

Fabrication and Investigation of Toxicity of CuFe_2O_4 Nanoparticles Synthesized by Combustion Sol-Gel Method for Hyperthermia Application

Mehdi Talaei¹, *Sayed Ali Hassanzadeh-Tabrizi², Ali Saffar-Teluri³

1. M.Sc, Advanced Materials Research Center, Department of Materials Engineering, Najafabad Branch, Islamic Azad University, Najafabad, Iran.
2. Associate Professor, Advanced Materials Research Center, Department of Materials Engineering, Najafabad Branch, Islamic Azad University, Najafabad, Iran.
3. Assistant Professor, Advanced Materials Research Center, Department of Materials Engineering, Najafabad Branch, Islamic Azad University, Najafabad, Iran.

Citation: Talaei M, Hassanzadeh-Tabrizi S. A, Saffar-Teluri A. Fabrication and Investigation of Toxicity of CuFe_2O_4 Nanoparticles Synthesized by Combustion Sol-Gel Method for Hyperthermia Application. *Metallurgical Engineering* 2020; 23(3): 220-234 <http://dx.doi.org/10.22076/ME.2021.136885.1299>

doi: <http://dx.doi.org/10.22076/ME.2021.136885.1299>

ABSTRACT

Magnetic nanoparticles have attracted a lot of attention due to their unique chemical and physical properties and their use in medical applications such as hyperthermia. In this research, copper ferrite nanoparticles were synthesized by combustion gel-sol method. The synthesized samples were studied by X-ray diffraction (XRD), Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy, nitrogen adsorption and desorption test (BET), energy dispersive spectroscopy (EDS), scanning electron microscopy (FESEM) and vibrational sample magnetometry (VSM). The average crystal size was about 25 ± 8 nm and its specific surface area was about 2.59 ± 0.20 m²/g. Morphology and shape of nanoparticles were spherical and the average size of copper ferrite nanoparticles was about 96 ± 10 nm. Copper ferrite has ferromagnetic properties and saturation magnet was obtained at about 29.28 emu/g. the release of ibuprofen from these nanoparticles was investigated. Cytotoxicity of the nanoparticles on HT29 cancer cells was evaluated. CuFe_2O_4 copper ferrite nanoparticles were also analyzed by hypothermia method. The results showed a rise in temperature to about 42 ° C and a specific adsorption rate of 9.62 W/g.

Keywords: Magnetic nanoparticles, Copper ferrite, Sol-gel, Cytotoxicity, Hyperthermia.

Received: 21 September 2020 | Accepted: 14 February 2021

■ ■

* *Corresponding Author:*

Sayed Ali Hassanzadeh-Tabrizi, PhD

Address: Advanced Materials Research Center, Department of Materials Engineering, Najafabad Branch, Islamic Azad University, Najafabad, Iran.

Tel: +98 (31) 42291016

E-mail: hassanzadeh@pmt.iaun.ac.ir

ساخت و بررسی سمیت نانو ذرات CuFe_2O_4 سنتز شده به روش سل ژل احتراقی برای کاربرد هایپرترمیا

مهدی طلائی^۱، * سید علی حسن زاده تبریزی^۲، علی صفار تلوری^۳

- ۱- کارشناسی ارشد، مرکز تحقیقات مواد پیشرفته، دانشکده مهندسی مواد، واحد نجف آباد، دانشگاه آزاد اسلامی، نجف آباد، ایران.
 ۲- دانشیار، مرکز تحقیقات مواد پیشرفته، دانشکده مهندسی مواد، واحد نجف آباد، دانشگاه آزاد اسلامی، نجف آباد، ایران.
 ۳- استادیار، مرکز تحقیقات مواد پیشرفته، دانشکده مهندسی مواد، واحد نجف آباد، دانشگاه آزاد اسلامی، نجف آباد، ایران.

چکیده

نانو ذرات مغناطیسی به دلیل منحصر به فرد بودن خواص شیمیایی و فیزیکی و استفاده از آن ها در کاربردهای پزشکی از جمله هایپرترمیا، توجه زیادی را به خود جلب کرده است. در این پژوهش نانو ذرات فریت مس توسط روش سل ژل احتراقی سنتز گردید. محصول بدست آمده توسط پراش اشعه ایکس (XRD)، طیف سنجی تبدیل فوریه مادون قرمز (FTIR)، آزمون جذب و واجذب نیتروژن (BET)، میکروسکوپ الکترونی روبشی (FESEM)، آنالیز عنصری نقطه‌ای، و آزمون مغناطیس سنجی نمونه ارتعاشی (VSM) مورد مطالعه قرار گرفت. متوسط اندازه بلورک در حدود 25 ± 8 nm و مساحت سطحی ویژه آن حدود $20 \pm 0.7 \text{ g/m}^2$ بدست آمد. مورفولوژی و شکل نانو ذرات به صورت کروی و متوسط اندازه نانو ذرات فریت مس حدوداً 96 ± 10 nm اندازه گیری شد. فریت مس دارای خاصیت فری مغناطیس است و مغناطیس اشباع حدود $29/28 \text{ emu/g}$ اندازه گیری شد. رهایش داروی ایبوپروفن از این نانوذرات مورد بررسی قرار گرفت. سازگاری سلولی و بحث سمیت سلولی نانو ذرات تولیدی بر روی سلول سرطانی HT29 مورد ارزیابی قرار گرفت. نانو ذرات فریت مس CuFe_2O_4 ، توسط روش هایپرترمیا نیز مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و افزایش دما تا حدود 42 درجه سانتیگراد و نرخ جذب ویژه $9/62 \text{ (W/g)}$ بدست آمد.

واژه‌های کلیدی: نانو ذرات مغناطیسی، فریت مس، سل ژل، سمیت سلولی، هایپرترمیا.

دریافت: ۱۳۹۹/۰۶/۳۱ | پذیرش: ۱۳۹۹/۱۱/۲۶

۱. مقدمه

قابلیت پرتو درمانی ندارند بسیار موثر بوده است. هایپرترمیا یک روش درمانی است که در آن بافت ها بالاتر از محدوده طبیعی فیزیولوژیکی گرم می شوند. اغلب به عنوان یک درمان جایگزین یا مکمل شیمی درمانی و پرتو درمانی برای درمان سرطان، با کاهش قابل توجه عوارض جانبی در نظر گرفته می شود. افزایش دمای بالاتر از 40 درجه سانتیگراد موجب افزایش اثرات شیمی درمانی و یا مستقیماً منجر به کشتن سلول به عنوان تابعی از زمان و دما می شود. با این حال، به طور کلی برای درمان موثرتر هایپرترمیا، اغلب ترکیب آن با روش های درمان اضافی مانند پرتو یا شیمی درمانی ضروری است [۲-۴]. برای هایپرترمیا معمولاً از نانو ذرات مغناطیسی استفاده می شود اما مهمترین نکته این است که هایپرترمیا مبتنی بر نانو ذرات مغناطیسی نیز می تواند برای تحویل

سرطان یکی از بیماری های کشنده سال های اخیر جوامع بشری است. این بیماری جان انسان های بسیاری را در سال های اخیر گرفته است. گرچه مرگ و میر ناشی از سرطان در اوایل دهه ۱۹۹۰ کاهش یافته است، اما این بیماری بر اساس گزارش موسسه ملی سرطان آمریکا هنوز شایعترین علت مرگ می باشد. بنابراین نیاز زیادی به بهبود درمان های موجود و یا پیشرفتهای جدید برای بهبود نرخ زنده ماندن وجود دارد [۱]. فناوری نانو به سرعت در حال تکامل است، به طور کلی تا به حال تاثیر زیادی در پزشکی و به طور خاص در تشخیص و درمان سرطان داشته است. روش های زیادی برای درمان سرطان وجود دارد و در میان این روش ها، در سال های اخیر روش هایپرترمیا برای تومورهای سرطانی که

* نویسنده مسئول:

دکتر سید علی حسن زاده تبریزی

نشانی: نجف آباد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد نجف آباد، دانشکده مهندسی مواد، مرکز تحقیقات مواد پیشرفته.

تلفن: ۴۲۲۹۱۰۱۶ (۳۱) ۰۹۸-

پست الکترونیکی: hassanzadeh@pmt.iaun.ac.ir

نفوذ از فاکتورهای تعیین کننده سرعت رهایش هستند. البته سرعت رهایش دارو از نانو ذرات تاثیر زیادی از محیط بیولوژیکی اطراف خود می پذیرند [۹]. یکی از مهم ترین نانو ذرات مغناطیسی، فریت ها هستند. فریت ها علاوه بر خواص الکتریکی، حرارتی و مکانیکی دارای خواص مغناطیسی خوبی هستند. نانو فریت ها نامزدهای خوبی برای اهداف زیست پزشکی هستند، زیرا آنها ممان مغناطیسی بالایی دارند و از لحاظ شیمیایی پایدار هستند و سطوح آنها برای اتصال مولکول های بیولوژیکی بسیار واکنش پذیر است. علاوه بر این، حضور یون فلزی دو ظرفیتی می تواند توزیع بیولوژیکی این نانو ذرات را در داخل بدن موجود زنده در پروب های خون بهبود ببخشد [۱۰، ۱۱]. فریت های اسپینل یکی از رایج ترین مواد مغناطیسی هستند که از خود خواص مغناطیسی نشان می دهند. توسعه فریت اسپینل را می توان در برنامه های کاربردی مانند کاتالیست ها (Catalysis)، بیوتکنولوژی زیست پزشکی، تصویربرداری رزونانس مغناطیسی MRI، دنبال کرد. فریت اسپینل دارای ترکیب شیمیایی با فرمول MFe_2O_4 که M می تواند عناصر (غیره $\text{Co, Ni, Mn, Fe, Cu, Zn}$) باشد [۱۲]. سلول واحد در اسپینل از 32 اتم اکسیژن و 24 اتم کاتیون مثبت تشکیل شده است. در سلول واحد 64 موقعیت تتراهدرال و 32 موقعیت اکتاهدرال برای کاتیون وجود دارد. فقط 8 موقعیت تتراهدرال و 16 موقعیت اکتاهدرال توسط کاتیون ها اشغال شده است و آن ها را به ترتیب موقعیت A و B می نامند. بر اساس اشغال موقعیت های مختلف کریستال توسط کاتیون ها، طیف گسترده ای از خواص مغناطیسی را می توان به دست آورد. روش های متعددی برای سنتز نانو ذرات فریت اسپینل مانند هم رسوبی Co-precipitation، روش هیدروترمال Hydrothermal، سل ژل Sol-gel، روش احتراق Combustion، روش میکرو امولسیون Microemulsion، روش آسیاب گلوله ای Ball milling و روش مکانو شیمیایی Mechano-Chemical وجود دارد [۱۱].

