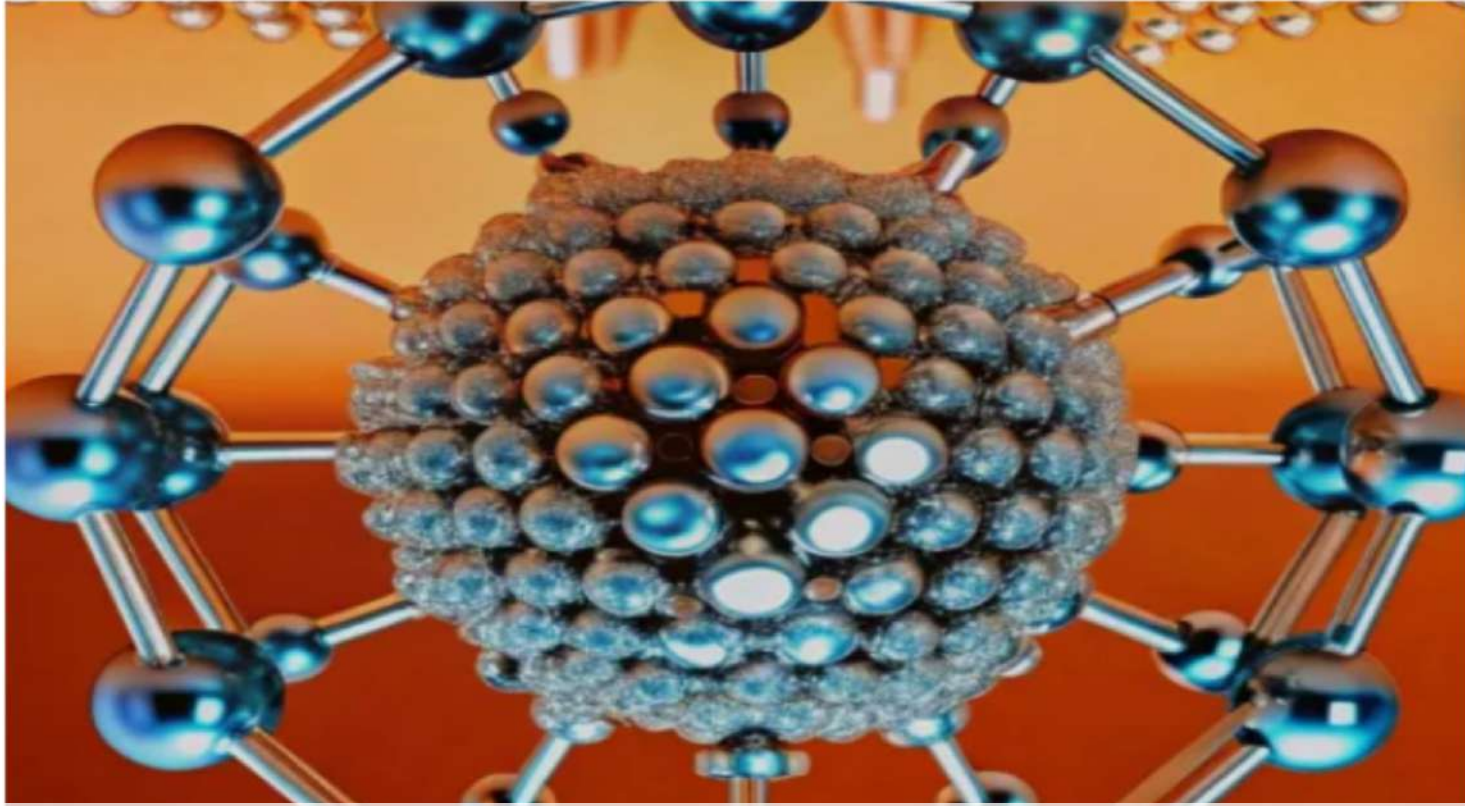


الخصائص الفيزيائية والكيميائية والسمية الخلوية
والنشاط المضاد للميكروبات لجسيمات نانوية من الزركونيا المكبرة

