



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کرمان
دانشکده داروسازی و علوم دارویی

پایان نامه دکتری عمومی داروسازی

عنوان :

عامل دار کردن سطحی نانوتیوب های کربن تک لایه و چند لایه با استفاده از
گلیسرین و روتین و بررسی سمیت سلولی آنها بر رده سلولی A549

توسط :

پیمان رضائی

اساتید راهنما:

دکتر بهزاد بهنام،

دکتر مهدی انصاری،

دکتر میترا مهربانی



Kerman University of Medical Sciences

Faculty of Pharmacy

Pharm. D Thesis

Title:

Surface functionalization of single-walled and multi-walled carbon nanotubes with Glycyrrhizin and Rutin and evaluation of their cytotoxicity on A549 cell lines

By:

Peyman Rezaei

Supervisors:

DR. Behzad Behnam

DR. Mehdi Ansari

DR. Mitra Mehrabani

Year:

2018

چکیده

مقدمه و اهداف: نانولوله های کربنی به عنوان یک گروه جدید از نانوذرات نوین چند منظوره به تازگی در زیست پزشکی ظهور یافته اند. CNTs را می توان بر اساس تعداد لایه های گرافن به دو گروه تک لایه (SWCNTs) و چند لایه (MWCNTs) طبقه بندی کرد. CNT خام در محلول های آبی به دلیل آبگریزی سطوحشان غیر قابل حل هستند، بنابراین برای واکنش پذیر شدن باید آن ها را عامل گذاری کرد. دو روش متفاوت برای عامل گذاری نانولوله های کربنی وجود دارد: ۱. کووالانت ۲. غیر کووالانت. در این مطالعه از ۳ ترکیب گیاهی متفاوت (گلیسیریزین، کورکومین و روتین) برای عامل گذاری نانولوله های کربنی استفاده شد و در ادامه به بررسی و ارائه گزارش تغییرات پایداری و میزان سمیت سلولی آنها بر رده سلولی A549 پرداخته شد.

روش ها: در این مطالعه پس از خالص سازی نانولوله های کربنی، تهیه فرمولاسیون های بیوهیبریدی با استفاده از گلیسیریزین، روتین و کورکومین صورت پذیرفت. ابتدا نانولوله های کربنی و مواد پوشش دهنده در آب پراکنده شدند و سپس با استفاده از روش سونیکیت همزمان نانولوله ها و مواد پوشاننده و سپس سانتریفیوژ کردن محلول حاصل، فرمولاسیون نهایی به دست آمد. در ادامه سلول های A549 پس از انجام پاساژ و کشت در پلیت های ۹۶ خانه، برای سنجش سمیت سلولی این فرمولاسیون ها مورد استفاده قرار گرفت. سپس با استفاده از تست MTT نتایج میزان زنده بودن سلول ها بعد از تماس با هر فرمولاسیون گزارش شد.

نتایج: فرمولاسیون های تولید شده توانستند نانولوله های کربنی را به خوبی در محیط آبی پراکنده و سازگار کنند. نتایج سلولی نشان داد، فرمولاسیون ها تولید شده سمیت نانولوله های کربنی را به طور قابل توجهی کاهش دادند. فرمولاسیون های نانوتیوب-گلیسیریزین، نانوتیوب-توین-گلیسیریزین ، نانوتیوب-کورکومین، نانوتیوب-توین-کورکومین و ، نانوتیوب-روتین توانستند IC_{50} نانولوله های کربنی خالص را که برابر با $301/3$ ($\mu\text{g/ml}$) تعیین شد را افزایش داده و به ترتیب به $2727/0$ ($\mu\text{g/ml}$)، $1733/1$ ($\mu\text{g/ml}$)، $2958/2$ ($\mu\text{g/ml}$)، $2013/8$ ($\mu\text{g/ml}$) و $4088/7$ ($\mu\text{g/ml}$) برسانند.