در سال های اخیر فریت مس به شدت مورد بررسی قرار گرفته است روش و نحوه ای آماده سازی نقش بسیار مهمی در ساختار شیمیایی و خواص مغناطیسی بازی می کند. فریت مس یک اسپینل معکوس با ساختار چهار وجهی تتراگونال است. توزیع کاتیون در این نوع ساختار ممکن است توسط فرمول زیر نشان داده شود. $[\text{Cu}_{1-\delta} \text{Fe}_{1+\delta}]^B \text{O}_4 (\text{Cu}_{\delta} \text{Fe}_{1-\delta})^A$ که در آن δ پارامتر وارونگی است و $\delta=0$ و $\delta=1$ به ترتیب برای حالت معکوس و نرمال است [۱۳، ۱۴] نانو ذرات مغناطیسی که برای هایپر ترمیا استفاده می شوند تنها اندازه آن ها ده ها نانومتر هستند و تومورها که اندازه حفره های آن ها در محدوده 380 تا 780 نانومتر می باشد اجازه عبور آسان نانو ذرات را می دهد. از دیدگاه بیولوژیکی، ذرات زیر 100 نانومتر برای هر کاربردی که نیاز به نفوذ بافت دارند مناسب هستند و هر چه اندازه ذرات کوچکتر مقادیر نرخ جذب ویژه افزایش می یابد [۱].

کنترل شده دارو نیز مورد استفاده قرار گیرد. این ویژگی ها امکان توسعه روش های چند منظوره را برای درمان تعدادی از بیماری ها را فراهم می کند. تعداد بیشتری از تحقیقات انجام گرفته دو دهه گذشته، به جنبه های مختلف نانو مواد مغناطیسی برای درمان مبتنی بر هایپر ترمیا اختصاص یافته است [۵]. هایپر ترمیای به دو دسته کلی هایپر ترمیای موضعی و کلی بدن تقسیم می شود. امروزه جوامع بشری از محدودیت های قابل توجه در هدف گیری تومور و محل دقیق اعمال انرژی حرارتی رنج می برند. در هایپر ترمیای کامل بدن، کل بدن بیش از دمای طبیعی فیزیولوژیکی گرم می شود که این یک مشکل بزرگ و اساسی بود. برای رفع این مشکل، برای اولین بار مواد مغناطیسی برای هایپر ترمیا در سال 1950 مطرح شد و در این سال ها نانو ذرات مغناطیسی نشان دادند که قادر به انجام این خواسته هستند. نانو ذرات مغناطیسی می توانند از طریق گوناگون دارو رسانی را نیز انجام دهند. آنها می توانند از راه دور با میدان های متناوب مغناطیسی در فرکانس هایی که بافت های سالم بدن تحت تاثیر قرار نمی گیرند، گرم شوند و در نتیجه، نانو ذرات مغناطیسی به عنوان یک حامل دارو رسانی خوب نیز برای هایپر ترمیا استفاده می شوند [۲، ۳]. نانو ذرات مغناطیسی کاربرد های فراوانی در زیست پزشکی، مانند جداسازی مغناطیسی، دارو رسانی، تصویربرداری رزونانس مغناطیسی MRI و هایپر ترمیا پیدا کرده اند. با توجه به این که سلول های تومور نسبت به سلول های سالم حساسیت بیشتری نسبت به افزایش درجه حرارت دارند، از این ویژگی می توان در موجودات زنده برای از بین بردن سلول های پاتولوژیک توسط هایپر ترمیا با افزایش دمای بافت تومور استفاده کرد. این روش به دلیل سهولت در هدف قرار دادن بافت های سرطانی و همچنین عوارض جانبی کمتر نسبت به شیمی درمانی و پرتودرمانی یک تکنیک امیدوارکننده برای درمان سرطان است [۴، ۶]. مسیر حرکت دارو در بدن تنها به خواص دارو بستگی نداشته و رهایش کنترل شده دارو نیز نقش مهمی در این باره بازی می کند و لذا نه تنها تاثیر درمانی دارو را بیشتر می کنند بلکه اثرات جانبی نامطلوب را نیز می کاهشند. از راهکارهای موفق در زمینه رهایش کنترل شده (مکانی و زمانی) استفاده از نانو ذرات می باشد [۷]. ظرفیت نانو ذرات در جذب دارو، اتصال نانو ذرات و دارو و سرعت واکنش بستگی به دارو و شرایط تهیه دارد. برای بررسی این خواص از منحنی های جذب ایزوترم دارو استفاده می شود. اندازه گیری دقیق مقدار داروی موجود در نانو ذرات ممکن است به خاطر طبیعت کلئیدی ذرات تهیه شده آسان نباشد. روش معمول بدین گونه است که در واقع تفاوت وزنی قبل و بعد از رهایش معرف میزان داروی بارگذاری شده است [۸]. نانو ذرات از طریق واکنش مستقیم با محیط اطرافشان یعنی محیط بیولوژیکی، اثر و خاصیت دارویی خود را نشان می دهند. مکانیزم رهایش و ضرائب

داروی ایبوپروفن در اتانول، غلظت داروی بارگذاری شده محاسبه گردید.

نحوه رهائش داروی ایبوپروفن در ترکیب تولیدی

در مرحله رهائش دارو، محلولی حاوی ۰/۰۵ گرم پودر نمونه تولیدی (مرحله قبل) با ۱۰ cc محلول PBS در pH=7.4 برای هر نمونه تهیه گردید. سپس برای حالت شبیه سازی بدن، نمونه ها داخل انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد قرار داده شد. در بازه های ۱، ۳، ۵، ۷، ۲۴، ۴۸، ۷۲، ۱۲۰، ۱۶۸، ۲۴۰ ساعت نمونه گیری انجام شد. در هر بار نمونه گیری مقدار ۲ cc از روی محلول برداشته و به جای آن ۲ cc محلول PBS با همان pH بر روی آن ریخته شد. عدد جذب نمونه ها توسط دستگاه طیف سنجی UV-Vis اندازه گیری شد و با استفاده از منحنی کالیبراسیون جذب-غلظت داروی ایبوپروفن در محلول PBS میزان غلظت داروی رهائش شده بدست آمد.

تجهیزات مورد استفاده

برای بررسی و مشخصه یابی فازها از دستگاه پراش اشعه ایکس^۱ (XRD) مدل Rigaku Ultima IV با ولتاژ ۴۰ KV و جریان ۳۰ mA تحت آزمون پراش اشعه ایکس با زاویه نرمال^۲ (۸۰-۱۰) 2θ استفاده گردید. لامپ انتخاب شده مجهز به تک فام ساز بلوری پرتو Kα Cu با طول موج ۱/۵۴۰۵۶ آنگسترم و اندازه گام ۰/۰۲ درجه و زمان هر گام یک ثانیه انتخاب شد. برای تعیین نوع پیوند های موجود در ترکیب تولیدی از طیف سنجی مادون قرمز^۳ (FTIR) مدل AVATAR ساخت کشور آمریکا در طیف عبوری 400-4000 cm⁻¹ که بر اساس جذب تابش و جهش های ارتعاشی مولکول ها و یون های چند اتمی کار می کند استفاده گردید. برای بررسی رفتار و اندازه گیری خواص مغناطیسی نمونه و رسم حلقه هیستریزس نمونه در دمای محیط از دستگاه مغناطیس سنج نمونه ارتعاشی^۴ VSM مدل MDKFD ساخت شرکت مغناطیس دقیق کویر کاشان با میدان مغناطیسی اعمال شده ۱ T استفاده گردید. برای بررسی اطلاعات میکروساختاری سطح نمونه از جمله مورفولوژی، نحوه ی تجمع ذرات و اندازه تقریبی نانو ذرات از دستگاه میکروسکوپ الکترونی روبشی نشر میدانی^۵ FESEM مدل HITACHI-S4160 ساخت کشور ژاپن استفاده شد. سازگاری سلولی و بررسی سمیت^۶ (MTT) نمونه انجام شد. برای این بررسی از سلول سرطانی روده HT29 در غلظت های

اگرچه قبلاً نانو ذرات فریت مس به روش سل ژل احتراقی تولید شده است اما تا به حال کاربرد پزشکی این ماده مورد بررسی قرار نگرفته است بر این اساس هدف از این پژوهش سنتز و مشخصه یابی نانو ذرات فریت مس CuFe₂O₄ به روش سل-ژل احتراقی و بررسی سمیت سلولی و کاربرد همزمان آن در هایپرترمیا و دارو رسانی می باشد.

۲. مواد و روش تحقیق

مواد اولیه مورد استفاده

مواد اولیه مورد استفاده در این پژوهش، شامل نیترات آهن سه ظرفیتی نه آبه (Fe(NO₃)₃·9H₂O)، نیترات مس دو ظرفیتی سه آبه (Cu(NO₃)₂·3H₂O)، اسید سیتریک (C₆H₈O₇)، آمونیاک (NH₃) که اینها همگی از شرکت UNI-CHEM تهیه شد. آب مقطر دو بار تقطیر با خلوص ۹۹/۹ درصد از شرکت SKY ایران، اتانول (C₂H₆O) با خلوص ۹۸ درصد از شرکت Merck آلمان، داروی ایبوپروفن (C₁₃H₁₈O₂) با خلوص ۹۹ درصد محصول شرکت داروسازی امین و فسفات بافر سالین (PBS) با خلوص ۹۹ درصد از شرکت بهار افشان تهیه گردید.

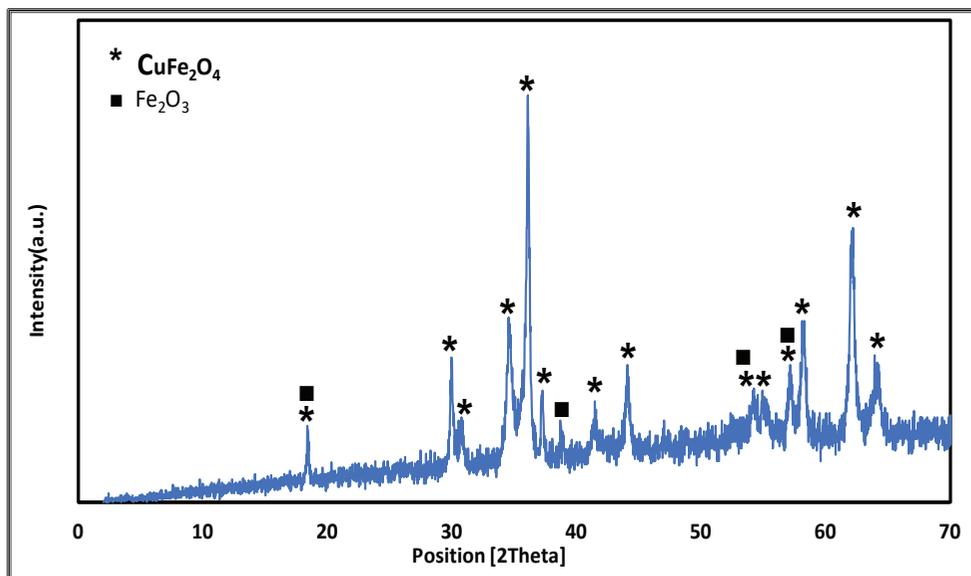
روش سنتز

فریت مس (CuFe₂O₄) مورد نیاز به روش سل ژل احتراقی بر اساس مرجع تولید گردید [۴]. به این منظور در ۸۰ ml آب مقطر مقدار ۲/۹ گرم نیترات مس دو ظرفیتی سه آبه و ۹/۷ گرم نیترات آهن سه ظرفیتی نه آبه حل شد. سپس مقدار ۹ گرم اسید سیتریک اضافه و حل شد. با اضافه کردن محلول آمونیاک به صورت قطره قطره pH محلول در محدوده ۷-۸ تنظیم شد. محلول در دمای ۸۰ درجه سانتیگراد به مدت ۱ ساعت حرارت داده شد. سپس در داخل آون در دمای ۱۲۰ درجه سانتیگراد نمونه خشک گردید. پودر حاصل را در کوره عملیات حرارتی در دمای ۸۰۰ درجه سانتیگراد و به مدت ۳ ساعت کلسینه گردید.

