

## تأثیر پوشش نشاسته بر میزان زیست‌سازگاری نانوذرات مغناطیسی آهن بر رده سلولی MDA-MB-231

هانیه پورقاسم\*<sup>۱</sup>، محسن محمدی<sup>۲</sup> و رحیم جهان‌دیده<sup>۳</sup>

- ۱- گروه زیست‌شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده علوم پایه، واحد تنکابن، دانشگاه آزاد اسلامی، تنکابن، ایران
- ۲- گروه زیست‌شناسی بیوشیمی، دانشکده علوم پایه، واحد تنکابن، دانشگاه آزاد اسلامی، تنکابن، ایران
- ۳- گروه مهندسی پزشکی، دانشکده علوم پایه، واحد تنکابن، دانشگاه آزاد اسلامی، تنکابن، ایران

تاریخ ثبت اولیه: ۱۳۹۶/۰۵/۱۲، تاریخ دریافت نسخه اصلاح شده: ۱۳۹۶/۰۸/۲۰، تاریخ پذیرش قطعی: ۱۳۹۶/۰۹/۱۵

### چکیده

هدف از این پژوهش، تهیه و بررسی اثرات سایتوتوکسیک نانوذرات آهن زیست‌سازگار شده با نشاسته بر رده سلولی MDA-MB-231 می‌باشد. در این تحقیق، نانوذرات اکسید آهن با پوشش نشاسته به روش هم‌رسوبی تهیه گردید. جهت ارزیابی‌های سلولی، نانوذرات مغناطیسی پوشش‌دار و بدون پوشش با غلظت‌های ۲۴۰، ۱۸۰، ۱۲۰، ۶۰ و ۳۰  $\mu\text{g/ml}$  بر رده سلولی MDA-MB-231 در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت تیمار گشت. در نهایت اثر زیست‌تابی سلول با استفاده از آزمون MTT مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج طیف‌سنجی XRD وجود فاز مگنتیت به همراه مقادیر بسیار اندک از اکسیدهای دیگر آهن را نشان داد. بررسی‌های میکروسکوپی نشان دادند که ذرات دارای مورفولوژی کروی شکل، با اندازه تقریبی ۸۰-۱۰۰ nm می‌باشند. همچنین نتایج آنالیز FT-IR وجود پوشش در سطح ذرات و یکنواختی آن را اثبات نمود. ارزیابی‌های سلولی نشان دادند که نانوذرات اکسید آهن فاقد پوشش در غلظت ۳۰  $\mu\text{g/ml}$  و نانوذرات اکسید آهن با پوشش نشاسته در غلظت ۱۸۰  $\mu\text{g/ml}$  در زمان ۲۴ ساعت باعث مرگ ۵۰ درصد از سلول‌های MDA-MB-231 شدند. نتایج این پژوهش می‌تواند گامی مهم در جهت بهبود درمان سرطان با نانوذرات مغناطیسی به روش هایپرترمیا باشد. پوشش زیست‌سازگار ایجاد شده باعث کاهش سمیت سلولی نانوذرات مغناطیسی می‌گردد که حتی آن را برای کاربردهای دیگری مانند افزایش دهنده وضوح تصویر در MRI مناسب می‌سازد.

**واژه‌های کلیدی:** سرطان سینه، سمیت موضعی، هم‌رسوبی، MTT، هایپرترمیا.

### ۱- مقدمه

سرطان پستان با افزایش سن بالا می‌رود [۱]. علی‌رغم وجود روش‌های درمانی مختلف، هنوز هم جراحی به عنوان اولین روش درمانی برای سرطان سینه محسوب می‌شود. درمان‌های رایج ممکن است اندازه تومور را کاهش دهند، اما گذرا بوده

سرطان پستان بیماری چند عاملی و پیچیده‌ای است که عوامل ژنتیکی و محیطی زیادی در آن دخالت دارد. شانس ابتلا به

\* **عهده‌دار مکاتبات:** هانیه پورقاسم

**نشانی:** مازندران، تنکابن، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن، دانشکده علوم پایه، گروه زیست‌شناسی سلولی و مولکولی

**تلفن:** ۰۱۱-۵۴۲۷۱۱۰۵، **دورنگار:** ۰۱۱-۵۴۲۷۱۱۰۵، **پست الکترونیکی:** haniyeh.porghasem@gmail.com

شده است [۷]. پوشش پلیمری موجب حفظ هسته و خواص مغناطیسی آن و عمل گرا کردن نانوذرات می شود. به علاوه پوسته پلیمر باعث جلوگیری از تجمع نانوذرات، افزایش پایداری، کاهش سمیت و مدت زمان ماندگاری آنها می شود [۸].

نشاسته پلیمری با زنجیره بلند از مونومرهای D-گلوکز، غیرخطی و آبدوست است آمیلوز و آمیلوپکتین ترکیب اصلی نشاسته را تشکیل می دهند. زمانی که نشاسته در آب حل و حرارت داده می شود منجر به ژلاتینی شدن آن خواهد شد. از ویژگی های قابل توجه آن زیست سازگاری، زیست تجزیه پذیری، غیرسمی بودن و داشتن گروه عاملی OH<sup>-</sup> است [۹].

نانوذرات مغناطیسی به صورت ذاتی آبدوست هستند و همین امر از پراکنده شدن آنها در آب جلوگیری می کند و باعث می شود آنها به دور هم جمع شده و آگلومره شوند. با قرار گرفتن نشاسته بر سطح نانوذرات مغناطیسی، نانوذرات در آب پراکنده می شوند. پوشش نشاسته از نانوذرات مغناطیسی در برابر اکسیداسیون محافظت به عمل می آورد و پایداری کلونیدی آنها را تقویت می کند و همچنین از ذرات هنگامی که در معرض سیستم بیولوژیکی قرار می گیرند محافظت می کند. اصلاح سطوح نانوذرات مغناطیسی نه تنها از آگلومره شدن و اکسیداسیون آنها ممانعت می کند بلکه آنها را زیست سازگار نیز می کند [۱۰].

