



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کرمان
دانشکده داروسازی و علوم دارویی
پایان نامه دکترای عمومی داروسازی

عنوان:

تهیه و تعیین خصوصیات نانونقاط کوانتومی هسته-پوسته پلیمری
کیتوزان/کادمیم اکساید و ارزیابی اثرات ضدلشمانیوز

توسط:

سینا بهرامی نژاد

اساتید راهنما:

دکتر عباس پرداختی

دکتر ایرج شریفی

دکتر مهدی رنجبر



**Kerman University of Medical Sciences
Faculty of Pharmacy**

Pharm. D Thesis

Title:

**Evaluation of core-shell quantum dots of chitosan/
cadmium oxide for anti-leishmanial effects**

By:

Sina Bahraminejad

Supervisors:

Dr. Abbas Pardakhty

Dr. Iraj Sharifi

Dr. Mahdi Ranjbar

اظهارنامه و حق انتشار

اینجانب سینا بهرامی نژاد متعهد می‌شوم موارد مذکور در این پایان‌نامه حاصل فعالیت‌های پژوهشی خود بوده و مسئولیت صحت داده‌ها و اطلاعات گزارش شده در این پایان‌نامه را به عهده می‌گیرم. تمامی حقوق مادی و معنوی این پایان‌نامه متعلق به دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کرمان بوده و هر گونه استفاده تنها با کسب اجازه ممکن خواهد بود. استناد به مطالب و نتایج این پایان‌نامه در صورتی که به نحو مناسبی ارجاع داده شود، بلامانع است.

امضاء دانشجو ۹۹/۴۸

تاریخ

PharmD Thesis کرمان

فهرست مطالب

صفحه	عنوان
IV.....	خلاصه فارسی
٤	Abstract
IV.....	فهرست مطالب
VIII	فهرست جدول‌ها
I.....	فهرست شکل‌ها

فصل اول: مقدمه

Error! Bookmark not defined.	۱-۱- پیشگفتار و هدف
Error! Bookmark not defined.	۱-۲- لیشمانیوزیس
Error! Bookmark not defined.	۱-۳- توزیع جغرافیایی
Error! Bookmark not defined.	۱-۳-۱- دنیای قدیم
Error! Bookmark not defined.	۱-۳-۲- دنیای جدید
Error! Bookmark not defined.	۱-۴- اپیدمیولوژی لیشمانیوزیس جلدی در جهان
Error! Bookmark not defined.	۱-۵- اپیدمیولوژی لیشمانیوزیس جلدی در ایران
Error! Bookmark not defined.	۱-۶- فرم‌های لیشمانیوز
Error! Bookmark not defined.	۱-۷- چرخه زندگی لیشمانیا
Error! Bookmark not defined.	۱-۸- درمان لیشمانیوزیس
Error! Bookmark not defined.	۱-۸-۱- درمان غیر دارویی
Error! Bookmark not defined.	۱-۸-۲- درمان دارویی

- Error! Bookmark not defined.** ۱-۸-۲-۱- ترکیبات آنتی‌موان ۵ ظرفیتی
- Error! Bookmark not defined.** ۲-۲-۸-۱- پنتامیدین
- Error! Bookmark not defined.** ۱-۸-۲-۳- آمفوتریسین ب
- Error! Bookmark not defined.** ۱-۸-۲-۴- میلترفوسین
- Error! Bookmark not defined.** ۵-۲-۸-۱- آزول‌ها
- Error! Bookmark not defined.** ۶-۲-۸-۱- سایر داروها
- Error! Bookmark not defined.** ۹-۱- معایب داروهای موجود
- Error! Bookmark not defined.** ۱۰-۱- روش‌های ارزیابی سمیت سلولی
- Error! Bookmark not defined.** ۱-۱۰-۱- فلوسایتومتری
- Error! Bookmark not defined.** ۱-۱۱- سیستم‌های دارورسانی نوین
- Error! Bookmark not defined.** ۱-۱۲- نانوذرات با پایه فلزی
- Error! Bookmark not defined.** ۱-۱۳- نانوذرات لیپیدی
- Error! Bookmark not defined.** ۱-۱۴- نانوذرات پلیمری
- Error! Bookmark not defined.** ۱-۱۵- کیتوزان
- Error! Bookmark not defined.** ۱-۱۶- نانوذرات هسته-پوسته
- Error! Bookmark not defined.** ۱-۱۷- روش‌های شناسایی نانوذرات
- Error! Bookmark not defined.** ۱-۱۸- روش‌های تولید نانوذرات

فصل دوم: مواد، دستگاه‌ها و روش‌ها

- Error! Bookmark not defined.** ۲-۱- مواد مورد استفاده
- Error! Bookmark not defined.** ۲-۲- دستگاه‌های مورد استفاده

Error! ۲-۳-۲- روش سنتز نانونقاط کوانتومی هسته-پوسته پلیمری کیتوزان/کادمیم اکساید

Bookmark not defined.