نحوه بارگذاری داروی ایبوپروفن بر روی ترکیب تولیدی

برای بارگذاری از داروی ایبوپروفن با غلظت غلظت $1 \frac{\text{mg}}{\text{ml}}$ در حلال اتانول استفاده گردید و همچنین نسبت پودر نانو ذرات فریت مس به دارو با نسبت ۱ به ۱ انتخاب شد. محلول (دارو+اتانول+پودر نمونه) به مدت ۲۴ ساعت توسط دستگاه Shaker هم زده شد. پودر نمونه ها (داخل آن دارو بارگذاری شده) توسط سانتریفیوژ از محلول جدا سازی گردید. پودر ها خشک و داخل یخچال برای مرحله رهائش نگه داری شد. از محلول نمونه توسط دستگاه طیف سنجی UV-Vis در طول موج ماکزیم محاسبه شده، عدد جذب استخراج گردید و سپس توسط منحنی کالیبراسیون استاندارد جذب-غلظت

1. X-Ray Diffraction
2. Normal angle
3. Fourier Transform Infrared Spectroscopy
4. Vibrating Sample Magnetometer
5. Field Emission Scanning Electron Microscope
6. (4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide



شکل ۱. الگوی پراش اشعه ایکس نانو ذرات فریت مس کلسینه شده در دمای 800°C

جهت بررسی خاصیت هایپرترمیای^۷ نمونه ها از دستگاه شرکت نو اندیشان علم مواد اسپادانا استفاده گردید. این آزمون در میدان الکتریکی ۱۰۰ اورستد و فرکانس ۲۰۰ کیلو هرتز در دمای محیط و در سیال اتانول، به مدت چهار دقیقه انجام گرفت.

۳. نتایج و بحث

بررسی الگوی پراش اشعه ایکس نانو ذرات فریت مس (CuFe_2O_4)

الگوی پراش اشعه ایکس نانو ذرات فریت مس که یک اسپینل معکوس است در شکل ۱ نشان داده شده است. این الگوی پراش با پیک استاندارد شماره ۰۵۴۵-۰۰۶-۰۰ در JCPDS مطابقت داشته است. پیک های الگوی پراش اشعه ایکس فریت مس در زوایای 2θ ، $18/40$ ، $18/40$ ، $29/94$ ، $30/180$ ، $34/56$ ، $36/106$ ، $37/20$ ، $41/45$ ، $44/11$ ، $44/16$ ، $54/12$ ، $57/14$ ، $58/27$ ، $62/02$ ، $64/25$ به ترتیب موبوط صفحات (۱۱۱)، (۲۰۲)، (۲۲۰)، (۳۱۰)، (۳۱۱)، (۳۲۲)، (۴۰۴)، (۴۰۰)، (۴۲۲)، (۳۱۴)، (۵۰۱)، (۵۱۱)، (۴۰۴)، (۴۴۰) می باشند. پیک های علامت گذاری شده به شکل ستاره مربوط به نانو ذرات فریت مس می باشند و پیک های علامت گذاری شده به شکل مربع مربوط به هماتیت (Fe_2O_3) است که درصد بسیار پایین و کمی از آن را در ترکیب نشان می دهد و در زوایای 2θ ، $18/40$ ، $54/16$ ، $57/14$ با پیک فریت مس هم پوشانی شده است. الگوی پراش نشان دهنده ساختاری منظم و کریستاله بوده و نمونه کلسینه شده در دمای 800°C درجه

$12/5$ ، 25 ، 50 ، 100 ، 200 در بازه زمانی 24 و 72 ساعت استفاده گردید. اساس آن تشکیل رنگ بنفش فورمازان به دلیل احیای ترکیب MTT (دی متیل تیازول - ۲ و ۵ دی فنیل تترازولیوم برمید) و یا دیگر نمک های تترازولیوم است. برای این منظور پس از تهیه سوسپانسیون سلولی از رده HT29 به مقدار 10^4 سلول زنده در 200 میکرولیتر محیط کشت کامل، داخل پلیت ۹۶ خانه کشت داده شد. پلیت ها به مدت 24 ساعت انکوبه شد تا سلول به کف پلیت بچسبند. ردیف اول پلیت ۹۶ خانه به عنوان شاهد، ردیف دوم به عنوان کنترل و ردیف بعدی با غلظت های $12/5$ ، 25 ، 50 ، 100 ، 200 از عصاره و نانو ذرات تیمار داده شد. سلول ها به مدت 24 ساعت انکوبه شدند. بعد از سپری شدن زمان تیمار محیط کشت رویی خارج شد و به هر چاهک 180 میلی لیتر محیط کشت بدون FBS به همراه 20 میکرولیتر محلول MTT اضافه گردید و پلیت سلولی به مدت 4 ساعت دیگر انکوبه شد. پس از آن محیط کشت هر چاهک تخلیه و در هر چاهک 200 میکرو لیتر DMSO اضافه شد و جذب سلول ها بعد از 10 دقیقه را در طول موج 490 نانومتر توسط دستگاه الیزا ریدر اندازه گیری شد. درصد زندمانی سلولی توسط معادله (۱) محاسبه شد.

معادله (۱)

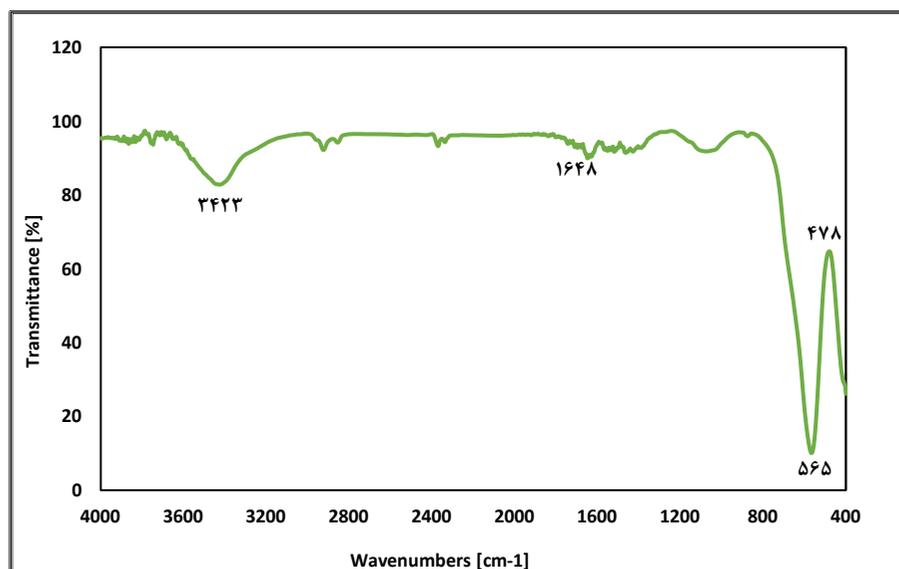
$$\text{Relative cell viability (\%)} = \frac{A_{\text{sample}} - A_{\text{b}}}{A_{\text{c}} - A_{\text{b}}}$$

A_{b} = جذب محلول DMSO

A_{c} = جذب نمونه کنترل

A_{sample} = جذب نمونه مورد نظر

7. Hyperthermia



شکل ۲. بررسی طیف FTIR نانو ذرات فریت مس

نشان می دهد [۱۷، ۱۸]. در فریت، یون های فلزی با توجه به پیکرندی هندسی، نزدیک ترین همسایه اکسیژن در دو زیر شبکه مختلف یعنی چهار وجهی (تتراهدرال) موقعیت A و هشت وجهی (اکتاهدرال) موقعیت B قرار دارند. پیک 565 cm^{-1} مربوط به ترکیبات اسپینلی است و به حالت کشش کمپلکس چهار وجهی نسبت داده می شود [۱۹]. پیک 478 cm^{-1} مربوط به ترکیبات اسپینلی و به حالت کشش کمپلکس هشت وجهی نسبت داده می شود و تایید کننده تشکیل ساختار فریت اسپینل است [۱۸].

بررسی آزمون جذب-واجذب نیتروژن نانو ذرات فریت مس (CuFe_2O_4)

در شکل ۳ منحنی ایزوترم نانو ذرات فریت مس کلسینه شده در دمای ۸۰۰ درجه سانتیگراد رسم شده است. روش های متعددی مبتنی بر تصویر برای اندازه گیری تخلخل و سطح ویژه وجود دارد که با توجه به کاربرد و مزایای بالای روش های مبتنی بر جذب که اساس کار اندازه گیری تخلخل و سطح ویژه در این روش ها بر پایه جذب سطحی ماده جذب شده بوده، استفاده می گردد. جذب معمولاً از طریق ایزوترم هایی بیان می گردد که معادل میزان ماده جذب شونده بر روی سطح جاذب است که تابعی از میزان فشار (در مورد گازها) و یا غلظت (در مورد مایعات) ماده جذب شونده در شرایط دمای ثابت می باشد. بلعکس ایزوترم واجذب بوسیله اندازه گیری مقدار گاز واجذب شده حاصل می شود [۲۰، ۲۱] با توجه به دسته بندی سازمان آیوپاک^۸، منحنی ایزوترم فریت مس از نوع III است و این ایزوترم مربوط به سامانه های غیر متخلخل

سانتیگراد که دارای ساختار کریستالی چهار وجهی تتراگونال ساده می باشد، تشکیل فریت اسپینل مس را تایید می کند و با نتایج تحقیقات هوکو و همکاران هم خوانی دارد [۱۵، ۱۶]. برای محاسبه اندازه بلورک از رابطه شرر (معادله ۲) استفاده شد.