جیان و همکاران در مورد موش بعد از مواجهه با نانوذرات ۲۰ و ۶۰ نانومتری، افزایشی در ترشح سیتوکین های التهابی گزارش کردند. این مشاهدات نشان می دهد که استفاده از انواع سلول ها برای بررسی سم شناسی اهمیت زیادی دارد، زیرا نتایج متنوعی از رده های مختلف سلولی بدست می آید [۱۱].

در بررسی های راجو و همکاران، نمونه های دیگری نیز وجود دارد که نشان دهنده تفاوت در نتایج حاصل از سمیت این نوع از نانوذرات است. سمیت سلولی ناشی از نانوکوره های مغناطیسی حاوی غلظت های مختلفی از آهن نیز در مطالعه

و بر بقای بیمار اثر مثبتی ندارند و احتمال عود بیماری نیز وجود دارد [۲]. یکی از روش های امیدبخش برای غلبه این مشکل، استفاده از نانوذرات خیلی ریز با سایز ۱ تا ۱۰۰ nm می باشد [۳].

نانوذرات آهن اکسید کاربرد زیست پزشکی گسترده ای نسبت به سایر نانوذرات مغناطیسی دارند. زیست سازگار بودن با شرایط محیط بدن، پایداری و تهیه آسان موجب توسعه استفاده آنها شده است. به عنوان مثال مگنتیت ( $Fe_3O_4$ ) و ماگمیت ( $Fe_2O_3$ ) از این گروه نانوذرات هستند که در بیشتر کاربردهای دارویی و پزشکی با انواع بسپارها پوشش داده می شوند [۴].

استفاده از نانوذراتی که دارای خاصیت مغناطیسی بوده مانند نانوذرات مغناطیسی اکسید آهن این امکان را فراهم می کند که حرکت آنها را در خون توسط میدان مغناطیسی خارجی کنترل نمود که فقط ذرات به بافت هدف هدایت شوند. علاوه بر این اثبات شده است که نانوذرات سوپر پارامگناطیس بسته به فرکانس و دامنه ی میدان مغناطیسی متناوب اعمالی قادرند گرما تولید کنند. به این صورت که سوسپانسیون نانوذره های سوپر پارامگناطیس اکسید آهن، انرژی یک میدان مغناطیسی نوسانی را جذب کرده و گرما تولید می کنند که از این ویژگی می توان برای کاربرد در داخل بدن استفاده کرد و دمای بافت تومور را افزایش داده تا سلول های سرطانی بیمار به این طریق تخریب شوند، زیرا سلول های تومور نسبت به سلول های سالم به افزایش دما حساس تر هستند [۵].

با توجه به مطالعات انجام شده روی نانوذرات اکسید آهن بدون پوشش، مشخص شده است که بسیاری از این نانوذرات اثرات سمی زیادی در سیستم های بیولوژیک اعمال می کنند. بنابراین برای کاهش سمیت، افزایش خواص زیست سازگاری و امکان کاربرد این نانوذرات در درمان هدف گیری شده از پوشش های مناسب بر سطح آنها استفاده می شود [۶].

در سال های اخیر، انواع پلیمرها به عنوان ماتریکس های سبک جهت پوشش و اصلاح سطح نانوذرات مغناطیسی بررسی

مذکور در دمای °C ۸۵ با هم زدن ثابت جهت حل شدن نشاسته گرما داده شد. سپس  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  و  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  با نسبت مولی ۱:۲ به محلول افزوده شد. محلول آمونیاک قطره قطره به سوسپانسیون اضافه شد. مخلوط به مدت ۲ ساعت نگه داشته شد سپس نانوذرات مگنتیت پوشش داده شده با نشاسته چند مرتبه با بافر شسته شدند و توسط آهنربای مغناطیسی جداسازی و در دستگاه فریز درایر (مدل GAMMA 1-16 LSC) به مدت ۲۴ ساعت خشک شدند.

## ۲-۲- کشت سلول

رده سلولی MDA-MB-231 از بانک سلولی انستیتو پاستور ایران خریداری شد (NCBI C578). این سلول در محیط کشت DMEM: (Dulbecco's Modified Eagle medium) high glucose غنی شده با سرم جنین گاوی ۱۰٪ (FBS: Fetal Bovin Serum)، آنتی بیوتیک استرپتومایسین (۱۰۰ mg/ml) و پنی سیلین (۱۰۰ IU/ml) در انکوباتور کشت سلول (مدل NUVE EC160) در دمای °C ۳۷، ۵٪  $\text{CO}_2$  و رطوبت ۹۵٪، کشت و نگهداری شد.

## ۲-۳- بررسی اثر نانوذرات مغناطیسی اکسید آهن بدون پوشش و با پوشش نشاسته بر رشد و زیستایی رده سلولی MDA-MB-231 به روش آزمون نمک تترازولیوم MTT

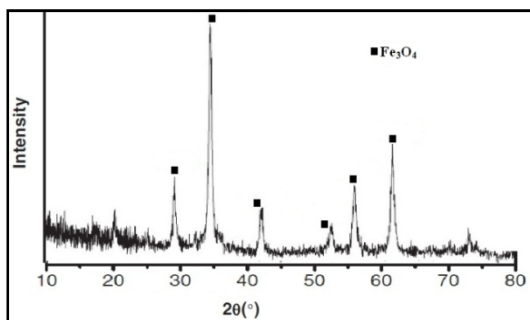
جهت بررسی اثرات نانوذرات مغناطیسی اکسید آهن بر میزان سمیت و مرگ سلولی، آزمون سمیت سلولی MTT (3-[4,5-Dimethylthiazol-2-Yl]-2,5-Diphenyl TB) به کار گرفته شد که بر پایه شکسته شدن نمک تترازولیوم (Tetrazolium) زرد به فورمازان (Formazan) کریستالی ارغوانی رنگ به واسطه فعالیت میتوکندریایی سلول‌های زنده فعال از نظر متابولیسمی می‌باشد. کریستال‌های فورمازان تشکیل شده قابل حل بوده و جذب محلول رنگی می‌تواند به‌طور کمی توسط دستگاه الیزا ریدر بررسی گردد.