Error! Bookmark not defined. ۲-۴- آماده‌سازی مواد و محلول‌ها

Error! Bookmark not defined. ۲-۴-۱- محیط کشت RPMI-1640 و DMEM

Error! Bookmark not defined. ۲-۴-۲- رنگ تریپان بلو

Error! Bookmark not defined. ۲-۴-۳- رنگ گیمسا

Error! Bookmark not defined. ۲-۵- آماده‌سازی انگل و ماکروفاژ

Error! Bookmark not defined. ۲-۵-۱- تهیه و آماده‌سازی انگل لیثمانیا ماژور

Error! Bookmark not defined. ۲-۵-۲- آماده‌سازی سلول‌های ماکروفاژ

Error! Bookmark not defined. ۶-۲- نحوه شمارش تک‌یاخته‌ها و یا سلول‌های ماکروفاژ با لام‌نئوبار

defined.

Error! Bookmark not defined. ۲-۶-۱- شمارش ماکروفاژها

Error! Bookmark not defined. ۲-۶-۲- شمارش انگل‌ها

Error! Bookmark not defined. ۲-۶-۳- نحوه محاسبه درصد زنده بودن انگل‌ها و سلول‌های ماکروفاژ

defined.

Error! Bookmark not defined. ۲-۷- طرز تهیه رقت‌های دارویی

Error! Bookmark not defined. ۲-۷-۱- کیتوزان/کادمیم اکساید

Error! Bookmark not defined. ۲-۷-۲- آمفوتریسین ب

Error! Bookmark not defined. ۸-۲- سنجش میزان سمیت دارو

Error! Bookmark not defined. ۹-۲- سنجش آپتوز

Error! Bookmark not defined. ۲-۱۰- آنالیز داده‌ها

فصل سوم: نتایج

- ۳-۱- آنالیز میکروسکوپ الکترونی **Error! Bookmark not defined.**
- ۳-۲- آنالیز اسپکتروسکوپی مادون قرمز FT-IR **Error! Bookmark not defined.**
- ۳-۳- بررسی سمیت نانونقاط کوانتومی هسته-پوسته پلیمری کیتوزان/کادمیم اکساید در قیاس با
آمفوتریسین ب **Error! Bookmark not defined.**
- ۳-۴- بررسی آپتوزیس نانونقاط کوانتومی هسته-پوسته پلیمری کیتوزان/کادمیم اکساید بر لیشمانیا
ماژور **Error! Bookmark not defined.**

فصل چهارم: بحث و نتیجه گیری

- ۴-۱- بحث و نتیجه گیری **Error! Bookmark not defined.**
- ۴-۲- پیشنهادات **Error! Bookmark not defined.**

منابع

- منابع ۵

فهرست جدول‌ها

عنوان	صفحه
جدول ۱-۲- مواد مورد استفاده	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.....
جدول ۲-۲- دستگاه‌های مورد استفاده	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.....
جدول ۳-۲- مواد مورد نیاز به همراه مقدار آن‌ها برای رنگ تریپان بلو	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
جدول ۴-۲- مواد مورد نیاز به همراه مقدار آن‌ها برای رنگ گیمسا	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
جدول ۱-۳- اثر غلظت‌های متفاوت نانونقاط کوانتومی هسته-پوسته کیتوزان/کادمیم اکساید بر تعداد ماکروفاژها به صورت دو بار تکرار	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.....
جدول ۲-۳- اثر سمیت نانونقاط کوانتومی هسته-پوسته پلیمری کیتوزان/کادمیم اکساید بر روی ماکروفاژها و اثر کشندگی آن بر پروماستیگوت‌های لیشمانیا ماژور	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
جدول ۳-۳- اثر غلظت‌های متفاوت نانونقاط کوانتومی هسته-پوسته کیتوزان/کادمیم اکساید بر تعداد پروماستیگوت‌ها به صورت دو بار تکرار	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.....
جدول ۴-۳- اثر غلظت‌های متفاوت آمفوتریسین ب بر تعداد پروماستیگوت‌ها به صورت دو بار تکرار	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.....