معادله (۲)

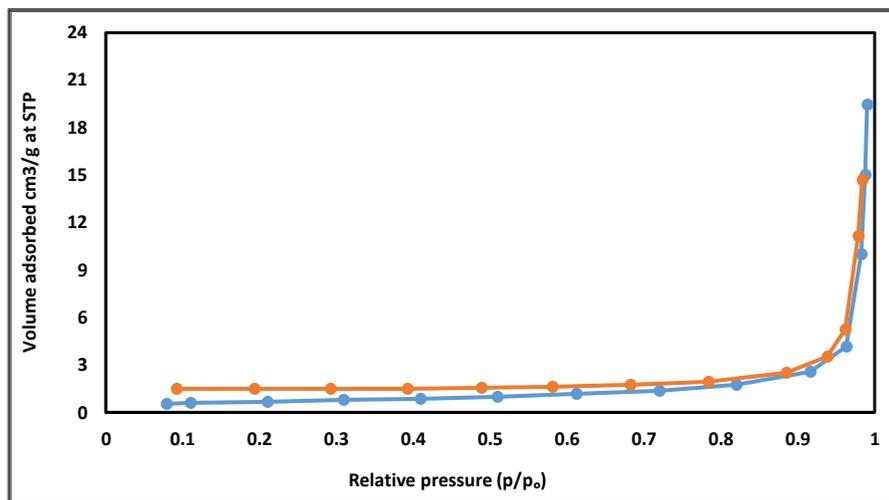
$$d = \frac{0.9\lambda}{\beta \cos \theta}$$

در این رابطه d اندازه کریستال ها و λ طول موج لامپ پرتو ایکس که هر دو در واحد آنگسترم، θ زاویه پراش، β پهنای پیک در نصف شدت ماکزیمم بر حسب رادیان است. اندازه بلورک در بازه ۱۵ تا ۴۰ نانومتر متغیر بوده و متوسط اندازه بلورک تقریباً ۲۵ نانومتر بدست آمد. با محاسبه پارامتر شبکه $a = 8/2314$ آنگستروم و $c = 8/7706$ آنگستروم محاسبه شد که مقادیر محاسبه شده به اعداد تئوری آن نزدیک به هم بوده و با نتایج تحقیق هوکو و همکارانشان مطابقت دارد [۱۵].

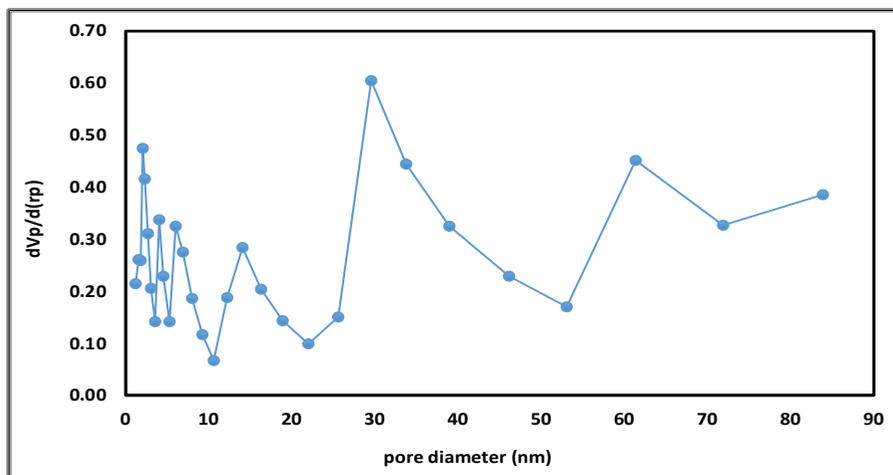
بررسی طیف تبدیل فوریه مادون قرمز (FTIR) نانو ذرات فریت مس

شکل ۲ نتایج حاصل از طیف سنجی FTIR نانو ذرات فریت مس (CuFe_2O_4) کلسینه شده در دماهای ۸۰۰ درجه سانتیگراد را در محدوده طول موج $4000-400 \text{ cm}^{-1}$ را جهت بررسی شیمی سطح و پیوند های مولکولی نشان می دهد. همان طور که در شکل ۳ مشخص است پیک 3423 cm^{-1} و 1648 در فریت مس به ترتیب مربوط به باند های کششی و ارتعاشات خمشی H-O-H آب است که جذب فیزیکی مولکول های آب را روی سطح و ارتعاشات باقیمانده H_2O در نمونه را

8. IUPAC



شکل ۳. منحنی ایزوترم نانو ذرات فریت مس CuFe_2O_4 کلسینه شده در دمای 800°C



شکل ۴. منحنی توزیع اندازه حفرات نانو ذرات فریت مس CuFe_2O_4 کلسینه شده در دمای 800°C

جدول ۱. مشخصات فیزیکی فریت مس درآزمون جذب و واجذب نیتروژن

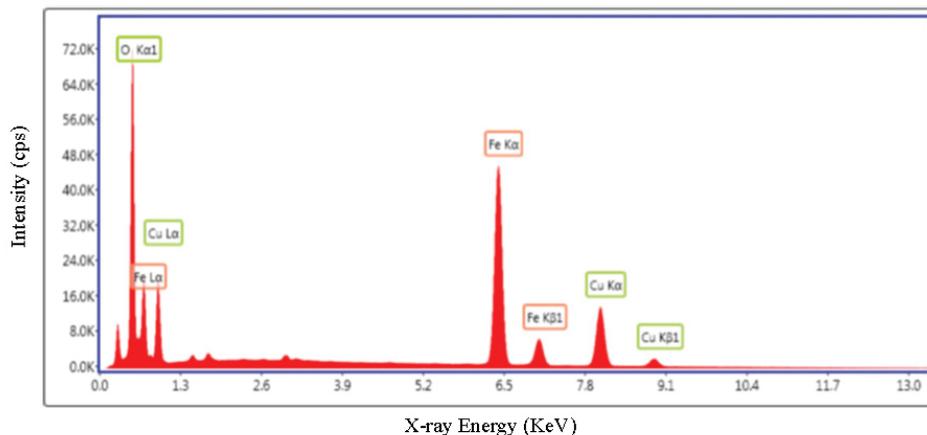
مشخصات نمونه	مساحت سطحی ویژه (m^2/g)	حجم حفرات (cm^3/g)	قطر متوسط حفرات (nm)
CuFe_2O_4	$2/59 \pm 0/20$	$0/028 \pm 0/005$	$46/4 \pm 22$

است و نیروی جذب در آن‌ها خیلی ضعیف است یا به عبارتی دیگر حفرات یا خیلی ریز یا خیلی درشت هستند که اغلب به عنوان یک سطح در نظر گرفته می‌شود. آزمون جذب و واجذب نیتروژن بر اساس جذب فیزیکی بوده و می‌بایست پارامترهای فیزیکی آن بررسی شود. در جدول ۱ مشخصات فیزیکی از جمله مساحت سطحی ویژه، حجم حفرات و اندازه حفرات نمونه تولیدی نمایش داده شده است.

همان طور که مشاهده می‌شود مساحت سطحی ویژه، حجم حفرات و اندازه حفرات نمونه هسته فریت مس به ترتیب $2/59 \pm 0/20 \text{ m}^2/\text{g}$ ، $0/028 \pm 0/005 \text{ cm}^3/\text{g}$ و $46/4 \pm 22 \text{ nm}$ اندازه گیری شد. به دلیل غیر متخلخل بودن ساختار آن که در ایزوترم جذب نیز مشاهده گردید مقادیر مساحت سطحی و حجم حفرات بسیار کم و ناچیز می‌باشد و اندازه حفرات آن خیلی بزرگ و به عنوان یک سطح در نظر می‌گیرند. نمودار توزیع اندازه حفرات نانو ذرات فریت مس CuFe_2O_4 کلسینه شده در دمای 800°C درجه سانتیگراد به روش BJH در شکل ۴ نمایش داده شده است. نمونه هسته فریت مس مساحت سطحی آن بسیار کم بوده و جزء سیستم‌های غیر متخلخل است. لذا نمودار توزیع حفرات آن به صورت نامنظم و بسیار ناچیز و تایید کننده نمودار ایزوترم خود می‌باشد [۱۶، ۲۲].

همان طور که مشاهده می‌شود مساحت سطحی ویژه، حجم حفرات و اندازه حفرات نمونه هسته فریت مس به ترتیب $2/59 \pm 0/20 \text{ m}^2/\text{g}$ ، $0/028 \pm 0/005 \text{ cm}^3/\text{g}$ و $46/4 \pm 22 \text{ nm}$ اندازه گیری شد. به دلیل غیر متخلخل بودن ساختار آن که در ایزوترم جذب نیز مشاهده گردید مقادیر مساحت سطحی و حجم حفرات بسیار کم و ناچیز می‌باشد و اندازه حفرات آن خیلی بزرگ و به عنوان یک سطح در نظر گرفته می‌شود. آزمون جذب و واجذب نیتروژن بر اساس جذب فیزیکی بوده و می‌بایست پارامترهای فیزیکی آن بررسی شود. در جدول ۱ مشخصات فیزیکی از جمله مساحت سطحی ویژه، حجم حفرات و اندازه حفرات نمونه تولیدی نمایش داده شده است.

همان طور که مشاهده می‌شود مساحت سطحی ویژه، حجم حفرات و اندازه حفرات نمونه هسته فریت مس به ترتیب $2/59 \pm 0/20 \text{ m}^2/\text{g}$ ، $0/028 \pm 0/005 \text{ cm}^3/\text{g}$ و $46/4 \pm 22 \text{ nm}$ اندازه گیری شد. به دلیل غیر متخلخل بودن ساختار آن که در ایزوترم جذب نیز مشاهده گردید مقادیر مساحت سطحی و حجم حفرات بسیار کم و ناچیز می‌باشد و اندازه حفرات آن خیلی بزرگ و به عنوان یک سطح در نظر گرفته می‌شود. آزمون جذب و واجذب نیتروژن بر اساس جذب فیزیکی بوده و می‌بایست پارامترهای فیزیکی آن بررسی شود. در جدول ۱ مشخصات فیزیکی از جمله مساحت سطحی ویژه، حجم حفرات و اندازه حفرات نمونه تولیدی نمایش داده شده است.



شکل ۵. آنالیز پراش انرژی اشعه ایکس (EDAX) برای نانو ذرات فریت مس (CuFe_2O_4)

جدول ۲. آنالیز عنصری نقطه ای نانو ذرات فریت مس (CuFe_2O_4)

مشخصات نمونه	نام عنصر	نماد شیمیایی	عدد اتمی عنصر	درصد اتمی %	درصد وزنی %
CuFe_2O_4	اکسیژن	O	۸	۴۵/۷۸	۱۸/۷۷
	آهن	Fe	۲۶	۳۵/۹۱	۵۱/۴
	مس	Cu	۲۹	۱۸/۳۱	۲۹/۸۳
	جمع کل عناصر			۱۰۰	۱۰۰

توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی نشر میدانی در شکل ۶ نشان داده شده است. همان طور که مشخص است نمونه دارای نانو ذرات همگن با شکل تقریباً کروی می باشد نانو ذرات به دلیل فعل انفعالات مغناطیسی در بین ذرات، آگلومره شده اند و تعامل نسبتاً قوی بین نانو ذرات مغناطیسی به دلیل نیروی واندروالس و اثر متقابل دو قطبی مغناطیسی برقرار است و آگلومراسیون و شکل و مورفولوژی ذرات می تواند تاثیر زیادی بر مساحت سطحی ویژه بگذارد [۱۰، ۲۳-۲۵]. متوسط اندازه نانو ذرات فریت مس توسط FESEM حدوداً مقدار 96 ± 10 nm تعیین گردید. مقادیر متوسط اندازه ذرات از متوسط اندازه بلورک بیشتر است و نشان دهنده این است که هر ذره از چند بلورک تشکیل شده است و پلی کریستال است [۱۰، ۱۸].

