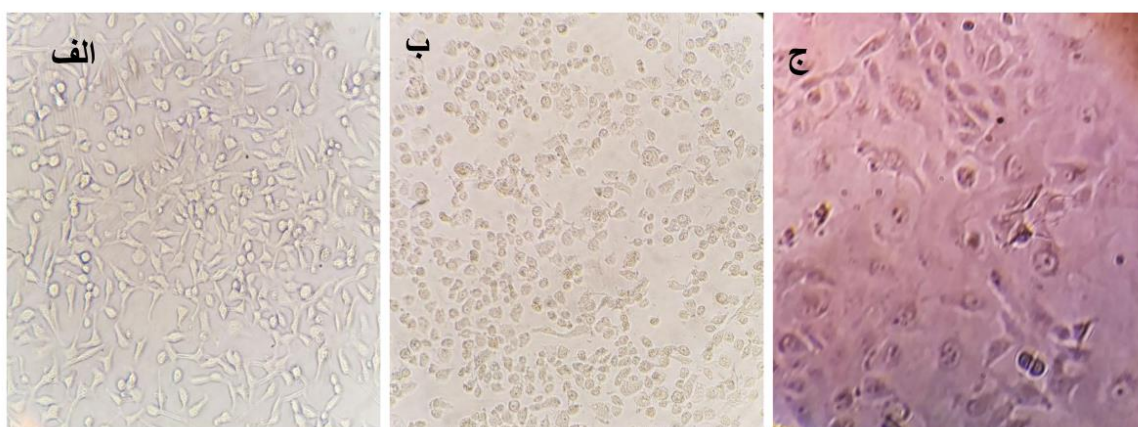
میکروسکوپ رنگ نارنجی دیده می‌شوند. در این بررسی سلول‌های هلا پس از ۲۴ ساعت تیمار شدن و قرار گرفتن در انکوباتور توسط آکریدین اورنج/ اتیدیوم بروماید رنگ‌آمیزی شده تا میزان ریخت-شناسی آپوپتوزی آنها مشخص شد. در سلول‌های HeLa تحت تیمار با غلظت ۲۵ میلی‌مولار سلول‌ها به صورت منفرد در مقایسه با گروه کنترل که سلول‌ها در کنار هم و به شکل متراکم بودند. همچنین سلول‌های



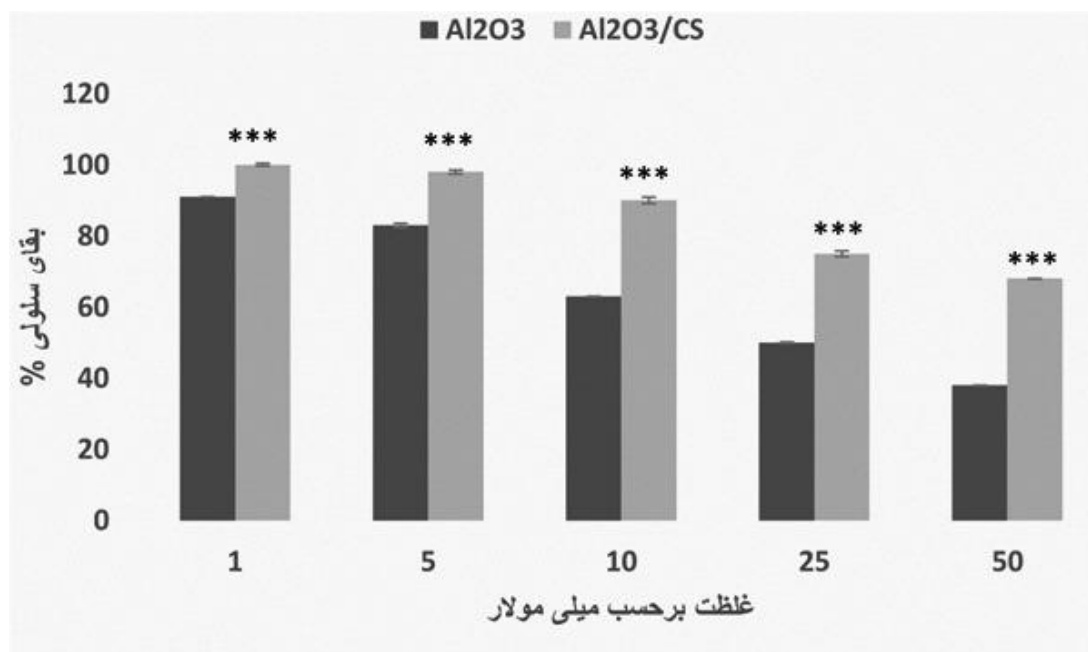
شکل ۱- طیف مادون قرمز کیتوسان (آبی رنگ)، آلومینا (قرمز رنگ) و آلومینا/کیتوسان (بنفش رنگ)