فهرست شکل‌ها

صفحه

عنوان

شکل ۱-۱- واکنش شیمیایی کیتوزان..... **ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.**

شکل ۱-۲- لام‌نئوبار و نمای شمارشی آن..... **ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.**

شکل ۱-۳- تصویر میکروسکوپ SEM از نانوذرات کیتوزان/کادمیم اکساید، مورفولوژی و سایز

نانوذرات کیتوزان/کادمیم اکساید..... **ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.**

شکل ۲-۳- تصویر میکروسکوپ SEM از نانوذرات کیتوزان/کادمیم اکساید، مورفولوژی و سایز

نانوذرات کیتوزان/کادمیم اکساید..... **ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.**

شکل ۳-۳- آنالیز FT-IR..... **ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.**

شکل ۳-۴- درصد آپتوز ماکروفاژها در غلظت‌های متفاوت نانوذرات کیتوزان/کادمیم اکساید

..... **ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.**

شکل ۳-۵- درصد آپتوز ماکروفاژها در غلظت‌های متفاوت نانوذرات کیتوزان/کادمیم اکساید

..... **ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.**

شکل ۳-۶- درصد آپتوز انگل لیشمانیا ماژور در غلظت‌های متفاوت نانوذرات کیتوزان/کادمیم

اکساید..... **ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.**

شکل ۳-۷- درصد آپتوز انگل لیشمانیا ماژور در غلظت‌های متفاوت نانوذرات

ERROR!

BOOKMARK NOT DEFINED.

شکل ۳-۸- درصد آپتوز انگل لیشمانیا ماژور در غلظت‌های متفاوت آمفوتریسین ب

ERROR!

BOOKMARK NOT DEFINED.

خلاصه فارسی

مقدمه: لیشمانیوزیس یک بیماری انگلی است که توسط گونه‌های مختلف از یک تک‌یاخته تازکدار لیشمانیا ایجاد می‌شود. این بیماری در ۹۸ کشور دنیا به صورت اندمیک بوده و ۳۵۰ میلیون نفر در سرتاسر جهان را مورد تهدید قرار می‌دهد. هر دو نوع لیشمانیوزیس احشایی و جلدی در مناطق مختلف ایران به صورت اندمیک می‌باشد، به صورتی که دو گونه لیشمانیا ماژور و تروپیکا از عوامل ایجادکننده اصلی لیشمانیوزیس جلدی می‌باشند. در استفاده از روش‌های درمانی موجود، مشکلاتی مانند قیمت بالا، سمیت، طول درمان زیاد، تزریق دردناک، افزایش مقاومت دارویی، عوارض جانبی داروها، عود بیماری، ایجاد عفونت‌های ثانویه باکتریایی و گزارش چندین مورد اپیدمی بیماری به خصوص در افراد با نقص سیستم ایمنی وجود دارد؛ لذا تحقیقات در مورد معرفی داروهای جدید اعم از داروهای شیمیایی، گیاهی و حتی نانوذرات در حال انجام است. هدف از این مطالعه بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف نانوذرات کیتوزان/کادمیم اکساید در مقایسه با داروی انتخابی و معمول بیماری (آمفوتریسین ب) بر میزان زنده ماندن و فعالیت پروماستیگوت‌های لیشمانیا ماژور با استفاده از روش فلوسایتومتری بود.

روش‌ها: در این تحقیق نانونقاط کوانتومی هسته-پوسته پلیمری کیتوزان/کادمیم اکساید با روش هم رسوبی به همراه مایکروویو ساخته شدند. پس از تعیین بهترین غلظت‌های مؤثر نانوذرات توسط روش فلوسایتومتری، مقادیر مختلف نانوذرات موردنظر به عنوان غلظت‌های مؤثر انتخاب گردید. سپس انگل‌های لیشمانیا ماژور به مدت ۷۲ ساعت با دارو انکوبه شده و میزان آپوپتوزیس توسط

روش فلوسایتومتری مورد ارزیابی قرار گرفت و سپس غلظتی از دارو که از رشد ۵۰٪ انگل‌ها جلوگیری می‌کند محاسبه شد. همچنین به منظور بررسی سمیت در ماکروفاژهای موشی، CC_{50} غلظت‌های مختلف نانوذرات به روش فلوسایتومتری محاسبه شد.

نتایج: یافته‌ها نشان داد که نانونقاط کوانتومی هسته-پوسته کیتوزان/کادمیم اکساید باعث کاهش میزان تکثیر پروماستیگوت‌ها می‌شود ($P < 0/0001$). تعداد پروماستیگوت‌ها در حضور غلظت‌های مختلف نانونقاط کاهش یافت. میانگین مقدار IC_{50} برای پروماستیگوت‌ها ۰/۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود.

میزان آپوپتوز پروماستیگوت‌های لیشمانیا ماژور توسط نانونقاط در غلظت‌های ۱، ۰/۵ و ۰/۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر به ترتیب برابر با ۵۶، ۳۱ و ۲۳ درصد محاسبه شد.

نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان داد که نانونقاط کوانتومی هسته-پوسته کیتوزان/کادمیم اکساید مانع رشد پروماستیگوت‌ها شده و آپوپتوز پروماستیگوت‌های لیشمانیا را افزایش می‌دهد.