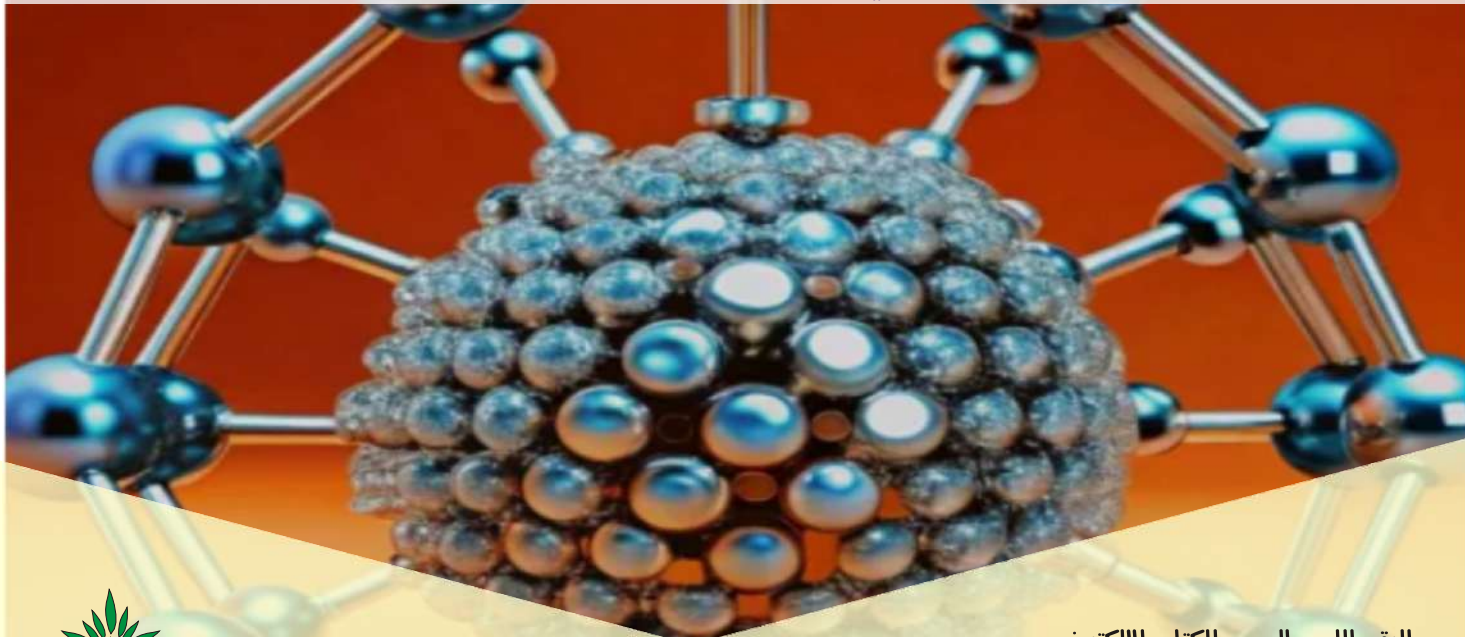
**Physicochemical Properties, Cytotoxicity, and Antimicrobial
Activity of Sulphated Zirconia Nanoparticles**

Physicochemical Properties, Cytotoxicity, and Antimicrobial Activity of Sulphated Zirconia Nanoparticles



تأليف : د. عائشة مفتاح محمد خليفة

اطروحة دكتوراه منتخبة من الجامعة لتكون كتاب مرجعي لكافة طلاب العالم العربي
في الهندسة الطبية النانوية



الجامعة الالكترونية للدراسات العليا
Electronic University of Postgraduate Studies

www.eunps.com

<https://sites.google.com/view/eu-colleges-and-sections>

الرقم الليبي الموحد للكتاب الالكتروني

LSBN 888-7-0000040-25



8 887000 004025

قال الله تعالى :

بسم الله الرحمن الرحيم

﴿ يرفع الله الذين آمنوا منكم و الذين أوتوا العلم درجات ﴾

(صدق الله العظيم)