نتیجه گیری: گلیسیریزین، کورکومین و روتین قابلیت ایجاد یک فرمولاسیون مناسب و پایدار از نانولوله های کربنی را دارند. همچنین سمیت سلولی ایجاد شده توسط نانولوله ها را به طور قابل توجهی کاهش داده و به طور کلی برخی موانع استفاده از این نانوذره شگفت آور را مرتفع می کنند. علاوه بر استفاده از این بیوهیبریدها برای رساندن ۳ ترکیب یاد شده به بافت هدف، در آینده می توان از این فرمولاسیون ها به عنوان حامل برای سایر دارو ها نیز استفاده کرد.

کلمات کلیدی: نانوتیوب های کربن، عامل دار کردن غیر کووالانت، گلیسیریزین، روتین، کورکومین، سمیت

سلولی، تست MTT

Abstract

Background and Objective: Carbon nanotubes have been emerged as a new class of multifunctional nanoparticles in biomedicine. CNTs can be classified based on the number of their graphene layers: 1. Single-walled CNTs (SWCNTs) 2. Multi-walled CNTs (MWCNTs). Non functionalized (pristine) CNTs are insoluble in aqueous solutions due to the hydrophobic properties of their surfaces, so it needs to be functionalized to be reactive. There are two different methods for functionalization of CNTs: 1. Covalent functionalization 2. Non-covalent functionalization. In this study we use 3 different herbal substances (Glycyrrhizin, Curcumin and Rutin) for functionalization of CNTs. Then we evaluate and report the sustainability changes and the cytotoxicity effects of these formulations on the A549 cell line.

Methods: In this study, after purification of carbon nanotubes, biohybrid formulations were prepared using glycyrrhizin, rutin and curcumin. First, carbon nanotubes and coatings substances were dispersed in water. Multiple sonication and purification steps through centrifugation were done to achieve the final formulations. After subculturing the A549 cell line, the cells were seeded in 96 well plates in order to evaluate the cell cytotoxicity of formulations. Then MTT assay was used, to report the viability of the cells after treatment with the mentioned formulations.

Results: The formulations showed that dispersion and adaption of carbon nanotubes to the aqueous medium have been done perfectly. MTT results demonstrated that glycyrrhizin, rutin and curcumin reduced the toxicity of carbon nanotubes significantly. CNT-GLY, CNT-T-

GLY, CNT-CUR, CNT-T-CUR and CNT-RUT formulations increased the IC₅₀ of pristine CNTs from 301.3 (µg/ml) to 2727.0 (µg/ml), 1733.1 (µg/ml), 2958.2 (µg/ml), 2013.8 (µg/ml) and 4088.7 (µg/ml) respectively.

Conclusion: Glycyrrhizin, curcumin and rutin are capable of creating a suitable formulation of carbon nanotubes and eliminating obstacles to the use of this amazing nanoparticles. In addition to using these bio-hybrids to deliver the three compounds to the target tissue, these formulations can also be used as carriers for other drugs in the future.

Keywords: Carbon nanotubes, Non-covalent functionalization, Glycyrrhizin, Rutin, Curcumin, Cell cytotoxicity, MTT assay



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کرمان
دانشکده داروسازی

پایان نامه آقای پیمان رضایی دانشجوی داروسازی ورودی ۹۱ به شماره: ۹۹۹

تحت عنوان:

"عامل دار کردن سطحی نانوتیوب های کربن تک لایه و چندلایه با استفاده از گلیسرین و روتین و بررسی سمیت سلولی

آنها بر روی رده ی سلولی A549"

اساتید راهنما:

۱- دکتر بهزاد بهنام

۲- دکتر مهدی انصاری

۳- دکتر میترا مهربانی

هیئت محترم داوران به ترتیب حروف الفبا:

۱- دکتر باقر امیرحیدری

۲- دکتر مجتبی شکیبایی

۳- دکتر سمیه کرمی مهاجری

۴- دکتر سیدنورالدین نعمت الهی

در تاریخ ۹۷/۰۵/۲۸ مورد ارزیابی قرار گرفت و با نمره (با عدد) ۱۹،۱۵
(با حروف) نوزده و یک دهم رسید.

دکتر یعقوب پورشجاعی

رئیس اداره پایان نامه

دکتر محمود رضا حیدری

رئیس دانشکده