دیگری بررسی شده است. با افزایش غلظت نانوذرات آهن، تعداد سلول مرده افزایش یافته است [۱۲]. در این تحقیق نانوذرات مغناطیسی آهن سنتز شده و جهت کاهش سمیت سلولی و بهبود خواص سطحی، با موادی مثل نشاسته پوشش داده خواهند شد. لازم به ذکر است که این بررسی‌ها روی رده سلولی MDA-MB-231 خواهد بود. سلول MDA-MB-231 به عنوان یک رده سلولی مهم در سرطان سینه کاربرد دارد. با اثرات نانوذرات بر این رده سلولی و نتایج حاصل از آن می‌توان در مطالعات درمان سرطان پستان استفاده نمود و از پتانسیل دارویی این ترکیبات استفاده کرد. هدف از این مطالعه، زیست‌سازگار کردن نانوذرات مغناطیسی آهن توسط بیوپلیمر نشاسته و بررسی مشخصات و تاثیرات پوشش ایجاد شده بدون کاهش میزان تاثیر بخشی مغناطیسی بر قدرت بقای رده سلولی سرطانی سینه MDA-MB-231 می‌باشد.

## ۲- فعالیت‌های تجربی

### ۲-۱- سنتز نانوذرات مغناطیسی اکسید آهن

به منظور تهیه نانوذرات مغناطیسی بدون پوشش ۵/۴ g،  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  با ۲/۷۸ g  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  در ۵۰ میلی لیتر آب دیونیزه مخلوط شد و تحت هم زدن شدید به مدت ۳۰ دقیقه توسط گاز نیتروژن، اکسیژن زدایی شد سپس محلول آمونیاک به صورت قطره قطره و آهسته به محلول نمک‌های آهن اضافه گردید. پس از افزودن محلول آمونیاک، حدود ۲۰ دقیقه اجازه داده شد تا واکنش پیش رود. در نهایت رسوب سیاه رنگی حاصل شد که نشان‌دهنده تشکیل نانوذرات مگنتیت است. رسوبات پس از چندین بار شستشو با بافر توسط آهنربا جداسازی و در دستگاه فریز درایر (GAMMA 1-16 LSC) تحت خلأ به مدت ۲۴ ساعت خشک شدند. به منظور تهیه نانوذرات  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  حاوی پوشش نشاسته، مقدار ۱/۲ g از نشاسته به ۲۰۰ ml آب دیونیزه اضافه شد. مخلوط



شکل ۱: منحنی XRD ذرات  $Fe_3O_4$  سنتز شده بدون پوشش.

### ۳-۲- طیف سنجی مادون قرمز- تبدیل فوریه

تغییرات ساختاری نانوذرات تهیه شده بدون پوشش و با پوشش نشاسته، در محدوده  $4000-500\text{ cm}^{-1}$  با استفاده از آنالیز FT-IR (Bomem model MB100) و پودر KBr به عنوان استاندارد، بررسی شد. شکل ۲-الف طیف FT-IR مربوط به مگنتیت خالص را نشان می‌دهد. باند جذبی در محدوده عدد موج  $3399\text{ cm}^{-1}$  است که ناشی از ارتعاشات کششی قوی توسط پیوند هیدروژنی ایجاد شده با گروه‌های هیدروکسیل (OH) است که توسط نمونه از محیط جذب شده است. باند جذبی در محدوده عدد موجی  $591\text{ cm}^{-1}$  دیده می‌شود که ناشی از باند ارتعاشی Fe-O موجود در مگنتیت است.

شکل ۲-ب طیف FT-IR مربوط به نانوذرات اکسید آهن با پوشش نشاسته را نشان می‌دهد. نوار جذب در اطراف طول موج  $573\text{ cm}^{-1}$  هم در نانوذرات بدون پوشش و هم در نانوذرات مغناطیسی با پوشش نشاسته مشاهده می‌شود این باند مربوط به ارتعاش کششی Fe-O در  $Fe_3O_4$  می‌باشد. حضور پوشش نشاسته، جذب تشعشع توسط هسته مگنتیت را کاهش داده و بنابراین شدت پیک ۵۷۲ در نانوذرات پوشش داده شده با نشاسته نسبت به نانوذرات مگنتیت بدون پوشش ضعیف‌تر است. از آنجائیکه نشاسته بیشتر از آمیلوز و آمیلوپکتین تشکیل شده، سه پیک جدید در نانوذرات مگنتیت با پوشش نشاسته ظاهر شده است. پیک اول در  $1153\text{ cm}^{-1}$  که مربوط به ارتعاش پیوند C-O از گروه C-O-H بوده و دو پیک دیگر در  $1091$  و  $1022\text{ cm}^{-1}$  به