سورة المجادلة الآية رقم (11)

الإهداء:

إلى

الشمعة المضيئة والارواح الطاهرة ... الى روح أبي ... الى روح زوجي

أمل أن أكون عند المستوى الذي دعمتموني من أجله

الشكر والتقدير

تحية شكر وتقدير إلى

كل من كان لي الداعم والحافز لإستكمال مسيرتي العلمية

د. عائشة مفتاح محمد خليفة

الخصائص الفيزيائية والكيميائية، والسمية الخلوية، والنشاط المضاد للميكروبات
لجسيمات نانوية من الزركونيا المكبرتة

**Physicochemical Properties, Cytotoxicity, and Antimicrobial Activity
of Sulphated Zirconia Nanoparticles.**

الخصائص الفيزيائية والكيميائية، والسمية الخلوية،
والنشاط المضاد للميكروبات لجسيمات نانوية من الزركونيا المكبرتة

**Physicochemical Properties, Cytotoxicity,
and Antimicrobial Activity of Sulphated Zirconia Nanoparticles.**

CHAPTER 1

INTRODUCTION

Background

Background of research In the past ten years nanotechnology has not only developed to show a noticeable role in our economy but also enlarged the concern over prospective argumentative sound effects initiated by nanomaterials to the life cycle. Previously, a number of organic synthesis methods have been carried out with heterogeneous solid acids leading to better regio- and stereo- selectivity [1, 2]. It has been found that it is not just the strength of the acid, but also the type of acidity (Bronsted or Lewis) that matters for improved activity and selectivity. The inclusion of superacidity in solids has attracted great attention [3]. Amongst these, sulphated zirconia has found several applications and holds large promise in a number of reactions of importance [4]. Generally, metal oxides have been used widely either as such or as supports in conjunction with other active components for many oxidations, reduction and acid–base-catalyzed reactions [5]. The surface of zirconium oxide is known to possess all of these catalytic activities. Zirconium oxide, or zirconia, when modified with anions, such as sulphate ions, gives a highly acidic or super acidic catalyst that has superior activity to catalyze many reactions [6, 7]. Thus, sulphated zirconia and modified sulphated zirconia form an important class of nanomaterials, as is evident from the large amount of research that has become visible over the past decade [8]. Moreover, these nanomaterials show a promising future in producing eco-friendly routes for the chemical and pharmaceutical industries into the next millennium.

الفصل الأول

المقدمة

خلفية الدراسة

خلال السنوات العشر الماضية، لم تتطور تقنية النانو فقط لتظهر دوراً ملحوظاً في اقتصادنا، بل زادت أيضاً من القلق حول الآثار الجانبية المحتملة التي قد تسببها المواد النانوية على دورة الحياة.

سابقاً، نُفذت عدة طرق للتخليق العضوي باستخدام أحماض صلبة غير متجانسة أدت إلى تحسين الانتقائية الموضعية والفراغية [1، 2]. وُجد أن الأمر لا يعتمد فقط على قوة الحمض، بل أيضاً على نوع الحموضة (برونستيد أو لويس) لتحسين النشاط والانتقائية. جذب تضمين الحموضة الفائقة في المواد الصلبة اهتماماً كبيراً [3].

من بين هذه المواد، وجدت زركونيا الكبريتات تطبيقات عدة وتعد واحدة للعديد من التفاعلات المهمة [4]. عموماً، استُخدمت أكاسيد الفلزات على نطاق واسع إما كما هي أو كحوامل مع مكونات نشطة أخرى للعديد من تفاعلات الأكسدة والاختزال والتحفيز الحمضي-القاعدي [5]. يُعرف سطح أكسيد الزركونيوم بامتلاكه كل هذه الأنشطة التحفيزية. أكسيد الزركونيوم، أو الزركونيا، عند تعديله بأيونات مثل أيونات الكبريتات، يعطي محفزاً عالي الحموضة أو فائق الحموضة ذو نشاط متفوق في تحفيز العديد من التفاعلات [6]، [7].