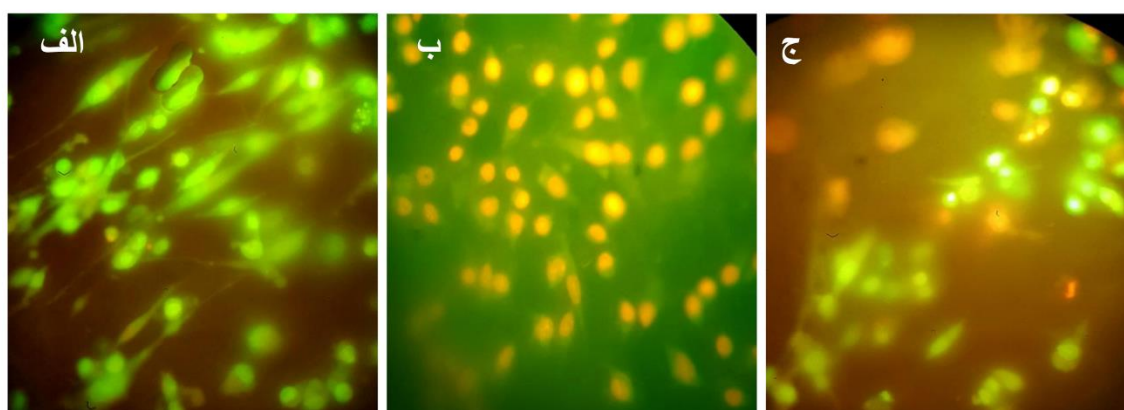
شکل ۲- تصویر عکس میکروسکوپ الکترونی عبوری از نانوذرات آلومینا/کیتوسان



شکل ۳- نتایج حاصل از بررسی مورفولوژی با استفاده از میکروسکوپ اینورت برای سلولهای HeLa الف: مورفولوژی سلول های هلا با استفاده از میکروسکوپ اینورت در نمونه کنترل بعد از ۲۴ ساعت ب: مورفولوژی سلول هلا با اینورت نمونه تیمار با ۲۵ میلی مولار آلومینا به مدت ۲۴ ساعت، در تصاویر نمونه تیمار شده چروکیدگی و کاهش حجم سلول، متراکم شدن هسته، کاهش حجم سیتوپلاسم، از دست دادن مورفولوژی طبیعی سلولها و ارتباط و تعامل سلولی و نیز ایجاد ظاهر سلولهای منفرد دیده شد. ج: مورفولوژی سلول هلا با اینورت نمونه تیمار با ۲۵ میلی مولار آلومینا/ کیتوسان به مدت ۲۴ ساعت. ۲۰X



نمودار ۱-الف- بررسی زیست پذیری سلول‌ها با روش MTT در روز اول بر سلول‌های HeLa در غلظت‌های ۱، ۵، ۱۰، ۲۵ و ۵۰ میلی مولار تحت تیمار با آلومینا و آلومینا/کیتوسان، غلظت ۲۵ میلی مولار به عنوان IC<sub>50</sub> آلومینا در تیمار ۲۴ ساعته رده سلولی HeLa اندازه گیری شد. نتایج به صورت سه بار تکرار بوده است.