ابتدا در پلیت ۹۶ چاهکی تعداد ۱۰۴ سلول در هر چاهک به همراه محیط کشت کامل ریخته شد و شش چاهک حاوی سلول‌های MDA-MB-231 بدون تیمار به عنوان کنترل منفی انتخاب شد. پس از ۲۴ ساعت محیط رویی خارج شد و نانوذرات مغناطیسی اکسید آهن بدون پوشش با غلظت‌های ۲۴۰، ۱۸۰، ۱۲۰، ۶۰ و  $30\text{ }\mu\text{g/ml}$  و نانوذرات مغناطیسی اکسید آهن با پوشش نشاسته با غلظت‌های ۲۴۰، ۱۸۰، ۱۲۰، ۶۰ و  $30\text{ }\mu\text{g/ml}$  به همراه محیط کشت کامل درون هر چاهک ریخته شد و برای مدت زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت در شرایط  $37^\circ\text{C}$  در یک اتمسفر مرطوب با غلظت  $5\% \text{ CO}_2$  انکوبه شد. پس از پایان انکوباسیون محیط رویی خارج شد و مقدار ۱۰ ml محلول MTT و ۱۰۰ ml محیط کشت پایه به هر چاهک اضافه شد. پس از ۴ ساعت انکوباسیون کریستال‌های بنفش رنگ فورمازان ایجاد شد. بعد از گذشت این زمان محلول MTT و محیط کشت پایه تخلیه شد و به منظور حل کردن بلورهای فورمازان به هر چاهک DMSO (Dimethyl sulfoxide) ۱۰۰ میلی‌لیتر اضافه گردید. سپس شدت رنگ توسط دستگاه الیزا ریدر (مدل DA3200) در محدوده طول موج ۶۳۰-۵۴۵ نانومتر ثبت شد.

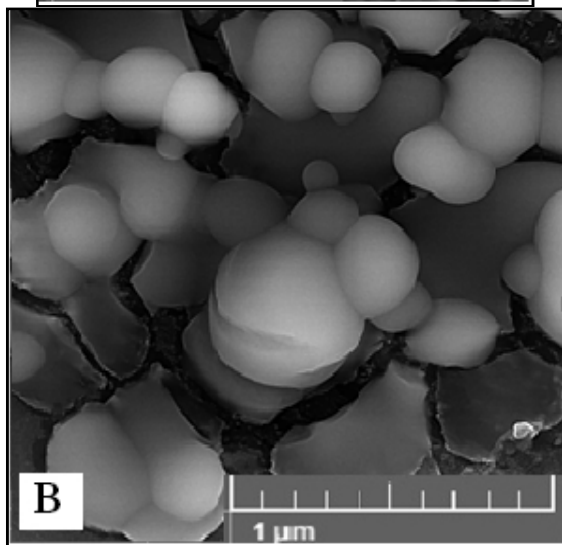
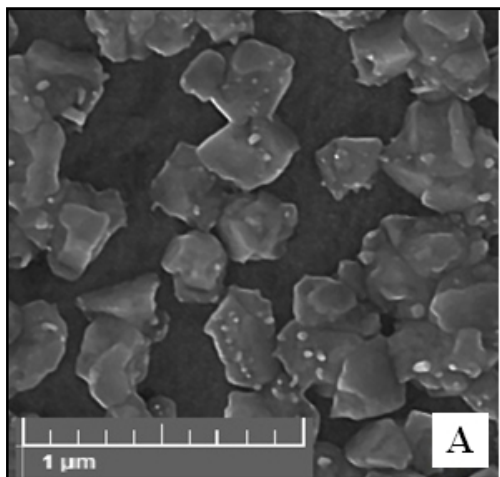
### ۴-۲- آزمون آماری

داده‌های آماری حاصل توسط نسخه ۲۲ نرم‌افزار SPSS به منظور اندازه‌گیری میانگین ۹ بار تکرار و انحراف از معیار در سطح ( $P < 0.05$ ) تجزیه و تحلیل شدند.

### ۳- نتایج و بحث

#### ۳-۱- تحلیل پراش پرتو ایکس

به منظور آنالیز فازی و بررسی اندازه دانه‌ها از پراش پرتوی X استفاده گردید. نتایج نشان‌دهنده آن است که مگنتیت فاز غالب در نمونه است و محاسبات از روی XRD، اندازه تقریبی ذرات را  $80\text{ nm}$  نشان می‌دهد (شکل ۱).

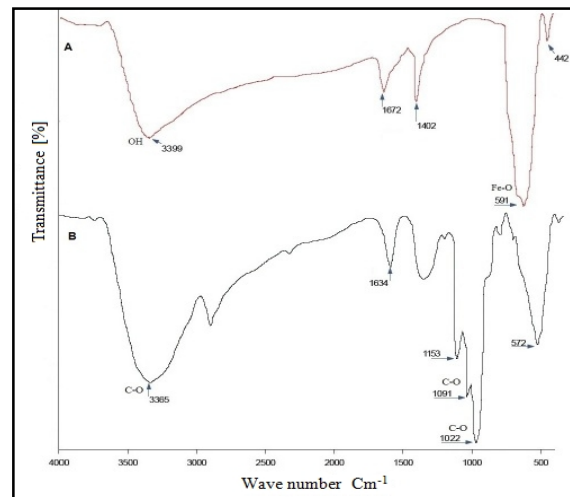


شکل ۳: تصاویر FE-SEM نانوذرات اکسید آهن، الف) بدون پوشش و ب) با پوشش نشاسته.

زمان‌های مختلف (شکل ۴) نشان داد که در غلظت  $30 \mu\text{g/ml}$  در زمان ۲۴ ساعت ۵۰٪ سلول‌ها از بین رفته‌اند (شکل ۵). از این رو می‌توان نتیجه گرفت  $\text{IC}_{50}$  نانوذرات اکسید آهن برای رده سلولی MDA-MB-231 غلظت  $30 \mu\text{g/ml}$  می‌باشد.