کلمات کلیدی: نانونقاط کوانتومی هسته-پوسته پلیمری، اثرات ضدلیشمانیوز، نانوساختارها، لیشمانیا

ماژور

Abstract

Introduction: Leishmaniasis is a parasitic disease caused by different species of a *Leishmania* flagellum protozoan. It is endemic in 98 countries and territories, affecting 12 million people and approximately threatens 350 million, worldwide. Both cutaneous and visceral forms of leishmaniasis are endemic in different parts of Iran in which *Leishmania major* and *L.tropica* are the primary causative agents of cutaneous leishmaniasis. Problems such as high cost, toxicity, high treatment duration, painful injections, increased drug resistance, drug side effects, recurrence, secondary bacterial infections, and reports of several epidemics especially in people with systemic deficits, so research is underway to introduce new drugs, including chemicals, herbs and even nanoparticles. In this study, apoptosis of *Leishmania major* was assessed by different amounts of nanostructured chitosan/cadmium oxide polymer core-shell quantum dots comparing with control drug (amphotericin B).

Methods: nanostructured chitosan/cadmium oxide polymer core-shell quantum dots were fabricated by microwave co-deposition. After determining the best effective concentrations of nanoparticles by flow cytometry, different amounts of the desired nanoparticles were selected as effective concentrations. *Leishmania major* parasites were incubated with the drug for 72 h and apoptosis was assessed by flow cytometry and then a concentration of drug that inhibited 50% growth of the parasites was determined. Also, to evaluate the toxicity in macrophages, CC_{50} of different concentrations of nanoparticles and control drug (amphotericin B) were calculated by flow cytometry.

Results: Investigations revealed that core-shell quantum dot of chitosan/cadmium oxide decrease promastigotes proliferation. The number of promastigotes decreased at the presence of different concentrations of Nanodots. The average measure of IC_{50} for promastigotes was about 0.6 $\mu\text{g/ml}$. The amount of leishmania promastigotes apoptosis at the presence of Nanodots in different concentrations of 1, 0.5, and 0.25 $\mu\text{g/ml}$ observed in order 56, 31, and 23%.

Conclusion: This study showed that the quantum Nanodots of chitosan/cadmium oxide core-shell inhibit the proliferation of promastigotes and increase the apoptosis of leishmanias promastigotes.

Keywords: Core-shell Quantum Dots, Nanoparticles, Anti-leishmanial Effects, *Lishmania major*.

منابع

- [1] Edrisiyan G. Visceral Leishmaniasis in Iran and the role of serological tests in the diagnosis and epidemiological studies. **J Kerman Univ Med Sci** 1996;3:97-108.
- [2] Kubba R, Al-Gindan Y, El-Hassan A, Path F, Omer A. Clinical diagnosis of cutaneous leishmaniasis (oriental sore). **J American Acad Dermat** 1987;16:1183-9.
- [3] Zink AR, Spigelman M, Schraut B, Greenblatt C, Nerlich A. Leishmaniasis in ancient Egypt and upper Nubia. **Emerg Infect Dis** 2006; 12:1616.
- [4] Moemenbellah-Fard M, Kalantari M, Rassi Y, Javadian E. The PCR-based detection of *Leishmania major* infections in *Meriones libycus* (Rodentia: Muridae) from southern Iran. **Annals tropi med parasit** 2003;97:811-6.
- [5] Alrajhi A. Cutaneous leishmaniasis of the Old World. **Skin therapy lett** 2003; 8:1-4.
- [6] Desjeux P. The increase in risk factors for leishmaniasis worldwide. **Trans R Soc Trop Med Hyg** 2001;95:239-43.
- [7] Bhargava P, Singh R. Developments in diagnosis and antileishmanial drugs. **Interdiscip Perspect Infect Dis** 2012;2012.
- [8] Igbineweka O, Aghedo F, Idusuyi O, Hussain N. Evaluating the efficacy of topical silver nitrate and intramuscular antimonial drugs in the treatment of cutaneous leishmaniasis in sokoto, Nigeria. **African J Clin Experim Microbi** 2012;13:90-7.
- [9] Karimi M, Dalimi A, Jamei F, Ghaffarifar F. The killing effect of silver nanoparticles and direct electric current induction on *leishmania major* promastigotes *in vitro*. **Pathobi Res** 2015;18:87-96.
- [۱۰] عابدین ث، یاور ر، محمدرضاع، عبایی م، عشاقی م، یعقوبی ارشادی م، محبعلی م، حجاران ه، مصطفوی ر. تعیین هویت انگل لیشمانیا با استفاده از تکنیک PCR-RFLP در بیماران و جوندگان مخزن لیشمانیوز جلدی در بخش مرکزی استان قم سال ۱۳۸۹، مجله دانشگاه علوم پزشکی اراک (ره‌آورد دانش) ۱۳۹۱؛ شماره ۶ (پیاپی ۶۵)، دوره ۱۵، ۱۰-۲.
- [11] Bates PA. Transmission of *Leishmania metacyclic* promastigotes by phlebotomine sand flies. **Int J Parasit** 2007; 37:1097-106.