شکل ۴- بررسی آپوپتوز با استفاده از رنگ آمیزی اکریدین اورنج /تیدیوم برماید سلول‌های HeLa با میکروسکوپ فلوروسنت. الف : مورفولوژی سلول‌های هلا با استفاده از میکروسکوپ اینورت در نمونه کنترل بعد از ۲۴ ساعت ب : مورفولوژی سلول هلا با اینورت نمونه تیمار با ۲۵ میلی مولار آلومینا به مدت ۲۴ ساعت، در تصاویر نمونه تیمار شده چروکیدگی و کاهش حجم سلول، متراکم شدن هسته، کاهش حجم سیتوپلاسم، از دست دادن مورفولوژی طبیعی سلول‌ها و ارتباط و تعامل سلولی و نیز ایجاد ظاهر سلول‌های منفرد دیده شد. ج: مورفولوژی سلول هلا با اینورت نمونه تیمار با ۲۵ میلی مولار آلومینا/کیتوسان به مدت ۲۴ ساعت. ۴۰X.

### بحث

به سلول‌ها یا اندام‌های ویژه مورد استفاده قرار می‌گیرد. سامانه‌های دارورسانی، می‌توانند با هدف قرار دادن تومورها، به افزایش غلظت نقطه‌ای دارو و افزودن لیگاند به سطوح نانوذرات برای اتصال به

مطالعه اثرات نانوذرات بر پدیده‌های زیستی یکی از داغ‌ترین مباحث و موضوعات روز دنیا شده است. نانو تکنولوژی عالوه بر کاربردی که در صنعت دارد، به طور گسترده‌ای در معالجه بیماری‌ها و دارورسانی

ما به صورت وابسته به غلظت سمیت سلولی نانوذرات افزایش می‌یابد (۲۲، ۲۳).

یکی از مهمترین مکانیسم‌های سمیت نانوذرات را می‌توان به تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن تعمیم داد به طوری که با تأثیرات منفی بر عملکرد اندامک‌های داخل سلولی منجر به مرگ سلولی خواهد شد (۱).

در مطالعات مختلف از پلیمرهای متنوعی برای پوشش دهی نانو ذرات استفاده شده است که دارای نقش-های بیولوژیک متنوعی در زمینه‌های مختلف مانند مهندسی بافت، انتقال دارو و سرطان بوده‌اند و برای اینکه استفاده از نانوذرات در سیستم های زیستی افزایش یابد بررسی خاصیت توکسیک آنها و تلاش در جهت کاهش سمیت آنها امری ضروری می باشد. یکی از پلیمرهایی که در این زمینه بسیار کارا و مورد توجه است کیتوسان می‌باشد که با دارا بودن مزیت-های فراوانی از جمله آبدوستی بالا و زیست‌سازگاری مناسب می‌تواند اثرات جانبی سمیت نانوذرات را به صورت چشمگیری کاهش دهد (۱۱). در این زمینه مطالعاتی انجام گرفته و اظهار شده که کیتوسان در غلظت‌های بالا نیز پلیمر خاصیت زیست سازگاری داشته و حتی می‌تواند اثرات مثبتی در افزایش بقاء سلول‌ها داشته باشند اگرچه مکانیسم اساسی درگیر در این فرآیند هنوز به صورت کامل شناخته نشده است (۱۸).

کاروناکاران و همکاران به بررسی خواص نانو ذرات آلومینا پرداختند و اعلام کردند که خاصیت سمیت این نانوذرات بسته به غلظت و اندازه نانوذرات بوده و آلومینا بر روی رده 3T3 تا غلظت ۲۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر سمیت چشم گیر سلولی وجود نداشت (۱۵).