نتایج حاصل از بررسی اثر سمیت سلولی غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسید آهن با پوشش نشاسته بر رده سلولی در زمان‌های مختلف (شکل ۶) نشان داد که در غلظت  $30 \mu\text{g/ml}$  در زمان ۲۴ ساعت ۵۰٪ سلول‌ها از بین رفته‌اند (شکل ۷). از این رو می‌توان نتیجه گرفت  $\text{IC}_{50}$

ارتعاش پیوند C-O گروه C-O-C در حلقه گلوکز مربوط می‌شود.



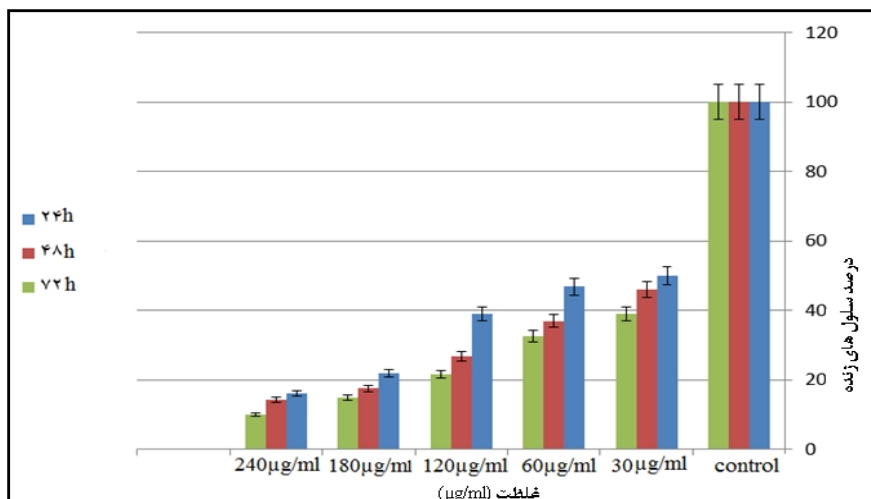
شکل ۲: طیف FT-IR از نانوذرات تهیه شده، الف)  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  بدون پوشش و ب) با پوشش نشاسته.

### ۳-۳- آنالیز میکروسکوپ الکترونی گسیل میدانی (FE-SEM)

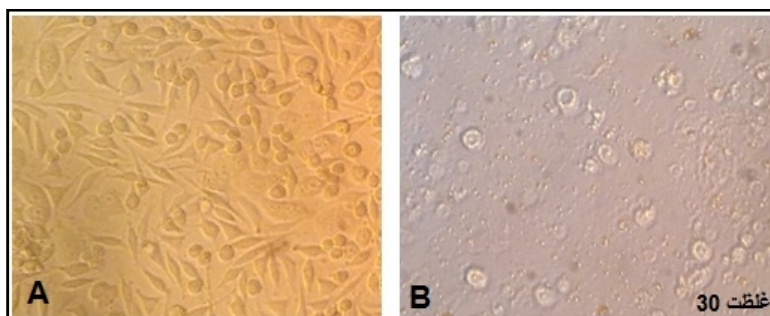
به منظور بررسی مورفولوژی و سایز نانوذرات مغناطیسی آهن بدون پوشش و با پوشش از میکروسکوپ الکترونی گسیل میدانی FE-SEM (مدل MIRA3TESCAN-XMU) استفاده شده. شکل ۳-الف، ریزساختار نانوذرات سنتز شده بدون پوشش و شکل ۳-ب ریزساختار نانوذرات سنتز شده با پوشش نشاسته با بزرگنمایی  $10000\times$  را نشان می‌دهد.

### ۳-۴- نتایج آزمون سمیت سلولی نانوذرات مغناطیسی اکسید آهن بدون پوشش و دارای پوشش نشاسته توسط روش MTT

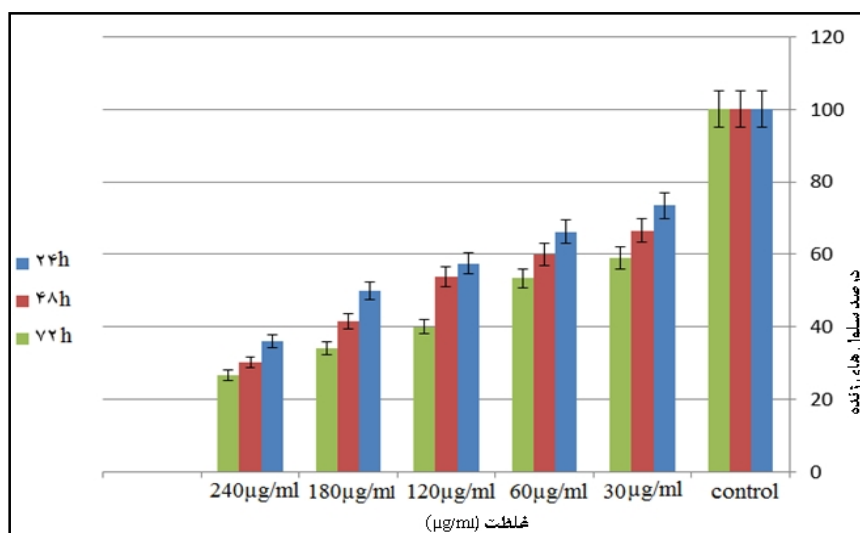
میزان درصد زنده بودن سلول‌های MDA-MB-231 با غلظت‌های مختلف نانوذرات مغناطیسی در نمودار ۱ و ۲ نشان داده شده است. نتایج به صورت میانگین ۹ بار تکرار آزمایش می‌باشد. نتایج حاصل از بررسی اثر سمیت سلولی غلظت‌های مختلف ذرات اکسید آهن بر رده سلولی MDA-MB-231 در