[12] Monge-Maillo B, López-Vélez R. Therapeutic options for old world cutaneous leishmaniasis and new world cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis. **Drugs** 2013; 73:1889-920.

[13] González U, Pinart M, Reveiz L, Reveiz L, Alvar J. Interventions for old world cutaneous leishmaniasis. **Cochrane Data system Rev** 2008.

[14] Dowlati Y. Cutaneous leishmaniasis: clinical aspect. **Clin Dermatol** 1996;14:425-31.

[15] Sundar S, Chakravarty J. An update on pharmacotherapy for leishmaniasis. **Expert Opinion Pharm** 2015;16:237-52.

[16] Alvar J, Vélez ID, Bern C, Herrero M, Desjeux P, Cano J, *et al.* Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. **PloS One** 2012;7:e35671.

[17] Mahmoudvand H, Shakibaie M, Tavakoli R, Jahanbakhsh S, Sharifi I. *In vitro* study of leishmanicidal activity of biogenic selenium nanoparticles against Iranian isolate of sensitive and glucantime-resistant *Leishmania tropica*. **Iran J Parasit** 2014; 9:452.

[18] World Health Organization. Leishmaniasis. World Health Org Fact Sheet. 2016; 375. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs375/>. ۲۳ آبان ۲۰۱۶.

[۱۹] مرادپور، غ، کریمی. بررسی تأثیر عناصر اقلیمی بر بروز بیماری سالک جلدی در شهرستان‌های

گیلانغرب و کرمانشاه طی سال‌های ۱۳۹۵-۱۳۸۵. **فصلنامه علمی برنامه ریزی فضایی (جغرافیا)**

۱۳۹۸؛ سال نهم، شماره ۱ (پیاپی ۳۲)، ۶۰-۹.

[20] Jameii F, Dalimi Asl A, Karimi M, Ghaffarifar F. Healing effect comparison of selenium and silver nanoparticles on skin leishmanial lesions in mice. **Avicenna J Clin Med** 2015; 22:217-23.

[21] Pagheh AS, Fakhar M, Sharif M, Danesh V, Ahmadi Z. Epidemiological survey of cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania tropica* in a new focus in Khorasan Razavi Province. **J Mazandaran Univ Med Sci** 2013;23:46-52.

[22] Farahmand M, Nahrevanian H, Shirazi HA, Naeimi S, Farzanehnejad Z. An overview of a diagnostic and epidemiologic reappraisal of cutaneous leishmaniasis in Iran. **Braz J Infect Dis** 2011;15:17-21.

- [23] Ghorbani M, Farhodi R. Leishmaniasis in humans: drug or vaccine therapy? **Drug Des Devel Ther** 2018;12:25.
- [24] Zaim M, Seyed Rashti M, Saebi M. A guide to medical entomology. **Univ Tehran Pub** 2004.
- [25] Steverding D. The history of leishmaniasis. **PARASITE VECTOR** 2017;10:82.
- [26] World Health Organization. Leishmaniasis. World Health Org Fact Sheet. ۲۰۱۶م۳۷۵. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs104/>. **PARASITE VECTOR** ۲۳ ۲۰۱۶.
- [27] Savoia D. Recent updates and perspectives on leishmaniasis. **J Infection Develop Count** 2015;9:588-96.
- [28] Singh S, Dey A, Sivakumar R. Applications of molecular methods for Leishmania control. **Expert Rev Molecu Diagno** 2005;5:251-65.
- [29] Sundar S, More DK, Singh MK, Singh VP, Sharma S, Makharia A, *et al.* Failure of pentavalent antimony in visceral leishmaniasis in India: report from the center of the Indian epidemic. **Clinical Infec Diseases** 2000;31:1104-7.
- [30] Handman E, Mitchell GF. Immunization with Leishmania receptor for macrophages protects mice against cutaneous leishmaniasis. **Proceed Nati Acad Sci** ۱۹۸۵م ۸۲:۵۹۱۰-۴.
- [31] Srivastava S, Shankar P, Mishra J, Singh S. Possibilities and challenges for developing a successful vaccine for leishmaniasis. **PARASITE VECTOR** 2016; 9:277.
- [32] Hepburn NC. Cutaneous leishmaniasis: an overview. **J Postgrad Med** 2003; ۴۹:۵۰.
- [33] Parvizi MM, Handjani F, Moein M, Hatam G, Nimrouzi M, Hassanzadeh, *et al.* Efficacy of cryotherapy plus topical *Juniperus excelsa* M. Bieb cream versus cryotherapy plus placebo in the treatment of Old World cutaneous leishmaniasis: A triple-blind randomized controlled clinical trial. **PLOS Negl Trop Dis** 2017; 11:e0005957.
- [34] Panagiotopoulos A, Stavropoulos PG, Hasapi V, Papakonstantinou AM, Petridis A, Katsambas A. Treatment of cutaneous leishmaniasis with cryosurgery. **Int J Dermat** ۲۰۰۵م ۴۴:۷۴۹-۵۲.
- [35] López-Carvajal L, Cardona-Arias JA, Zapata-Cardona MI, Sánchez-Giraldo V, Vélez ID. Efficacy of cryotherapy for the treatment of cutaneous leishmaniasis: meta-analyses of clinical trials. **BMC Infec Diseas** 2016;16:360.