بررسی خواص مغناطیسی فریت مس توسط آزمون مغناطیس سنجی نمونه ارتعاشی (VSM)

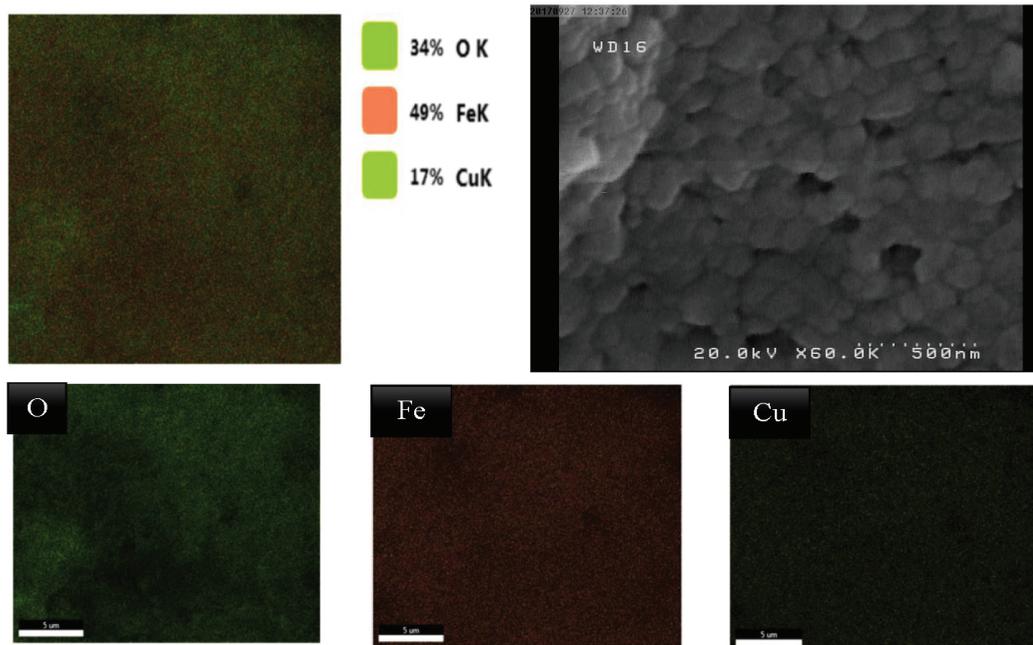
شکل ۷ حلقه هیستریزس مغناطیسی نانو ذرات فریت مس (CuFe_2O_4) کلسینه شده در دمای ۸۰۰ درجه سانتیگراد را نشان می دهد. ذکر این نکته ضروری است که با کاهش دمای زینترینگ و کاهش اندازه ذرات در فریت مس، مغناطیس اشباع کاهش می یابد و این به دلیل اثر سطحی می باشد و

بررسی آنالیز عنصری و تصاویر میکروسکوپ الکترونی نشر میدانی (FESEM)

شکل ۵ آنالیز پراکندگی انرژی پراش اشعه ایکس (EDAX) مربوط به فریت مس (CuFe_2O_4) کلسینه شده در دمای ۸۰۰ درجه سانتیگراد است. همان طور که مشخص است، حضور عناصر آهن، مس و اکسیژن را در نانو ذرات فریت مس نشان می دهد و نتایج حاصل از تعیین ترکیب شیمیایی نمونه و نسبت های استوکیومتری در جدول ۲ آورده شده است. همان طور که در جدول ۲ مشاهده می شود نانو ذرات فریت مس فقط شامل Cu^{2+} ، Fe^{3+} و O^{2-} است و درصد اتمی آن ها تقریباً نزدیک به نسبت استوکیومتری به ترتیب ۱:۲:۴ برای مس، آهن و اکسیژن است و تشکیل فریت مس را تایید می کنند [۱۰].

آنالیز Mapping فریت مس (CuFe_2O_4) در شکل ۶ نمایش داده شده است. همان طور که نتایج نشان می دهد به دلیل این که روش تولید شیمیایی می باشد و در روش های سنتز شیمیایی چون مواد در حد مولکولی مخلوط می شوند و جزء روش های تولید از پایین به بالا هست، بنابراین توزیع یکنواختی از عناصر ایجاد شده و تجمع عناصر وجود ندارد [۲۳].

مشخصات مورفولوژیکی و شکل نانو ذرات فریت مس (CuFe_2O_4) کلسینه شده در دمای ۸۰۰ درجه سانتیگراد



شکل ۶. آنالیز نقشه پراکندگی عنصری پرتو ایکس (Mapping) و تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی نانو ذرات فریت مس

بنابراین مغناطش اشباع یک فری مغناطیس جامد را می توان از چرخش مغناطیس هر کاتیون دو ظرفیتی و غلظت کاتیون های محصول تولیدی بدست آورد [۱۰، ۱۳]. مغناطیس اشباع یک فاکتور ذاتی نانو ذرات مغناطیسی است که متأثر از ساختار کریستالی و ترکیب شیمیایی و روش آماده سازی است [۲۷]. پارامترهای مغناطیسی شامل مغناطیس اشباع M_s ، مغناطیس باقیمانده M_r ، وادارندگی مغناطیسی H_c نمونه تولیدی در جدول ۳ آورده شده است. فریت مس دارای مغناطیس اشباع و مغناطیس باقی مانده به ترتیب مقادیر $28/29$ emu/g و $38/15$ و وادارندگی 780 Oe می باشد که با نتایج بدست آمده تحقیقات رایان^{۱۰} و همکاران مطابقت دارد [۱۲]. در پژوهشی دیگر کومبایه و همکاران مقدار مغناطیس اشباع و مغناطیس باقی مانده فریت مس را به ترتیب $40/29$ و $48/12$ emu/g گزارش دادند که با نتایج بدست آمده هم خوانی دارد [۱۰]. پارامتر دیگری که در جدول ۳ گزارش شده است نسبت M_r/M_s است که خاصیت سوپر پارا مغناطیس از آن قابل مشاهده است. هر چه این نسبت کمتر باشد خاصیت سوپر پارا مغناطیس بیشتر و با کاهش دمای کلسیناسیون این خاصیت بیشتر می شود. معمولاً این نسبت در مواد سوپر پارامغناطیس عدد $0/1$ است [۱۷، ۲۸].

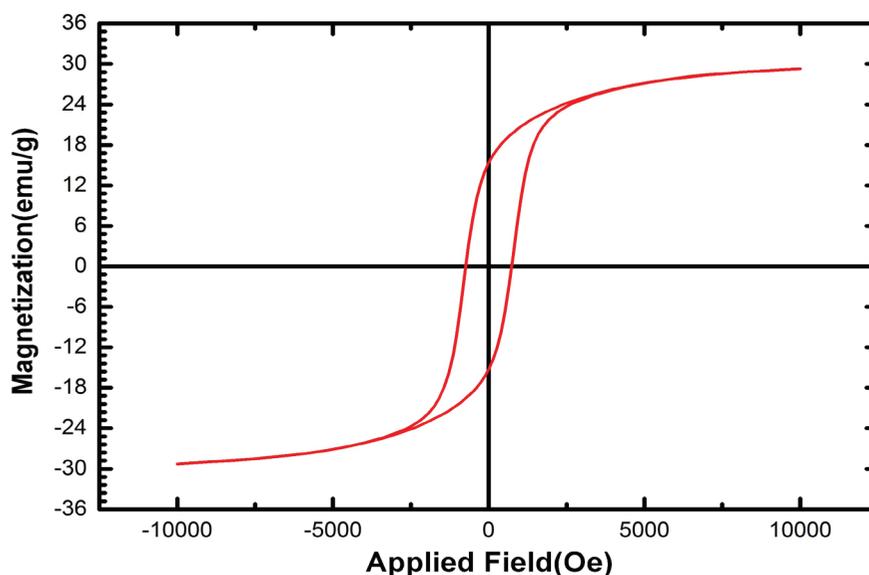
بررسی نتایج جذب و بارگذاری و رهایش داروی ایبوپروفن در نانو ذرات فریت مس

طول موج مناسب یا همان طول موج ماکزیمم که دارای

بیشتر اتم ها روی سطح باقی مانده و در نتیجه با هم تبادل مغناطیسی نداشته و باعث کاهش مغناطیس اشباع می شوند و با افزایش دمای زینترینگ و افزایش اندازه ذرات مغناطیس اشباع افزایش می یابد [۱۵، ۲۶]. مغناطیس اشباع نیز با افزایش اندازه بلورک افزایش می یابد و این نیز به دلیل اثر سطحی است که اصطلاحاً مرگ سطحی^۹ می گویند که ارتباط نزدیکی با اختلال چرخش سطحی دارد و وقتی اندازه بلورک نمونه افزایش می یابد تعداد سطح های اسپین نمونه افزایش یافته و مغناطیس اشباع افزایش می یابد [۱۰]. با توجه به نتایج اندازه بلورک و اندازه ذرات آن، حلقه هیستریزس منطقی بوده و ماهیت فری مغناطیس نانو ذرات فریت مس (CuFe_2O_4) سنتز شده را نشان می دهد [۱۵]. مغناطیس اشباع را می توان با توزیع کاتیون ها شرح داد. فریت مس (CuFe_2O_4) دارای ساختار اسپیل معکوس بوده و دو کاتیون مغناطیسی ($\text{Cu}^{2+}, \text{Fe}^{3+}$) دارد. نیمی از Fe^{3+} مکان های چهار وجهی و نصف دیگر به همراه Cu^{2+} مکان های هشت وجهی را اشغال می کنند. در این نوع اسپینل تعامل دومین ها در موقعیت های A و B خاصیت مغناطیسی را تعیین می کند همه دومین های Fe^{3+} در مکان های هشت وجهی به طور موازی با یکدیگر در حال چرخش هستند اما تمام دومین های Fe^{3+} در مکان های چهار وجهی در خلاف جهت آن ها در حال گردش هستند. بنابراین یون Fe^{3+} سهمی خاصی در مغناطش در حالت جامد ندارد در حالی که تمام یون های دو ظرفیتی به صورت موازی همدیگر هم تراز شده و کل آن ها مسئول مغناطش خالص هستند.