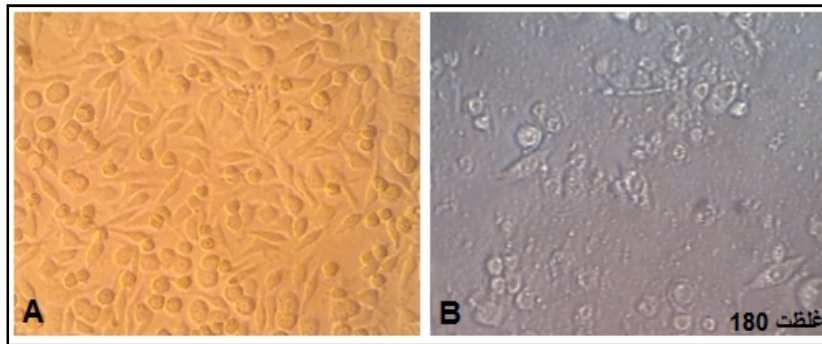
شکل ۴: میانگین کل درصد سلول های زنده در غلظت ها و زمان های مختلف نانوذرات اکسید آهن بر رده سلولی MDA-MB-231 به روش MTT (مقادیر به صورت میانگین ± انحراف از معیار بوده و تفاوت میانگین ها در سطح  $P < 0/05$  معنی دار در نظر گرفته شده است).



شکل ۵: تصاویر میکروسکوپی بعد از گذشت ۴۸ ساعت، الف) سلول های کنترل و ب) سلول های تحت تاثیر نانوذرات مغناطیسی اکسید آهن.



شکل ۶: میانگین کل درصد سلول های زنده در غلظت ها و زمان های مختلف نانوذرات اکسید آهن با پوشش نشاسته بر رده سلولی MDA-MB-231 به روش MTT (مقادیر به صورت میانگین ± انحراف از معیار بوده و تفاوت میانگین ها در سطح  $P < 0/05$  معنی دار در نظر گرفته شده است).



شکل ۷: تصاویر میکروسکوپی بعد از گذشت ۴۸ ساعت، الف) سلول‌های کنترل و ب) سلول‌های تحت تاثیر نانوذرات مغناطیسی اکسید آهن با پوشش نشاسته.

نانوذرات از طریق پهنای بلندترین پیک در فاز ۳۱۱ از طریق نرم‌افزار Xpert High Score Plus محاسبه شد که با نتایج حاصل از میکروسکوپ الکترونی روبشی مطابقت دارد. از طرفی دیگر، یکی از تکنیک‌های کاربردی جهت بررسی ساختارهای مولکولی نانوذرات، تکنیک FT-IR است. در این زمینه Peter و همکاران در سال ۲۰۱۱، در مطالعه‌ای که بر روی پلی ساکاریدها به عنوان تثبیت کننده برای سنتز نانوذرات مغناطیسی انجام دادند وجود گروه‌های عاملی نشاسته را تایید نمودند [۱۶]. در پژوهش حاضر، طیف FT-IR شکل‌های (۲-الف) و (۲-ب) در نانوذرات بدون پوشش و با پوشش نشاسته نوار جذب در اطراف طول موج  $573 \text{ cm}^{-1}$  مشاهده شد که این باند مربوط به ارتعاش کششی Fe-O در  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  می‌باشد. در نتیجه با مقایسه طیف FT-IR شکل‌های (۲-الف) و (۲-ب) می‌توان نتیجه گرفت که برهمکنش مناسبی بین نشاسته و نانوذرات  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  در نانوذرات مغناطیسی زیست‌سازگار شده صورت گرفته است و نشاسته به‌طور موفقیت آمیزی از طریق نیروهای واندروالسی و پیوند هیدروژنی پیرامون نانوذرات  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  پوشش داده شده‌اند. با توجه به اینکه اهمیت نانوذرات در اندازه و مورفولوژی آن است، تصاویر FE-SEM نشان داد، نانوذرات دارای مورفولوژی تقریباً کروی با اندازه تقریبی ۸۰-۱۰۰ nm می‌باشند. نانوذرات مگنتیت فاقد پوشش (شکل ۳-الف) دارای هسته کریستالی مشکی رنگ هستند. در حالی که نانوذرات زیست‌سازگار شده با پلیمر نشاسته (شکل ۳-ب)،

MDA-MB-231 نانوذرات آهن با پوشش نشاسته برای رده سلولی MDA-MB-231 غلظت  $180 \mu\text{g/ml}$  می‌باشد. نانوذرات مگنتیت  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  به علت خواص ویژه مغناطیسی و زیست‌سازگاری در حال حاضر تا حد زیادی مورد توجه محققین قرار گرفته است و به‌طور گسترده‌ای در زمینه‌های مختلف از جمله رسانش دارو، درمان سرطان به روش هایپرترمیا، فتوکاتالیست‌ها و غیره کاربرد دارند [۱۳]. در میان بیوپلیمرها، مطالعات بسیاری بر زیست‌سازگار کردن نانوذرات مغناطیسی مگنتیت با پلیمرهایی مانند کیتوسان، آلژینات، صمغ عربی و غیره انجام شده است. اما در این میان، پلیمر نشاسته به دلیل سازگاری زیستی با محیط‌های بیولوژیکی و داشتن گروه‌های عاملی که بتواند برهمکنش‌های الکترواستاتیک با سطح نانوذرات آهن برقرار کند و به صورت یک لایه‌ی پوششی به سطح نانوذرات آهن بچسبد جهت زیست‌سازگاری نانوذرات مغناطیسی مگنتیت استفاده شد. سپس نانوذرات موردنظر توسط آزمون‌های مربوطه مورد ارزیابی قرار گرفت. در شکل ۱ الگوهای پراش اشعه ایکس نشان داده شده است، این الگوها پیک‌های مشخصی را در مقادیر ۲۵ نشان می‌دهند که آنها به ترتیب به فازهای ۲۲۰، ۳۱۱، ۴۰۰، ۴۲۲، ۵۱۱ و ۴۴۰ نانوذرات  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  مربوط می‌شود [۱۴، ۱۵]. می‌توان نتیجه گرفت نانوذرات مغناطیسی  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  به‌طور موفقیت آمیزی در نانوذرات با پوشش نشاسته ساخته شده‌اند. اندازه متوسط