- [36] Al-Majali O, Routh HB, Abuloham O, Bhowmik KR, Muhsen M, Hebeheba H. A review of the epidemiology and clinical features of cutaneous leishmaniasis. **Int J Dermatol** 1997; 36:460-2.
- [37] El-On J, Jacobs G, Witztum E, Greenblatt C. Development of topical treatment for cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania major* in experimental animals. **Antimicrob Agents Chem** 1984;26:745-51.
- [38] Yang D, Fairweather N, Button L, McMaster WR, Kahl LP, Liew FY. Oral Salmonella typhimurium (AroA-) vaccine expressing a major leishmanial surface protein (gp63) preferentially induces T helper 1 cells and protective immunity against leishmaniasis. **J Immunol** 1990;145:2281-5.
- [39] Singh R, Pandey H, Sundar S. Visceral leishmaniasis (kala-azar): challenges ahead. **Indi J of Med Res** 2006;123:331.
- [40] Jha T. Evaluation of diamidine compound (pentamidine isethionate) in the treatment of resistant cases of kala-azar occurring in North Bihar, India. **Trans. R. Soc. Trop Med Hyg** 1983;77:167-70.
- [41] Jha S, Singh N, Jha T. Changing response to diamidine compounds in cases of kala-azar unresponsive to antimonial. **J Assoc Physicians Indi** 1991;39:314-6.
- [42] Croft SL, Yardley V. Chemotherapy of leishmaniasis. **Curr Pharm Des.** 2002; 8:319-22.
- [43] Adler-Moore J, Proffitt RT. Ambisome: Liposomal formulation, structure, mechanism of action and pre-clinical experience. **J Antimicrob Chem** 2002;49:21-30.
- [44] Stone NR, Bicanic T, Salim R, Hope W. Liposomal amphotericin B (AmBisome®): a review of the pharmacokinetics, pharmacodynamics, clinical experience and future directions. **Drugs** 2016;76:485-500.
- [45] Seifert K, Pérez-Victoria FJ, Stettler M, Sánchez-Cañete MP, Castanys S, Gamarro F, *et al.* Inactivation of the miltefosine transporter, LdMT, causes miltefosine resistance that is conferred to the amastigote stage of *Leishmania donovani* and persists *in vivo*. **Int J Antimicrob Agents** 2007;30:229-35.
- [46] Jhingran A, Chawla B, Saxena S, Barrett MP, Madhubala R.. Paromomycin: uptake and resistance in *Leishmania donovani*. **Mol Biochem Parasit** 2009;164:111-7.

- [47] Chakravarty J, Sundar S. Drug resistance in leishmaniasis. **J Glob Infect Dis** 2010; 2:167-176.
- [48] Qian Y, Wei C, Eun-Hyung Lee F, Campbell J, Halliley J, Lee JA, *et al.* Elucidation of seventeen human peripheral blood B-cell subsets and quantification of the tetanus response using a density-based method for the automated identification of cell populations in multidimensional flow cytometry data. **CYTOM PART B-CLIN CY** 2010; 78:S69-S82.
- [49] Madigan MT. **Brock Biology of Microorganisms**, 15th ed. Upper Saddle River: Prentice Hall 2005; 149-52.
- [50] Hamann A, Brust D, Osiewacz HD. Apoptosis pathways in fungal growth, development and ageing. **Trends Microbi** 2008;16:276-83.
- [51] Elmi T, Gholami S, Fakhar M, Sadri M. A Review on the Use of Nanoparticles in the Treatment. **J Mazandaran Univ Med Sci** 2013;23:126-33.
- [52] Mohanraj V, Chen Y. Nanoparticles-a review. **Tropi J Pharm Res** 2006;5:561-73.
- [53] Aderibigbe BA. Metal-based nanoparticles for the treatment of infectious diseases. **Molecules** 2017;22:1370.
- [54] Arvizo RR, Bhattacharyya S, Kudgus RA, Giri K, Bhattacharya R, Mukherjee P. Intrinsic therapeutic applications of noble metal nanoparticles: past, present and future. **Chem Soc Rev** 2012;41:2943-70.
- [55] Zain NM, Stapley A, Shama G. Green synthesis of silver and copper nanoparticles using ascorbic acid and chitosan for antimicrobial applications. **Carbohydr Polym** 2014; 112:195-202.
- [56] Allahverdiyev AM, Abamor ES, Bagirova M, Ustundag CB, Kaya C, Kaya F, Rafailovich M. Antileishmanial effect of silver nanoparticles and their enhanced antiparasitic activity under ultraviolet light. **Int J Nanomed** 2011;6:2705.
- [57] Mohebbali M, Rezayat M, Gilani K, Sarkar S, Akhouni B, Esmaeili J, *et al.* Nanosilver in the treatment of localized cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania major* (MRHO/IR/75/ER): an *in vitro* and *in vivo* study. **DARU J Pharm Sci** 2015; 17:285-9.
- [58] Khosravi A, Sharifi I, Barati M, Zarean M, Zarean M, Hakimi-Parizi M. Anti-leishmanial effect of nanosilver solutions on *Leishmania tropica* promastigotes by *in vitro* assay. **Zahedan J Res Med Sci** 2011;13:8-12.