وبالتالي، تشكل زركونيا الكبريتات والزركونيا الكبريتية المعدلة فئة مهمة من المواد النانوية، كما يظهر من الكم الكبير من الأبحاث التي ظهرت خلال العقد الماضي [8]. علاوة على ذلك، تظهر هذه المواد النانوية مستقبلاً واعدًا في إنتاج طرق صديقة للبيئة لصناعات الكيماويات والأدوية في الألفية القادمة.

1.2 Problem Statement

Despite their promise, very few studies have reported on the role of sulphated zirconia nanoparticles as anti-cancer materials. As far as it is known, herein is the first report of the *in vitro* anti-cancer effect of sulphated zirconia nanoparticles against three cancer cell lines. Specifically, the toxicity of sulphated zirconia nanoparticles against human colon cancer HT29, human lung cancer A546, and human liver cancer HepG2 cell lines was assessed showing promising results. But these novel nanoparticles hold promise not just for anti-cancer applications, but also antiinfection applications.

The steady increase in the anti-microbial resistance of microorganisms represents a great public health concern. This requires the search for new unconventional anti-microbial agents. Nanotechnology provides promising materials to fight infectious diseases such as nanoparticles with anti-microbial activities. In the present study, the anti-microbial properties of the assynthesized sulphated zirconia nanoparticles were determined using the agar diffusion method against different Gram positive and Gram negative bacteria of clinical significance.

Critically, a survey of the literature showed that no previous work has been done so far on the anti-cancer and anti-microbial effects of nanoparticle sulphated zirconia. The nanoparticles of sulphated zirconia were prepared by an impregnation method and were characterized using XRD, TGA, FT-IR, BET, SEM-EDS and TEM.

1.2 بيان المشكلة البحثية

على الرغم من إمكاناتها، فإن دراسات قليلة جداً ذكرت دور جسيمات زركونيا الكبريتات النانوية كمادة مضادة للسرطان. وعلى حد علمنا، هذا هو أول تقرير عن التأثير المضاد للسرطان في المختبر لجسيمات زركونيا الكبريتات النانوية ضد ثلاثة خطوط خلوية سرطانية. تحديداً، تم تقييم سمية جسيمات زركونيا الكبريتات النانوية ضد خلايا سرطان القولون البشري HT29 ، وخلايا سرطان الرئة البشري A546 ، وخلايا سرطان الكبد البشري HepG2 ، مع نتائج واعدة.

لكن هذه الجسيمات النانوية الجديدة واعدة ليس فقط للتطبيقات المضادة للسرطان، بل أيضاً للتطبيقات المضادة للعدوى.

الزيادة الثابتة في مقاومة المضادات الميكروبية للكائنات الحية الدقيقة تمثل قلقاً صحياً عاماً كبيراً. هذا يتطلب البحث عن عوامل مضادة للميكروبات غير تقليدية. توفر تقنية النانو مواد واعدة لمحاربة الأمراض المعدية مثل الجسيمات النانوية ذات الأنشطة المضادة للميكروبات.

في هذه الدراسة، تم تحديد الخصائص المضادة للميكروبات لجسيمات زركونيا الكبريتات النانوية المحضرة باستخدام طريقة انتشار الآغار ضد بكتيريا إيجابية وسلبية الغرام مختلفة ذات أهمية سريرية.

بشكل حاسم، أظهر مسح الأدبيات أنه لم يتم إجراء أي عمل سابق حتى الآن حول التأثيرات المضادة للسرطان والمضادة للميكروبات لجسيمات زركونيا الكبريتات النانوية. تم تحضير جسيمات زركونيا الكبريتات النانوية

بطريقة التشريب وتم توصيفها باستخدام SEM-EDS , TEM. ، BET ، FT-IR ، TGA ، XRD

1.3 Objectives

The objectives of this research study are:

1. To synthesize sulphated zirconia nanoparticle.
2. To characterize the physico-chemical properties of the prepared sulphated zirconia nanoparticle.
3. To evaluate the cytotoxicity of the prepared sulphated zirconia nanoparticle.
4. To determine the anti-microbial activity of sulphated zirconia nanoparticles