علاوه بر داشتن هسته کریستالی مشکی رنگ، دارای پوسته تقریباً خاکستری کم‌رنگ در اطراف هسته می‌باشند و شکل کروی تر به خود گرفته‌اند.

مطالعات نشان داده‌اند که متابولیسم آهن سبب تخریب سطح نانوذرات مغناطیسی آهن شده و به دنبال آن افزایش غلظت یون آهن و القا استرس اکسیداتیو می‌شود [۱۷]. بر این اساس به نظر می‌رسد تزریق دوز بالای این ذرات از طریق استرس اکسیداتیو آسیب‌های گسترده‌ای را باعث شود [۱۸].

Nie و همکاران در سال ۲۰۱۳، افزایش میزان مرگ سلول‌های Hela (سلول سرطانی گردن رحم) را تحت تاثیر نانوذرات مغناطیسی اکسید آهن گزارش کردند. آنها نشان دادند نانوذرات مغناطیسی اکسید آهن لود شده با داروی evodiamine (داروی ضد سرطان) می‌تواند به‌طور موثر رشد تومور را در شرایط درون تن و برون تن مهار کند و به همین دلیل کاندید مناسبی برای دستیابی به اثربخشی بهتر در درمان قرار گیرد [۱۹].

به حداقل غلظتی از نانوذرات که باعث مهار رشد ۵۰٪ از سلول‌های سرطانی شود  $IC_{50}$  گفته می‌شود که در این مطالعه برای نانوذرات مغناطیسی اکسید آهن غلظت  $30 \mu\text{g/ml}$  و نانوذرات اکسید آهن با پوشش نشاسته غلظت  $180 \mu\text{g/ml}$  در زمان ۲۴ ساعت تعیین گشت. بر اساس نتایج این مطالعه نانوذرات اکسید آهن بدون پوشش با افزایش دوز منجر به کاهش زیست پذیری سلول‌ها شدند این مطلب نشان‌دهنده آسیب‌رسان بودن نانوذرات اکسید آهن می‌باشد.

تاکنون مطالعات زیادی روی سنتز و ایجاد پوشش نشاسته بر سطح نانوذرات اکسید آهن انجام شده، ولی بررسی زیست‌سازگاری و سازوکار سلولی این ذرات با پوشش نشاسته و بدون پوشش بر رده سلولی سرطانی انجام نگرفته است، لذا مطالعه حاضر اولین مطالعه در زمینه بررسی تاثیر پوشش نشاسته بر رده سلول‌های سرطانی سینه MDA-MB-231 می‌باشد و نتایج بدست آمده با نتایج دیگر قابل مقایسه نیستند، اما مطالعات دیگری در این زمینه انجام گرفتند، از جمله مطالعه Mahmoudi و همکارانش که در

سال ۲۰۱۰، نانوذرات اکسید آهن کروی شکل بدون پوشش و پوشش داده شده با پلی وینیل الکل را مورد بررسی قرار دادند. در این تحقیق هر دو نوع نانوذره (با و بدون پوشش) به صورت اصلاح شده و نشده بر رده سلولی L929، با آزمون MTT ارزیابی شد و میزان زیست‌پذیری سلول‌های قرار گرفته در معرض نانوذرات اصلاح شده بیشتر از نوع اصلاح نشده آن گزارش شد. علاوه بر این آثار سمی نانوذرات اکسید آهن در نوع بدون پوشش آن نیز گزارش شده است علت این آثار به دنبال صدماتی است که نانوذرات به DNA وارد کرده‌اند [۲۰]. بررسی ما با نتایج این پژوهشگران همسو بوده و نشان داده شد که نانوذرات اکسید آهن دارای اثرات سمی به مراتب بیشتر، نسبت به نانوذرات دارای پوشش بود.

در مطالعه Khan و همکاران، اثر سمیت سلولی نانوذرات آهن سنتز شده به روش شیمیایی سل-ژل بر سلول‌های سرطان اپی‌تلیالی ریوی IMR-90 مورد ارزیابی قرار گرفته و نتایج نشان داد که نانوذرات اکسید آهن در غلظت‌های ۱ تا ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت به عنوان عوامل ضد سرطان فعالیت سمیت سلولی چشمگیری بر سلول‌های ریوی A549 داشته‌اند [۲۱]. در این مطالعه، نانوذرات اکسید آهن در غلظت  $30 \text{ Mg/ml}$  دارای سمیت سلولی شدیدی بر رده سلولی سرطانی MDA-MB-231 نشان دادند، در نتیجه پس از درمان بافت هدف، سمیت موضعی بیشتری را بر سلول‌های سالم اعمال خواهند کرد. در صورتی که نانوذرات اکسید آهن دارای پوشش نشاسته  $IC_{50}$  در غلظت  $180 \mu\text{g/ml}$  نشان دادند که به علت پوشش زیست‌سازگار ایجاد شده در سطح نانوذرات، به مراتب اثرات سمیت موضعی کمتری بر سلول‌های سالم اعمال خواهند کرد.