- [59] Torabi N, Mohebbali M, Shahverdi AR, Rezayat SM, Edrissian GH, Esmaeili J, *et al.* Nanogold for the treatment of zoonotic cutaneous leishmaniasis caused by *vani* (MRHO/IR/75/ER): an animal trial with methanol extract of *Eucalyptus camaldulensis*. **J Pharm Sci** 2011;1:113-6.
- [60] Soflaei S, Dalimi A, Abdoli A, Kamali M, Nasiri V, Shakibaie M, *et al.* Anti-leishmanial activities of selenium nanoparticles and selenium dioxide on *Leishmania infantum*. **Compar Clin Path** 2014;23:15-20.
- [61] DurgaVijaykarthik D, Kirithika M, Prithivikumaran N. Synthesis and characterization of Cadmium oxide nanoparticles for antimicrobial activity. **Int J Nano Dimension** 2014;5:557-62.
- [62] Abd AN, Mohammed ST, Al-Marjani MF, Salman JA, Salman SD, Habubi N. Antiparasitic Effect of CdO NPS Synthesized by Simple Chemical Method SCM on *Leishmania donovani* *in vivo* and *in vitro* herbicide glyphosate. **Mesop Environ J** 2018; 112-141.
- [63] Rzigalinski BA, Strobl JS. Cadmium-containing nanoparticles: perspectives on pharmacology and toxicology of quantum dots. **Toxic Appl Pharm** 2009; 238:280-8.
- [64] Akbari M, Oryan A, Hatam G. Application of nanotechnology in treatment of leishmaniasis: A Review. **Acta Trop** 2017;172:86-90.
- [65] Kong M, Chen XG, Xing K, Park H. Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: a state of the art review. **Int J Food Micro** 2010;144:51-63.
- [66] Agnihotri SA, Mallikarjuna NN, Aminabhavi TM. Recent advances on chitosan-based micro-and nanoparticles in drug delivery. **J Contr Rel** 2004;100:5-28.
- [67] Ahmed TA, Aljaeid BM. Preparation, characterization, and potential application of chitosan, chitosan derivatives, and chitosan metal nanoparticles in pharmaceutical drug delivery. **Drug Des Devel Ther.** 2016;10:483.
- [68] Roberts GA. **Structure of chitin and chitosan. Chitin chemistry.** London: Palgrave, 1992; 1-53.
- [69] Grenha A. Chitosan nanoparticles: a survey of preparation methods. **J Drug Targ** 2012;20:291-300.
- [70] Danesh-Bahreini MA, Shokri J, Samiei A, Kamali-Sarvestani E, Barzegar-Jalali M, Mohammadi-Samani S. Nanovaccine for leishmaniasis: preparation of chitosan nanoparticles containing *Leishmania* superoxide dismutase and evaluation of its immunogenicity in BALB/c mice. **Int J Nanomedicine** 2011;6:835.