1.3 الأهداف

أهداف هذه الدراسة البحثية هي:

1. تحضير جسيمات زركونيا الكبريتات النانوية
2. توصيف الخصائص الفيزيوكيميائية لجسيمات زركونيا الكبريتات النانوية المحضرة
3. تقييم السمية الخلوية لجسيمات زركونيا الكبريتات النانوية المحضرة
4. تحديد النشاط المضاد للميكروبات لجسيمات زركونيا الكبريتات النانوية

CHAPTER 2

LITERATURE REVIEW

2.1 Current Scenario of Transition Metals Nanoparticles as Cancer Therapy:

Transition metals oxides nanoparticles have established much consideration lately owing to their consumption as chemo-therapy. Research report have revealed that different transition metals oxides nanoparticles convey cytotoxicity in malignant cells, but not in common cells. Nearly, such anticancer activity has been confirmed to hold for the nanoparticle only or in arrangement with different treatments, such as photo- catalytic therapy or some anticancer drugs. ZnO₂ nanoparticles have been displayed to have this activity alone or when loaded with an anticancer drug, such as doxorubicin. Other transition metals oxides nanoparticles that show cytotoxic effects on cancer cells include oxides of cobalt, iron and copper. The anticancer mechanism may possibly work via the generation of reactive oxygen species or apoptosis and necrosis, among other possibilities. Here, we review the most significant antitumor results obtained with different metal oxide nanoparticles.

الفصل الثاني

استعراض الأدب العلمي

2.1 السيناريو الحالي لجسيمات أكاسيد الفلزات الانتقالية النانوية في علاج السرطان: حظيت جسيمات أكاسيد الفلزات الانتقالية النانوية باهتمام كبير في الآونة الأخيرة بسبب استخدامها في العلاج الكيميائي. وقد كشفت التقارير البحثية أن جسيمات أكاسيد الفلزات الانتقالية المختلفة تُظهر سمية خلوية على الخلايا السرطانية دون الخلايا الطبيعية. تقريباً، تم التأكد من أن هذا النشاط المضاد للسرطان يظهر إما للجسيمات النانوية وحدها أو عند دمجها مع علاجات مختلفة مثل العلاج الضوئي الحفزي أو بعض الأدوية المضادة للسرطان.

لقد ثبت أن جسيمات ZnO_2 النانوية تمتلك هذا النشاط سواءً بمفردها أو عند تحميلها بدواء مضاد للسرطان مثل الدوكسوروبيسين. تشمل جسيمات أكاسيد الفلزات الانتقالية الأخرى التي تُظهر تأثيرات سامة على الخلايا السرطانية أكاسيد الكوبالت والحديد والنحاس. قد يعمل الآلية المضادة للسرطان من خلال توليد أنواع الأكسجين التفاعلية أو موت الخلايا المبرمج والتنخر، من بين احتمالات أخرى. هنا، نستعرض أهم النتائج المضادة للأورام التي تم الحصول عليها باستخدام جسيمات أكاسيد الفلزات النانوية المختلفة.

2.2 The Impact of Cancer on the Worldwide Health

Cancer is one of the principal causes of mortality worldwide and represents a serious health problem. The last World Cancer Report of the World Health Organization states that the incidence of cancer increased from 12.7 million in 2008 to 14.1 million in 2012. This trend is projected to continue, with the number of new cases per year expected to rise a further 75% over the next two decades, which will bring the number of new cancer cases close to 25 million per year [9]

The treatment of cancer involves different therapies based on alkylating agents, antimetabolites, biological agents, *etc.*; but one of the principal problems is the side effects due to difficulties in differentiating between cancerous and normal cells, which produces systemic toxicity [10]. When exploring new strategies for the treatment of cancer, one possibility is the use of metal oxides nanoparticles. For more than 30 years, metal oxides nanoparticles have been used as pharmaceutical carriers to enhance the *in vivo* antitumor efficacy of drugs. The first studies in the 1970s used nanoscale drug carriers, such as liposomes entrapping antitumor pharmaceuticals.