همچنین در مطالعه‌ای که توسط اسلیوینسکا انجام گرفت به بررسی اثرات توکسیک نانو ذرات آلومینا بر رده سلولی لنفوسیتی پرداختند و نتایج آنها نشان داد

هدف خاص و بهبود دارورسانی منجر شوند. با توجه به کاربرد نانو اکسیدهای فلزی به عنوان حامل‌های داروهای ضدسرطان، بحث بررسی سمیت این نانوذرات از جمله آلومینا حایز اهمیت می باشد. نانو ذرات آلومینا به دلیل خواص حرارتی کاربردی وسیعی در این زمینه دارند. در کنار کاربردهای فراوان این نانوذرات، متاسفانه یکی از مخاطرات بحث سمیت نانوذرات آلومینا است. پلیمر زیست سازگار و زیست تخریب پذیر کیتوسان، سمیت این نانوذرات را کاهش می‌دهد. بررسی داده‌های دستگاه مادون قرمز، پیکها ی ۱۳۰۰-۱۴۰۰ به خوبی نشانیدن کیتوسان بر سطح نانوذرات آلومینا (پیوندهای ایمیدی) را تایید می‌کند. عکس‌های میکروسکوپ الکترونی عبوری به خوبی سایز تقریباً ۱۰۰ نانومتری ذرات را تایید می‌کند و همچنین نشان می‌دهد که ذرات نسبتاً گرد و کروی می‌باشند. این امر در بحث دارورسانی این ذرات قابل اهمیت می‌باشد.

به طور کلی رهش دارو از نانوذرات گرد و کروی با آهنگ یکنواختتری رهش می‌یابد و این امر، منجر به بهبود سینتیک رهش می‌گردد. همچنین سایز کوچک نانوذرات (در حد ۱۰۰ نانومتر) منجر به عبور بهتر از رگ‌ها و ورود به بافت هدف می‌شود.

در این مطالعه به منظور بررسی اثر پوشش‌دهی کیتوسان بر زیست سازگاری نانوذرات آلومینا از آزمون سمیت سلولی استفاده شد. بدین منظور رده سلولی هلا مورد استفاده قرار گرفت و نتایج بیان کننده تأثیر مثبت معنی‌دار پوشش‌دهی کیتوسان بر افزایش میزان زنده بودن سلول‌ها به ویژه در غلظت‌های پایین‌تر می‌باشد. مطالعات مختلفی به منظور بررسی اثر نانوذرات بر سلول های مختلف انجام گرفته و نتایج نشان دهنده تأثیر وابسته به غلظت نانوذرات بر سمیت سلولی است و هم راستا با نتایج



#### منابع

1. Ates M., Demir V., Arslan Z., Daniels J., Farah I.O., Bogatu C., 2015. Evaluation of alpha and gamma aluminum oxide nanoparticle accumulation, toxicity, and depuration in *Artemia salina* larvae. *Environmental Toxicology*, 30(1): 109-118.
2. Bartsch M., Saruhan B., Schmücker M. 1999. Novel low-temperature processing route of dense mullite ceramics by reaction sintering of amorphous SiO<sub>2</sub>-coated  $\gamma$ -Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> particle nanocomposites. *Journal of the American Ceramic Society*, 82(6): 1388-1392.
3. Balasubramanyam A., Sailaja N., Mahboob M. 2009. In vivo genotoxicity assessment of aluminium oxide nanomaterials in rat peripheral blood cells using the comet assay and micronucleus test. *Mutagenesis*, 24(3): 245-251.
4. Carmichael J., DeGraff W.G, Gazdar A.F. 1987. Evaluation of a tetrazolium-based semiautomated colorimetric assay: assessment of chemosensitivity testing. *Cancer research*, 47(4): 936-942.
5. Chen E., Ruvalcaba M., Araujo L. 2008. Ultrafine titanium dioxide nanoparticles induce cell death in human bronchial epithelial cells. *Journal of Experimental Nanoscience*, 3(3): 171-83.
6. Chen X.Y., Zhang Z.J., Li X.L. 2008. Controlled hydrothermal synthesis of colloidal boehmite ( $\gamma$ -AlOOH) nanorods and nanoflakes and their conversion into  $\gamma$ -Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanocrystals. *Solid State Communications*, 145(7-8): 368-373.
7. Chung W.S, Allen N.J., Eroglu C., 2015. Astrocytes control synapse formation, function, and elimination. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 7(9): a020370.
8. Colvin V.L. 2003. The potential environmental impact of engineered nanomaterials. *Nature Biotechnology*, 21(10): 1166-1170.