10. Rayan

9. Dead Surface



شکل ۷. حلقه هیستریزس نانو ذرات فریت مس (CuFe_2O_4) کلسینه شده در دمای 800°C

جدول ۳. پارامتر های مغناطیسی شامل مغناطیس اشباع، مغناطیس باقیمانده و وادارندگی فریت مس

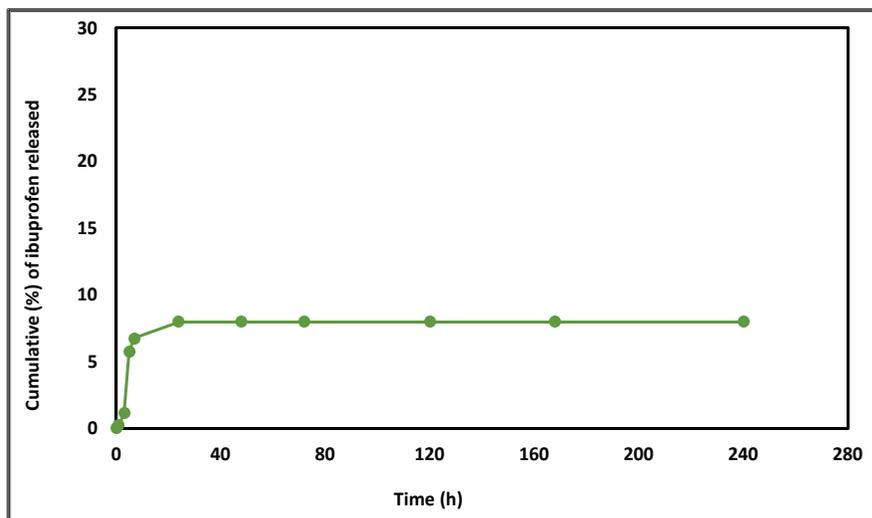
مشخصات نمونه	مغناطیس اشباع (M_s) (emu/g)	مغناطیس باقیمانده (M_r) (emu/g)	وادارندگی مغناطیسی (H_c) (Oe)	مغناطیس نرمالایز شده (M_r/M_s)
CuFe_2O_4	۲۹/۲۸	۱۵/۳۸	۷۸۰	۰/۵۲

بررسی نتایج روش های پرترمیا برای فریت مس (CuFe_2O_4)

منحنی دما و زمان نانو ذرات مغناطیسی فریت مس تحت میدان مغناطیسی متناوب (AC) ۱۰۰ Oe و فرکانس ۲۰۰ KHZ مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از این بررسی در شکل ۹ نشان داده شده است و نانو ذرات تغییر دمای قابل توجهی از خود نشان دادند. بیشینه دما برای نانو ذرات فریت مس تقریباً ۴۲ درجه سانتیگراد گزارش شد. این نتایج را می توان به متوسط اندازه نانو ذرات فریت مس که از تصاویر میکروسکوپ الکترونی نشر میدانی (FESEM) بدست آمده و مقدار 96 ± 10 nm و همچنین خواص مغناطیسی از جمله مغناطیس اشباع Ms که برای نانو ذرات فریت مس مقدار ۲۹/۲۸ emu/g اندازه گیری شده است تعمیم داد. به این معنی که هر چه اندازه نانو ذرات کوچکتر و مقدار مغناطیس اشباع بیشتر باشد تغییرات دما و دمای بیشینه افزایش می یابد [۱۱].

اگر رفتار افزایش دما نسبت به زمان را برای منحنی های پرترمیا بررسی شود می توان آن را به دو مرحله تقسیم نمود. مرحله اول در چند دقیقه اول اتفاق می افتد با توجه به این که محیط در این منطقه آدیاباتیک است و گرما به بیرون درز نمی کند افزایش درجه حرارت خیلی سریع اتفاق می افتد. مرحله دوم افزایش تدریجی تر را نشان می دهد که معمولاً افزایش درجه حرارت به واسطه مساحت حلقه مغناطیسی

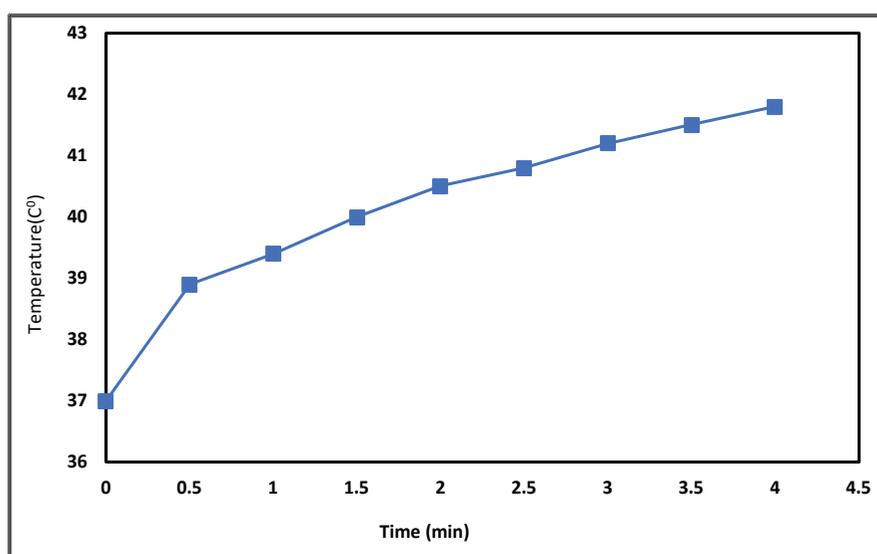
بیشترین مقدار جذب داروی ایبوپروفن در اتانول و محلول PBS، عدد ۲۲۲ nm اندازه گیری شد. داروی ایبوپروفن یک داروی ضد درد و ضد التهاب است و شامل یک گروه اسید کربوکسیلیک است که از طریق واکنش اسید-پایه می تواند پیوند قوی تری با بسیاری از گروه ها ایجاد کند [۲۹]. نانو ذرات فریت مس با توجه به مشخصات جذب فیزیکی و سطح ویژه، عدد جذب حدوداً ۴ درصد اندازه گیری شد و با استفاده از معادله تغییرات جذب-غلظت داروی ایبوپروفن در اتانول، مقدار وزنی داروی بار گذاری شده در نانو ذرات فریت مس مقدار ۴/۲ mg محاسبه گردید. می توان با بهبود ساختاری سطح و افزایش مساحت سطحی ویژه آن به صورت ساختار هسته-پوسته، یعنی هسته فریت مس با یک پوسته و پوشش که باعث افزایش مساحت سطحی ویژه گردد، جذب و رهایش دارو را در آن بهبود بخشید. رهایش داروی ایبوپروفن تحت شرایط آزمایشگاهی برون تنی (In Vitro) در محیط رهایش شبیه سازی شده بدن (PBS) و در دمای شبیه بدن ۳۷ درجه سانتیگراد و در $\text{pH} = 7/4$ و در یک بازه زمانی ۲۴۰ ساعته انجام گرفت و نتایج حاصل از رهایش دارو ایبوپروفن در شکل ۸ نشان داده شده است. مقدار بیشینه رهایش دارو در آن در حدود ۸ درصد که در همان ساعات اولیه اتفاق افتاده و پس از آن رهایش به صورت کنترل شده آزاد شده است.



شکل ۸. رهائش داروی ایبوپروفن در بازه زمانی ۲۴ ساعته از نانو ذرات فریت مس

ذرات مغناطیس به طور معمول در آب پراکنده می‌شوند که به چنین محلول‌هایی فرولوئید نیز گفته می‌شود. وقتی جهت میدان مغناطیس خارجی بر روی چنین فرولوئیدهایی تغییر می‌کند، فرولوئید با انتقال انرژی گرمایی به محیط اطراف به آسایش می‌رسد. دو مکانیسم اصلی مسئول این آسایش، آسایش براونی و آسایش نیل است. مکانیسم آسایش براونی به علت چرخش فیزیکی خود ذرات است و مکانیسم آسایش نیل به علت چرخش ممان مغناطیسی در داخل ذرات است. ذکر این نکته ضروری است که هیچ یک از این سازوکارها و مکانیزم‌ها به تنهایی نمی‌توانند منشا تولید گرما باشند. احتمالاً ترکیبی از این مکانیزم‌ها مطلوب تر است [۱۲]. برای ارزیابی بیشتر راندمان تولید گرمای نمونه‌های تولیدی، نرخ

است. چنین رفتاری در مورد سایر سیستم‌های فریتی رخ داده است. به طور کلی سه مکانیزم مرتبط با تولید گرما در نانو ذرات مغناطیسی وجود دارد: ۱- افزایش حرارت به واسطه مساحت حلقه مغناطیسی ۲- آسایش براوین ۳- آسایش نیل. بر این اساس برای غلبه بر دیواره دومین‌ها که به وسیله خواص ذاتی ماده، آنیزوتروپی، مرزدانه‌ها و ناخالصی‌ها در مواد ایجاد می‌شود، به انرژی خارجی نیاز است. اگر میدان خارجی مغناطیسی متناوب به صورت پیوسته بر مواد فرومغناطیس یا فری مغناطیس اعمال شود، یک جریان پیوسته از انرژی به این مواد انتقال می‌یابد که در ماده به حرارت تبدیل می‌شود. این امر مبنای فیزیکی درمان‌های هایپرترمی مغناطیسی در مواد فرو و فری مغناطیس است. برای درمان‌های هایپرترمی،



شکل ۹. منحنی توانایی گرمایش نانو ذرات فریت مس نسبت به زمان

جدول ۴. نتایج حاصل از اندازه گیری نرخ جذب ویژه برای نانو ذرات فریت مس

مشخصه نمونه	بیشینه دما (°C)	شیب اولیه نمودار (°C/S)	نرخ جذب ویژه (W/g)	مساحت تقریبی حلقه مغناطیسی Mr*Hc (Oe*emu/g)
CuFe ₂ O ₄	۴۱/۸	۰/۰۶	۹/۶۲	۱۱۹۹۶/۴

بررسی سلول سازگاری و آزمون سمیت MTT فریت مس (CuFe₂O₄)