الخصائص الفيزيائية والكيميائية، والسمية الخلوية، والنشاط المضاد للميكروبات
لجسيمات نانوية من الزركونيا المكبرتة
Physicochemical Properties, Cytotoxicity, and Antimicrobial Activity
of Sulphated Zirconia Nanoparticles.

صادر عن منظمة الصحة العالمية

معدل الإصابة بالسرطان ارتفع من 12.7 مليون حالة في عام 2008 إلى 14.1 مليون حالة في عام 2012. ومن المتوقع استمرار هذا الاتجاه، مع توقع زيادة عدد الحالات الجديدة سنوياً بنسبة 75% إضافية خلال العقدين المقبلين، مما سيرفع عدد حالات السرطان الجديدة إلى ما يقارب 25 مليون حالة سنوياً. [9] يتضمن علاج السرطان استخدام علاجات مختلفة تعتمد على العوامل المؤكدة ومضادات الأيض والعوامل البيولوجية وغيرها؛ ولكن إحدى المشاكل الرئيسية هي الآثار الجانبية الناتجة عن صعوبة التمييز بين الخلايا السرطانية والخلايا الطبيعية، مما يسبب سمية جهازية. [10]

عند استكشاف استراتيجيات جديدة لعلاج السرطان، تبرز إحدى الاحتمالات وهي استخدام جسيمات أكاسيد الفلزات النانوية. لأكثر من 30 عاماً، استخدمت جسيمات أكاسيد الفلزات النانوية كناقلات دوائية لتعزيز الفعالية المضادة للأورام للأدوية داخل الجسم الحي.

حيث استخدمت الدراسات الأولى في سبعينيات القرن العشرين ناقلات دوائية نانوية الحجم، مثل الجسيمات الشحمية المحتوية على أدوية مضادة للأورام.

2.3 Anticancer Activities of Different Transition Metals Oxides Nanoparticles

2.3.1. Iron Oxide

The tumor cell can be directly killed by non-toxic wavelength radiation, such as near-infrared (NIR), or oscillating magnetic fields (MF) that can be absorbed and transformed into toxic stimuli of reactive oxygen species (ROS) production or hyperthermia by NPs of iron oxide[11]. The advantage of this approach is derived from the fact that NPs, due to their particulate (as opposed to molecular) nature, can easily be directed to the tumor site by covalently linking tissue-specific molecular determinants or, in the case of magnetic NPs, with the aid of the external application of local magnetic fields. Therefore, such NPs can be used to selectively kill cancer cells, transforming radiant energy into heat or ROS. This helps reduce the damage to healthy tissues, which is among the most dangerous side effects of cancer therapy. The use of magneto-sensitive NP complexes comprised of NPs of iron oxide and the anticancer drug doxorubicin increases the antitumor effect compared to conventional doxorubicin therapy. This increased antitumor effect is probably due to the fact that an external magnetic field can induce electron transitions in the nanocomplexes. The magneto complexes have additional free radicals, and doxorubicin acquires the magnetic properties of paramagnetic substances. The antitumor drug action is based on the activation of the hydroxyl radicals, which break mitochondria, lipids, proteins,

DNA and other structures in tumor cells, and finally leads to their apoptosis or necrosis. The combined effect of a constant magnetic field and moderate radio frequency-induced hyperthermia (below 40 °C) and a magneto-sensitive