- [71] Gawande MB, Goswami A, Asefa T, Guo H, Biradar AV, Peng D, *et al.* Core-shell nanoparticles: synthesis and applications in catalysis and electrocatalysis. **Chem Soc Rev** 2015;44:7540-90.
- [72] López-Lorente A, Simonet B, Valcárcel M. Analytical potential of hybrid nanoparticles. **Analy Bio Chem** 2011;399:43-54.
- [73] Khatami M, Alijani HQ, Nejad MS, Varma RS. Core@ shell nanoparticles: greener synthesis using natural plant products. **Appli Sci** 2018;8:411.
- [74] El-Nour KMA, Eftaiha Aa, Al-Warthan A, Ammar RA. Synthesis and applications of silver nanoparticles. **Arabian J Chem** 2010;3:135-40.
- [75] Prabhu S, Poulouse EK. Silver nanoparticles: mechanism of antimicrobial action, synthesis, medical applications, and toxicity effects. **Int Nano Lett** 2012;2:32.
- [76] Wang X, Chen X. **Novel Nanomaterials for Biomedical, Environmental and Energy Applications**, 1st ed; Elsevier, 2018; 224-300.
- [77] Neira LF, Mantilla JC, Escobar P. Anti-leishmanial activity of a topical miltefosine gel in experimental models of New World cutaneous leishmaniasis. **J Antimicrob.** 2019;74:1634-41.
- [78] Organization WH. **Control of the leishmaniasis: report of a meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniasis, Geneva, 22-26 March 2010.** World Health Organization, 2010; <https://apps.who.int/iris/handle/10665/44412>.
- [79] Aflatoonian M, Sharifi I, Shirzadi M, Aflatoonian B. The effect of active case detection and early treatment on the incidence rate of anthroponotic cutaneous leishmaniasis in Kerman Province, Iran. **Iran J Epidemi** 2016;12:28-34.
- [80] Desjeux P. Leishmaniasis: current situation and new perspectives. **Comp Immunol Microbiol Infect Dis** 2004;27:305-11.
- [81] Alvar J, Vélez ID, Bern C, Herrero M, Desjeux P, Cano J, *et al.* Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. **PloS One** 2012;7.
- [82] Reithinger R, Dujardin J-C, Louzir H, Pirmez C, Alexander B. Cutaneous leishmaniasis. **Lanc Infect Dis** 2007;7:581-96.
- [83] Ramezani Y, Mousavi SGA, Bahrami A, Fereydooni M, Parsa N, Kazemi B. Epidemiological study of cutaneous leishmaniasis in Aran and Bidgol from April to September 2009. **J Kashan Univ Med Sci** 2011;15:254-8.
- [84] Edward K. Markell and voges Medical Parasitology. **Sunders** 1999;7:264-5.

- [85] Jebali A, Hekmatimoghaddam S, Kazemi B, Allaveisie A, Masoudi A, Daliri K, *et al.* Lectin coated MgO nanoparticle: its toxicity, antileishmanial activity, and macrophage activation. **Drug Chem Toxi** 2014;37:400-9.
- [86] Allahverdiyev AM, Abamor ES, Bagirova M, Baydar SY, Ates SC, Kaya F, *et al.* Investigation of antileishmanial activities of Tio2@ Ag nanoparticles on biological properties of *L. tropica* and *L. infantum* parasites, *in vitro*. **Exp Parasitol** 2013;135:55-63.
- [87] Varshosaz J, Arbabi B, Pestehchian N, Saberi S, Delavari M. Chitosan-titanium dioxide-glucantime nanoassemblies effects on promastigote and amastigote of *Leishmania major*. **Int J Bio Macro** 2018;107:212-21.
- [88] Mikus J, Steverding D. A simple colorimetric method to screen drug cytotoxicity against *Leishmania* using the dye Alamar Blue. **Parasitol Int** 2000; 48:265-9.
- [89] Fumarola L, Spinelli R, Brandonisio O. *In vitro* assays for evaluation of drug activity against *Leishmania* spp. **Res Micro** 2004; 155:224-30.
- [90] Ganguly S, Bandyopadhyay S, Sarkar A, Chatterjee M. Development of a semi-automated colorimetric assay for screening anti-leishmanial agents. **J Micro Met** 2006; 77:79-86.



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کرمان
دانشکده داروسازی

پایان نامه آقای سینا بهرامی نژاد دانشجوی داروسازی ورودی ۹۲ به شماره ۱۱۸۴
تحت عنوان:

"تهیه و تعیین خصوصیات نانوذرات کواترنری هسته- پوسته پلیمری کیتوزان/اکادمیم آکساید و ارزیابی اثرات ضدلشمانوز"

استاد (اساتید) راهنما:

۱- دکتر عباس پرداختی ۲- دکتر ایرج شریفی ۳- دکتر مهدی رنجبر

استاد (اساتید) مشاور: -

هیئت محترم داوران:

۱- دکتر پیام خزانلی ۲- دکتر صالحه صبوری ۳- دکتر احسان مهاجری

در تاریخ ۹۹/۰۴/۰۸ مورد ارزیابی قرار گرفت و با نمره (با عدد) ۱۹,۲۵
(با حروف) نوزده و دو دهم به تصویب رسید.

دکتر مصطفی پورنامداری
رئیس اداره پایان نامه

محمد رضا نخعی
کارشناس اداره پایان نامه
۹۹/۰۴/۰۸