در این پژوهش، برای سنجش سمیت سلولی از آزمون MTT استفاده گردید. تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار spss و آنالیز واریانس یک سویه^{۱۲} با میزان خطای (P ≤ ۰/۰۵) به عنوان سطح معنی دار در نظر گرفته شد. با توجه به حضور مقداری اندکی هماتیت در ترکیب مذکور، بحث سازگاری سلولی و سمیت آن در غلظت های مختلف قبلاً بررسی شده است و مطابق مراجع بالای ۸۰ درصد زنده مانی سلولی از خود نشان داده است و مشکلی برای بحث سمیت سلولی ایجاد نمی کند [۳۰-۳۲]. اثر سمیت سلولی نانو ذرات فریت مس CuFe₂O₄ بر روی رده سلول سرطانی روده HT29 در غلظت های ۲۴ و ۷۲ ساعت ۱۲،۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ μg/ml در بازه زمانی ۲۴ و ۷۲ ساعت مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج زنده مانی سلولی در شکل ۱۰ قسمت الف) آورده شده است. همان طور که مشخص است در غلظت ۲۵ μg/ml درصد زنده مانی سلولی و سازگاری سلولی نانو ذرات فریت مس بالای ۷۰ درصد بوده که نتیجه قابل قبول است. همان طور که دیده می شود با کاهش غلظت، میزان زنده مانی سلولی افزایش یافته و همچنین با افزایش زمان آزمون تا ۷۲ ساعت در غلظت های بالا شامل ۲۰۰، ۱۰۰ و ۵۰ μg/ml از میزان زنده مانی و سازگاری سلولی کاسته شده و در غلظت های پایین شامل ۲۵ μg/ml و ۱۲/۵ میزان زنده مانی و سازگاری سلولی افزایش یافته است که این امر در شکل ۱۰ قسمت ب) قابل مشاهده می باشد. بررسی ها نشان داد که سمیت سلولی وابسته به غلظت و زمان است. بالاترین درصد زنده مانی سلولی در نانو ذرات فریت مس در غلظت ۱۲/۵ μg/ml بدست آمد که در بازه زمانی ۲۴ و ۷۲ ساعت به ترتیب مقادیر ۷۸/۳۶ و ۸۱/۴۹ درصد اندازه گیری شد. یعنی با افزایش غلظت، درصد زنده مانی سلولی به تدریج کاهش می یابد. بیشترین اثر سمیت نانو ذرات فریت مس در غلظت ۲۰۰ μg/ml بوده که در بازه زمانی ۲۴ و ۷۲ ساعت به ترتیب مقادیر ۲۴/۷۶ و ۲۱/۱۳ درصد اندازه گیری شد که نشان دهنده سمیت بالا در غلظت های بالاتر است. بعد از بررسی نتایج شکل ۱۰ توسط تحلیل آماری، P < ۰/۰۵ بدست آمد

جذب ویژه (SAR) به وسیله رابطه (۳) محاسبه گردید که نتایج آن به همراه سایر پارامترهای دیگر در جدول ۴ نشان داده شده است.

معادله (۳)

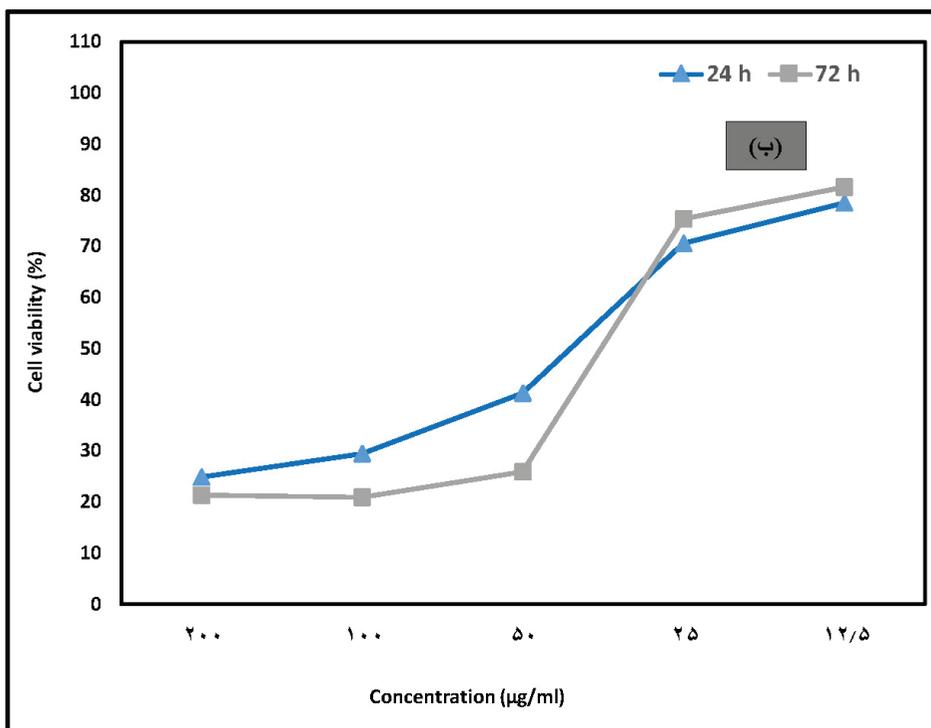
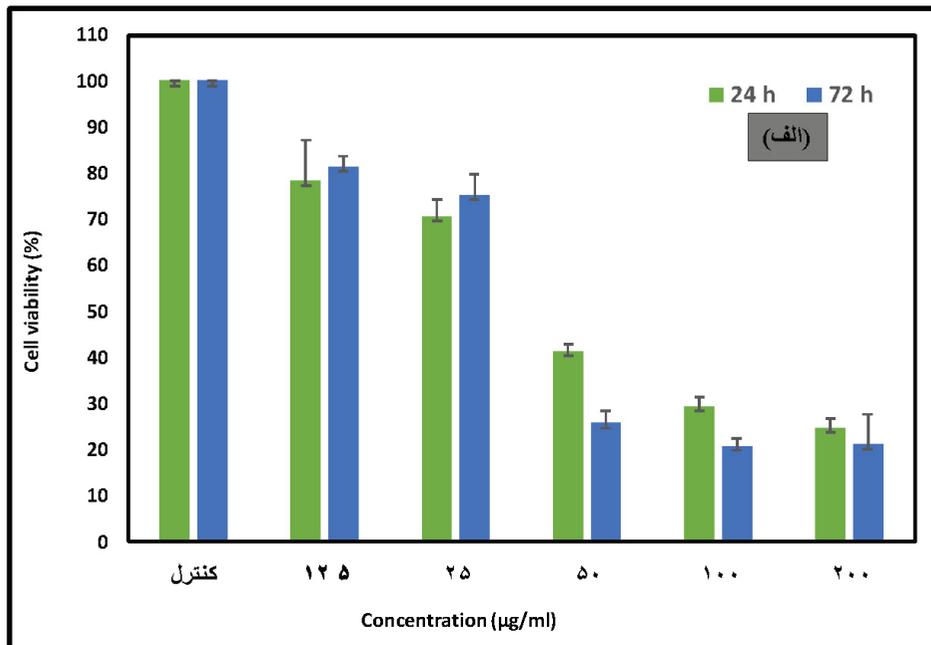
$$SAR = C_e \frac{dT}{dt}$$

که در این رابطه C_e ظرفیت حرارتی ویژه نمونه بر حسب وات بر گرم و dT تغییرات دمایی بر حسب سانتیگراد و dt تغییرات زمان بر حسب ثانیه است.

در یک تحقیق، کومبایه^{۱۱} و همکاران [۱۰] فریت مس با متوسط اندازه کریستالیت ۲۴/۵ نانو متر، مقدار بیشینه دما را ۳۹/۷ °C و شیب اولیه نمودار ۰/۰۲ °C/S، نرخ جذب ویژه ۶/۱۶ W/g و مساحت تقریبی حلقه هیستریزس Oe*emu/g ۱۱۸۰۳/۰۵ را تولید کردند که مقادیر بدست آمده در تحقیق حاضر شامل بیشینه دما ۴۱/۸ °C، شیب اولیه نمودار ۰/۰۶ °C/S، نرخ جذب ویژه ۹/۶۲ W/g و مساحت تقریبی حلقه هیستریزس Oe*emu/g ۱۱۹۹۶/۴ دارای نتایج بهتری می باشد. ذکر این نکته ضروری است که مقدار نرخ جذب ویژه (SAR) مستقیماً به شیب اولیه افزایش دما (در ۳۰ ثانیه اول) بستگی دارد. افزایش سرعت بالا رفتن درجه حرارت برای درمان هایپرترمیا بسیار ضروری است. بررسی ها نشان داد که این امر بسیار موثرتر از این است که نمونه به حداکثر درجه برسد. هدف از یک درمان هایپرترمیای موثر و کارآمد، دستیابی به افزایش بهینه دما است. در کل پارامترهای زیادی از جمله قدرت میدان مغناطیسی، فرکانس، ماهیت نانو ذرات، اندازه نانو ذرات و خصوصیات مغناطیسی بر روی نرخ جذب ویژه موثر هستند. هر چه مقدار نرخ جذب ویژه افزایش یابد می بایست دوز کمتری از نانو ذرات را در بدن وارد کرد. مقادیر نرخ جذب ویژه بدست آمده نشان می دهد که فریت مس می تواند یک کاندیدای مناسب برای هایپرترمیا در نظر گرفته شود. مساحت حلقه هیستریزس مقدار حرارت ایجاد شده را نشان می دهد و هر چه مساحت حلقه بیشتر باشد حرارت ایجاد شده بیشتر است [۱۰، ۱۲].

12. ANOVA

11. Kombaiah



شکل ۱۰. قسمت الف) بررسی سمیت سلولی نانو ذرات فریت مس در غلظت های مختلف ب) روند سمیت سلولی نانو ذرات فریت مس در غلظت های مختلف، بر روی رده سلولی HT29 در بازه زمانی ۲۴ و ۷۲ ساعت و بیان گر ($P < 0/05$)

دارو، هایپر ترمیا و تصویر برداری با رزونانس مغناطیسی بالا مورد بررسی قرار گیرد.