#### ۴- نتیجه‌گیری

نانوذرات مگنتیت با اندازه تقریبی  $100-80 \text{ nm}$  به روش هم‌رسوبی تهیه شد. نتایج پراش اشعه ایکس حضور فاز مگنتیت را نشان داد. همچنین آنالیز FT-IR این ساختار را تایید نمود و ایجاد پوشش نشاسته روی سطح نانوذرات را



پلاتین روی سرطان پستان در مطالعات درون تنی و برون تن"، مجله تازه‌های بیوتکنولوژی سلولی-مولکولی، شماره ۴۰، ۱۳۹۴، ۳۶-۲۹.

- [4] A. Ito, M. Shinkai, H. Honda, T. Kobayashi, *J. Biosci. Bioeng.*, **100**, 2005, 1.
- [5] T.J. Daou, J.M. Greneche, G. Pourroy, S. Buathong, A. Derory, C. Ulhaq-Bouillet, B. Donnio, D. Guillon, S. Begin-Colin, *Chem. Mater.*, **20**, 2008, 5869.
- [6] M. Mahmoudi, A. Simchi, H. Vali, M. Imani, M.A. Shokrgozar, K. Azadmanesh, F. Azari, *Adv. Eng. Mater.*, **11**, 2009, 243.
- [7] M. Darder, P. Aranda, E. Ruiz-Hitzky, *Advanced Materials*, **19**, 2007, 1309.
- [8] S. Seoyoun, J. Jyongsik, *Chem. Commun.*, **22**, 2007, 4230.
- [9] A.M. Dias, A. Hussain, A.S. Marcos, A.C. Roque, *Biotechnol Adv.*, **29**, 2011, 142.
- [10] T.T. Dung, T.M. Danh, L.T.M. Hoa, D.M. Chien, N.H. Duc, *Experimental Nanoscience*, **4**, 2009, 1.
- [11] T.K. Jain, M.K. Reddy, M.A. Morales, D.L. Leslie-Pelecky, V. Labhasetwar, *Mol. Pharm.*, **5**, 2008, 316.
- [12] H.B. Raju, Y. Hu, A. Vedula, S.R. Dubovy, J.L. Goldberg, *PLOS ONE*, **6**, 2011, 1.
- [13] R.M. Cornell, U. Schwertmann, "*The Iron Oxides: Structure, Properties, Reactions, Occurrence and Uses*", WILEY-VCH, Weinheim, 1996.
- [14] C. Muthamizhchelvan, R. Ramesh, M. Rajalakshimi, S. Ponnusamy, *MATER IETT*, **70**, 2012, 73.
- [15] R. Bandyopadhyaya, C. Ravikumar, S. Kumar, *Physicochem. Eng. Aspects*, **403**, 2012, 1.
- [16] R.C. Peter, Y. Jiugao, M.A. Xiaofei, P.A. Debbie, *Carbohydr polym.*, **83**, 2011, 640.
- [17] R. Weissleder, D.D. Stark, B.L. Engelstad, B.R. Bacon, C.C. Compton, D.L. White, P. Jacobs, J. Lewis, *AJR Am J Roentgenol.*, **152**, 1989, 167.
- [18] M.I. Khan, A. Mohammad, G. Patil, S.A. Naqvi, L.K. Chauhan, I. Ahmad, *Biomaterials*, **33**, 2012, 1.
- [19] G. Nie, X.U. Li, Y. Lv, G. Ding, J. Zhai, Y. Gua, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **110**, 2013, 411.
- [20] M. Mahmoudi, A. Simchi, M. Imani, M.A. Shokrgozar, A.S. Milani, U.O. Hafeli, P. Stroeve, *Colloids Surf. B Biointerfaces*, **75**, 2010, 300.
- [21] M. Mahmoudi, H. Hofman, B. Rothen-Rutishauser, A. Petri-Fink, *Chem. Rev.*, **112**, 2012, 2323.

اثبات کرد. همچنین تصاویر FE-SEM مؤید این موضوع می‌باشد که ذرات دارای مورفولوژی تقریباً کروی هستند. بررسی‌های سلولی نشان داد که نانوذرات مغناطیسی اکسید آهن در غلظت ۳۰  $\mu\text{g/ml}$  و نانوذرات زیست‌سازگار شده با پوشش نشاسته در غلظت ۱۸۰  $\mu\text{g/ml}$  در زمان ۲۴ ساعت باعث مرگ ۵۰٪ از سلول‌های رده سلولی MDA-MB-231 شدند. از آنجائیکه نانوذرات مغناطیسی آهن باعث سمیت موضعی در بدن می‌شوند لذا وجود پوشش زیست‌سازگار نشاسته از سمیت آنها کاسته در نتیجه برای اثربخشی بهتر در درمان به روشی نظیر هایپرترمیا، می‌توانند به مقدار بیشتری به بدن وارد شوند. بنابراین می‌توان نتیجه‌گیری کرد که نانوذرات مغناطیسی اکسید آهن با پوشش نشاسته ممکن است اثر قابل توجهی در درمان سرطان سینه داشته باشد. برای چنین نتیجه‌گیری انجام آزمایش‌های تکمیلی به صورت درون تن (*in vivo*) مورد نیاز می‌باشد.

## مراجع

- [1] K. Armstrong, A. Eisen, B. Weber, *N. Engl J.*, **342**, 2000, 564.
- [2] N. Soleimani, A. Mohabati-mobarez, *Qom Univ. Med. Sci. J.*, **11**, 2017, 1.
- [۳] عظیم اکبر زاده خیای، ژیلا حسینیان، رحیمه رسولی، امین آذرنوش، مه‌ری مرتضوی، "ارزیابی کارایی نانوذرات مغناطیسی آهن لود شده با سیس