که نانو ذرات آلومینا در غلظت‌های بالای ۰/۵ میلی مولار سبب کاهش بقای این سلول‌ها می‌گردند که مطالعات آنها نشان داد که نانو ذرات آلومینا به صورت وابسته به غلظت به واسطه آسیب به DNA و القاء اکسیداتیو منجر به مرگ سلول‌ها می‌گردند (۲۷).

در همین راستا Trif و همکاران اعلام کردند که نانوذرات فلزی را با پلیمرهایی مانند PLGA و کیتوسان پوشش‌دهی کردند و نتایج آنها نشان داد پوشش‌های نانوذرات تاثیرات مستقیمی بر خواص سایتوتوکسیک و سرنوشت درون سلولی نانوذرات دارند که به صورت وابسته به غلظت عمل می‌کنند. همچنین آنها تایید کردند استفاده از نانوذرات پوشش داده برای انتقال دارو در بیماری‌هایی مانند سرطان بسیار موثر می‌باشد (۳۰).

#### نتیجه‌گیری

نانوذرات آلومینا به دلیل خواص حرارتی، کاربردی وسیعی در زمینه دارو رسانی دارند. در کنار کاربردهای فراوان این نانوذرات، متاسفانه یکی از مخاطرات بحث سمیت نانوذرات آلومینا است. در این پژوهش از پلیمر کیتوسان به منظور پوشش دهی نانو ذرات آلومینا استفاده شد و مشاهدات حاصل تایید کرد که پوشش‌دهی این نانوذرات با این پلیمر طبیعی نه تنها تاثیرات سمیت نانوذرات را کاهش داده بلکه در برخی غلظت‌ها سبب بهبود میزان بقای سلول‌های هلا نیز گردیده است که با نتایج حاصل از مطالعات قبلی نیز مطابقت دارد.

#### تقدیر و تشکر

نویسندگان این مقاله از دانشگاه شهید چمران بجهت تامین هزینه با گرنت به شماره SCU.SC98.31316 قدرانی و تشکر می‌نمایند.