که نشان می دهد بین نتایج سازگاری سلولی و غلظت تفاوت معناداری وجود دارد و با افزایش غلظت، مرگ سلولی رخ داده است. بنابراین نانو ذرات بدست آمده در این تحقیق می تواند در برنامه های کاربردی پزشکی از جمله درمان سرطان، رهایش

References

- [1] D. Ortega, and Q. A. Pankhurst, "Magnetic hyperthermia," *Nanoscience*, vol. 1, no. 60, pp. e88, 2013.
- [2] T. Kobayashi, "Cancer hyperthermia using magnetic nanoparticles," *Biotechnology journal*, vol. 6, no. 11, pp. 1342-1347, 2011.
- [3] A. E. Deatsch, and B. A. Evans, "Heating efficiency in magnetic nanoparticle hyperthermia," *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, vol. 354, pp. 163-172, 2014.
- [4] M. Johannsen, B. Thiesen, P. Wust, and A. Jordan, "Magnetic nanoparticle hyperthermia for prostate cancer," *International Journal of Hyperthermia*, vol. 26, no. 8, pp. 790-795, 2010.
- [5] C. S. Kumar, and F. Mohammad, "Magnetic nanomaterials for hyperthermia-based therapy and controlled drug delivery," *Advanced drug delivery reviews*, vol. 63, no. 9, pp. 789-808, 2011.
- [6] S. Laurent, S. Dutz, U. O. Häfeli, and M. Mahmoudi, "Magnetic fluid hyperthermia: focus on superparamagnetic iron oxide nanoparticles," *Advances in colloid and interface science*, vol. 166, no. 1-2, pp. 8-23, 2011.
- [7] M. T. Peracchia, R. Gref, Y. Minamitake, A. Domb, N. Lotan, and R. Langer, "PEG-coated nanospheres from amphiphilic diblock and multiblock copolymers: investigation of their drug encapsulation and release characteristics," *Journal of Controlled Release*, vol. 46, no. 3, pp. 223-231, 1997.
- [8] B. Gander, H. P. Merkle, and G. Corradin, *Antigen delivery systems: immunological and technological issues*: Taylor & Francis, 1998.
- [9] P. Couvreur, C. Dubernet, and F. Puisieux, "Controlled drug delivery with nanoparticles: current possibilities and future trends," *European journal of pharmaceuticals and biopharmaceutics*, vol. 41, no. 1, pp. 2-13, 1995.
- [10] K. Kombaiah, J. J. Vijaya, L. J. Kennedy, M. Bououdina, and B. Al-Najar, "Conventional and microwave combustion synthesis of optomagnetic CuFe₂O₄ nanoparticles for hyperthermia studies," *Journal of Physics and Chemistry of Solids*, vol. 115, pp. 162-171, 2018.
- [11] I. Sharifi, H. Shokrollahi, and S. Amiri, "Ferrite-based magnetic nanofluids used in hyperthermia applications," *Journal of magnetism and magnetic materials*, vol. 324, no. 6, pp. 903-915, 2012.
- [12] D. E. Rayan, and M. Ismail, "Magnetic Properties and Induction Heating Ability Studies of Spinal Ferrite Nanoparticles for Hyperthermia Treatment of Tumours," *Egyptian Journal of Biomedical Engineering and Biophysics*, vol. 19, no. 1, pp. 51-61, 2018.
- [13] D. Thapa, N. Kulkarni, S. Mishra, P. Paulose, and P. Ayyub, "Enhanced magnetization in cubic ferrimagnetic CuFe₂O₄ nanoparticles synthesized from a citrate precursor: the role of Fe²⁺," *Journal of Physics D: Applied Physics*, vol. 43, no. 19, pp. 195004, 2010.
- [14] J. Jiang, G. Goya, and H. Rechenberg, "Magnetic properties of nanostructured CuFe₂O₄," *Journal of Physics: Condensed Matter*, vol. 11, no. 20, pp. 4063, 1999.

۴. نتیجه گیری

نانو ذرات فریت مس به روش سل-ژل احتراقی سنتز گردید و در کاربردهای زیست پزشکی دارورسانی و هایپرترمیا مورد بررسی قرار گرفت. از بررسی الگوی پراش اشعه ایکس نانو ذرات فریت مس، متوسط اندازه بلورک در حدود 8 ± 25 محاسبه گردید. مساحت سطحی ویژه آن برابر $2/59 \pm 0/20 \text{ m}^2/\text{g}$ حضور عناصر اکسیژن، آهن و مس را نشان می دهد و درصد فاز ها و نسبت استوکیومتری تشکیل فاز فریت را تایید کرده است. در بررسی آنالیز نقشه پراکندگی عناصر بر روی سطح، توزیع یکنواخت از عناصر را نشان می دهد. تصاویر میکروسکوپ الکترونی نشر میدانی حاکی از مورفولوژی و شکل کروی نانو ذرات است و متوسط اندازه نانو ذرات فریت مس حدوداً $10 \pm 96 \text{ nm}$ بوده و با توجه به اندازه متوسط بلورک که در حدود $8 \pm 25 \text{ nm}$ بدست آمد، نشان از ساختار پلی کریستال دارد. بررسی خواص مغناطیسی نمونه های تولیدی نشان داد که نانو ذرات فریت مس دارای خاصیت فری مغناطیس بوده و دارای مغناطیس اشباع در حدود $29/28 \text{ emu/g}$ است. بیشترین میزان جذب و بارگذاری داروی ایبوپروفن حدوداً ۴ درصد و معادل مقدار $4/2 \text{ mg}$ *In vitro* بررسی رهایش دارو در شرایط نشان داد که بیشترین مقدار رهایش دارو حدوداً ۸ درصد اندازه گیری شد. فریت مس بعد از قرار گرفتن در میدان مغناطیسی، افزایش دما تا حدود ۴۲ درجه سانتیگراد و نرخ جذب ویژه خوب $9/62 \text{ (W/g)}$ از خود نشان داد که می توان از آن در برنامه های زیست پزشکی و هایپرترمیا استفاده کرد. نتایج سمیت سلولی بر روی سلول HT29 نشان داد که سمیت سلولی نانو ذرات فریت مس با افزایش غلظت افزایش یافته است و در غلظت بهینه و مطلوب $25 \text{ } \mu\text{g/ml}$ درصد زنده مانی سلولی افزایش قابل ملاحظه ای داشت و در غلظت های کمتر از آن درصد زنده مانی سلولی افزایش یافته است.

- [15] S. M. Hoque, S. Kader, D. Paul, D. Saha, H. Das, M. Rana, K. Chattopadhyay, and M. Hakim, "Effect of Grain Size on Structural and Magnetic Properties of CuFe_2O_4 Nanograins Synthesized by Chemical Co-Precipitation," *IEEE transactions on magnetics*, vol. 48, no. 5, pp. 1839-1843, 2011.
- [16] F. Shi, H. Shan, D. Li, X. Yin, J. Yu, and B. Ding, "A general strategy to fabricate soft magnetic $\text{CuFe}_2\text{O}_4@ \text{SiO}_2$ nanofibrous membranes as efficient and recyclable Fenton-like catalysts," *Journal of colloid and interface science*, vol. 538, pp. 620-629, 2019.
- [17] S. Rostamzadehmansour, M. Seyedsadjadi, and K. Mehrani, "An Investigation on Synthesis and Magnetic Properties of Manganese Doped Cobalt Ferrite Silica Core-Shell Nanoparticles for Possible Biological Application," *Int. J. Bio-Inorg. Hybd. Nanomat*, vol. 2, no. 1, pp. 271-280, 2013.
- [18] J. Feng, L. Su, Y. Ma, C. Ren, Q. Guo, and X. Chen, " CuFe_2O_4 magnetic nanoparticles: A simple and efficient catalyst for the reduction of nitrophenol," *Chemical engineering journal*, vol. 221, pp. 16-24, 2013.
- [19] H. Jiao, G. Jiao, and J. Wang, "Preparation and magnetic properties of CuFe_2O_4 nanoparticles," *Synthesis and Reactivity in Inorganic, Metal-Organic, and Nano-Metal Chemistry*, vol. 43, no. 2, pp. 131-134, 2013.
- [20] D. D. Do, *Adsorption analysis: equilibria and kinetics*: Imperial college press London, 1998.
- [21] J. Rouquerol, F. Rouquerol, P. Llewellyn, G. Maurin, and K. S. Sing, *Adsorption by powders and porous solids: principles, methodology and applications*: Academic press, 2013.
- [22] E. Santamaría, A. Maestro, M. Porras, J. Gutiérrez, and C. González, "Preparation of structured meso-macroporous silica materials: influence of composition variables on material characteristics," *Journal of Porous Materials*, vol. 21, no. 3, pp. 263-274, 2014.
- [23] A. Baykal, S. Esir, A. Demir, and S. Güner, "Magnetic and optical properties of $\text{Cu}_{1-x}\text{Zn}_x\text{Fe}_2\text{O}_4$ nanoparticles dispersed in a silica matrix by a sol-gel auto-combustion method," *Ceramics International*, vol. 41, no. 1, pp. 231-239, 2015.
- [24] M. Amir, M. Sertkol, A. Baykal, and H. Sözeri, "Magnetic and catalytic properties of $\text{Cu}_x\text{Fe}_{1-x}\text{Fe}_2\text{O}_4$ nanoparticles," *Journal of Superconductivity and Novel Magnetism*, vol. 28, no. 8, pp. 2447-2454, 2015.
- [25] F. Tajfirooz, A. Davoodnia, M. Pordel, M. Ebrahimi, and A. Khojastehnezhad, "Novel $\text{CuFe}_2\text{O}_4@ \text{SiO}_2\text{-OP}2\text{O}5\text{H}$ magnetic nanoparticles: Preparation, characterization and first catalytic application to the synthesis of 1, 8-dioxo-octahydroxanthenes," *Applied Organometallic Chemistry*, vol. 32, no. 1, pp. e3930, 2018.
- [26] S. S. Kader, D. P. Paul, and S. M. Hoque, "Effect of temperature on the structural and magnetic properties of CuFe_2O_4 nano particle prepared by chemical co-precipitation method," *International Journal of Materials, Mechanics and Manufacturing*, vol. 2, no. 1, pp. 5-8, 2014.
- [27] S. Kanagesan, M. Hashim, S. AB Aziz, I. Ismail, S. Tamilselvan, N. B. Alitheen, M. K. Swamy, and B. Purna Chandra Rao, "Evaluation of antioxidant and cytotoxicity activities of copper ferrite (CuFe_2O_4) and zinc ferrite (ZnFe_2O_4) nanoparticles synthesized by sol-gel self-combustion method," *Applied Sciences*, vol. 6, no. 9, pp. 184, 2016.
- [28] O. Stefanescu, G. Vlase, M. Barbu, P. Barvinschi, and M. Stefanescu, "Preparation of $\text{CuFe}_2\text{O}_4/\text{SiO}_2$ nanocomposite starting from Cu (II)-Fe (III) carboxylates embedded in hybrid silica gels," *Journal of thermal analysis and calorimetry*, vol. 113, no. 3, pp. 1245-1253, 2013.
- [29] Y.-f. Zhu, J.-l. Shi, Y.-s. Li, H.-r. Chen, W.-h. Shen, and X.-p. Dong, "Storage and release of ibuprofen drug molecules in hollow mesoporous silica spheres with modified pore surface," *Microporous and Mesoporous Materials*, vol. 85, no. 1-2, pp. 75-81, 2005.
- [30] M. Bhushan, Y. Kumar, L. Periyasamy, and A. K. Viswanath, "Fabrication and a detailed study of antibacterial properties of $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3/\text{NiO}$ nanocomposites along with their structural, optical, thermal, magnetic and cytotoxic features," *Nanotechnology*, vol. 30, no. 18, pp. 185101, 2019.
- [31] K.-J. Lee, J.-H. An, J.-S. Shin, D.-H. Kim, H.-S. Yoo, and C.-K. Cho, "Biostability of $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ nano particles Evaluated using an in vitro cytotoxicity assays on various tumor cell lines," *Current Applied Physics*, vol. 11, no. 3, pp. 467-471, 2011.
- [32] B. Behera, S. Pradhan, A. Samantaray, and D. Pradhan, "Antiproliferative and cytotoxic activity of Hematite ($\text{-Fe}_2\text{O}_3$) nanoparticles from *Butea monosperma* on MCF-7 Cells," *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, vol. 14, no. 2, pp. 29-40, 2020.