17. Liu L., Zong Z.M., Liu Q. 2018. A novel galactose-PEG-conjugated biodegradable copolymer is an efficient gene delivery vector for immunotherapy of hepatocellular carcinoma. *Biomaterials*, 184: 20-30.
18. Lee C., Choi J.S., Kim I., Oh K.T., Lee E.S., Park E.S. 2013. Long-acting inhalable chitosan-coated poly(lactic-co-glycolic acid) nanoparticles containing hydrophobically modified exendin-4 for treating type 2 diabetes. *International Journal of Nanomedicine*, 8: 2975-2983.
19. Lockman P.R, Koziara JM, Mumper RJ, et al., 2004. Nanoparticle surface charges alter blood-brain barrier integrity and permeability. *Journal of Drug Targeting*, 12(9-10): 635-641.
20. Lukiw W.J., Percy M.E., Kruck T.P., 2005. Nanomolar aluminum induces pro-inflammatory and pro-apoptotic gene expression in human brain cells in primary culture. *Journal of inorganic biochemistry*, 99(9): 1895-1898.
21. Nel A, Xia T, Mädler L. 2006. Toxic potential of materials at the nanolevel. *science*, 311(5761): 622-627.
22. Nogueira D.J, Arl M, Koerich JS, Simioni C, Ouriques LC, Vicentini DS, et al., 2019. Comparison of cytotoxicity of alpha-Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> and eta-Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanoparticles toward neuronal and bronchial cells. *Toxicology in vitro*, 61: 104596.
23. Nogueira D.J, Vaz VP, Neto OS, Silva M, Simioni C, Ouriques LC, et al., 2020. Crystalline phase-dependent toxicity of aluminum oxide nanoparticles toward *Daphnia magna* and ecological risk assessment. *Environmental Research.*, 182: 108987.
24. Oberdörster G, Oberdörster E, Oberdörster J., 2005. An emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles supplemental web sections. *Environ Health Perspect*, 113(7): 823-839.
9. Depledge M., Pleasants L., Lawton J. 2010. Nanomaterials and the environment: the views of the Royal Commission on Environmental Pollution (UK). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 29(1): 1-4.
10. Feng X., Chen A., Zhang Y. 2015. Application of dental nanomaterials: potential toxicity to the central nervous system. *International Journal of Nanomedicine*, 10: 3547.
11. Guo M., Rong W.T., Hou J., Wang D.F., Lu Y., Wang Y. 2013. Mechanisms of chitosan-coated poly(lactic-co-glycolic acid) nanoparticles for improving oral absorption of 7-ethyl-10-hydroxy camptothecin. *Nanotechnology*, 24(24): 245101.
12. Gurr J.R., Wang A.S., Chen C.H. 2005. Ultrafine titanium dioxide particles in the absence of photoactivation can induce oxidative damage to human bronchial epithelial cells. *Toxicology*, 213(1-2): 66-73.
13. Hanafy N.A., Quarta A., Di Corato R. 2017. Hybrid polymeric-protein nanocarriers (HPPNC) for targeted delivery of TGF $\beta$  inhibitors to hepatocellular carcinoma cells. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 28(8): 1-11.
14. Hussain S.M., Frazier J.M. 2002. Cellular toxicity of hydrazine in primary rat hepatocytes. *Toxicological Sciences*, 69(2): 424-432.
15. Karunakaran G., Suriyaprabha R., Rajendran V., Kannan N., 2015. Effect of contact angle, zeta potential and particles size on the in vitro studies of Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> and SiO<sub>2</sub> nanoparticles. *IET Nanobiotechnology*, 9(1): 27-34.
16. Kim K.S., Hur W., Park S.J. 2010. Bioimaging for targeted delivery of hyaluronic acid derivatives to the livers in cirrhotic mice using quantum dots. *ACS Nano*, 4(6): 3005-3014.

29. Sun Y., Dai C., Yin M. 2018. Hepatocellular carcinoma-targeted effect of configurations and groups of glycyrrhetic acid by evaluation of its derivative-modified liposomes. *International journal of nanomedicine*, 13: 1621.
30. Trif M., Florian P.E., Roseanu A., Moisei M., Craciunescu O., Astete C.E. 2015. Cytotoxicity and intracellular fate of PLGA and chitosan-coated PLGA nanoparticles in Madin-Darby bovine kidney (MDBK) and human colorectal adenocarcinoma (Colo 205) cells. *Journal of biomedical Materials Research Part A*, 103(11): 3599-3611.
31. Zheng M., Wang S., Liu Z. 2018. Development of temozolomide coated nano zinc oxide for reversing the resistance of malignant glioma stem cells. *Materials Science and Engineering: C*, 83: 44-50.
25. Oesterling E, Chopra N, Gavalas V, et al., 2008. Alumina nanoparticles induce expression of endothelial cell adhesion molecules. *Toxicology Letters*, 178(3): 160-166.
26. Semley L., 2012. Public motherhood in West Africa as theory and practice. *Gender and History*, 24(3): 600-616.
27. Sliwinska A., Kwiatkowski D., Czarny P., Milczarek J., Toma M., Korycinska A. 2015. Genotoxicity and cytotoxicity of ZnO and Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanoparticles. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 25(3): 176-183.
28. Sticker C.B, Story M.C., 2008. The Mercury Detox and Amalgam Fillings Forum Detoxing Heavy Metals, Removing Amalgam Fillings, Understanding Mercury Poisoning Our Most Popular Videos, Audio Clips, and Articles. *J Neuroimmune Pharmacol*, 3(4): 286-295.