nanocomplex of iron oxide and paramagnetic doxorubicin increased antitumor and antimetastatic action, compared to conventional diamagnetic doxorubicin. The synergy of magnetic fields and an anticancer magneto-sensitive nanocomplex provides a new strategy for future effective treatments of cancer [12]. Spherical iron oxide NPs were approved in the EU as a medical device for magnetic tumor hyperthermia in brain[13, 14] and prostate cancer [15] in combination with radiotherapy or chemotherapy[16]. Recently, it has been observed that heat-generating PEG-coated iron oxide nanocubes interfere with the extracellular matrix of a tumor and have the potential to destructure the matrix under magnetic stimuli. This results in NP redistribution in the tumor during the threecycle heating procedure, which also leads to the diminution of tumor growth [17]. Anticancer hyperthermia therapy consists in the application of heat at a temperature above 40 °C with the aim of killing tumor cells[18]. Different nanostructures have been used in hyperthermia applications, including magnetic iron oxide NPs. Once these nanomaterials are delivered to the tumor site, they efficiently absorb energy from an extrinsic source (e.g., NIR radiation or magnetic fields), transforming it into heat. Very promising results in hyperthermia treatments were obtained with magnetic iron oxide NPs, both in cell models and *in vivo*, as previously extensively reviewed[19]. When iron oxide NPs are exposed to radiofrequency oscillating magnetic fields, they produce heat due to the reorientation of the magnetization process.

The magnetization of super-paramagnetic iron oxide NPs (SPIONs) disappears as soon as the magnetic field is removed [20]. This is very important, because magnetization induces NP aggregation: a phenomenon that is acceptable during the treatment, but very dangerous to the patient after the treatment, when large aggregates may hinder the clearance of NPs and create serious health hazards. For this reason, for *in vivo* hyperthermia applications, the iron oxide NPs must be below the 30–40 nm size limit,

to avoid the formation of ferromagnetic NPs. An increase in particle size will lead to higher saturation magnetization values and better performance for magnetic hyperthermia applications. However, this is only true when the particle is smaller than a critical size above which magnetic NPs become ferromagnetic (the so-called super-paramagnetic limit), which, in principle, is undesired magnetic behavior for biomedical applications, due to potential particle aggregation. Meanwhile, particle size is an issue of crucial interest in many biomedical applications in which the use of very small particles is highly desired, so that they can act as heat nano-sources in tumor regions of limited size access [21].

Recently, iron oxide NPs were studied as radio-sensitizing agents when using X-ray sources. *In vitro* studies showed that citrate- and malate-coated SPIONs sensitized tumor cells to X-rays by catalyzing ROS formation[22]. The results are promising and deserve further analysis of the biological mechanisms occurring downstream of the ROS production.

الخصائص الفيزيائية والكيميائية، والسمية الخلوية، والنشاط المضاد للميكروبات

لجسيمات نانوية من الزركونيا المكبرتة

Physicochemical Properties, Cytotoxicity, and Antimicrobial Activity
of Sulphated Zirconia Nanoparticles.

2.3 النشاطات المضادة للسرطان لجسيمات أكاسيد الفلزات الانتقالية النانوية المختلفة

2.3.1 أكسيد الحديد

يمكن قتل الخلايا السرطانية مباشرة باستخدام إشعاع غير سام مثل الأشعة تحت الحمراء القريبة (NIR) أو المجالات المغناطيسية المتذبذبة (MF) التي تمتصها جسيمات أكسيد الحديد النانوية وتحوّلها إلى محفزات سامة لإنتاج أنواع الأكسجين التفاعلية (ROS) أو الحرارة الموضعية المفرطة [11]. تكمن ميزة هذا الأسلوب في أن

الجسيمات النانوية، بسبب طبيعتها الجسيمية (على عكس الجزيئية)، يمكن توجيهها بسهولة إلى موقع الورم عن طريق ربط محددات جزيئية نسيجية بشكل تساهمي، أو في حالة الجسيمات النانوية المغناطيسية، بمساعدة تطبيق مجالات مغناطيسية موضعية خارجية. وبالتالي، يمكن استخدام هذه الجسيمات النانوية لقتل الخلايا

السرطانية بشكل انتقائي، وتحويل الطاقة المشعة إلى حرارة أو أنواع أكسجين تفاعلية. وهذا يساعد في تقليل الضرر الذي يلحق بالأنسجة السليمة، والذي يعد من أخطر الآثار الجانبية لعلاج السرطان.

يزيد استخدام مركبات الجسيمات النانوية الحساسة مغناطيسياً المكونة من جسيمات أكسيد الحديد النانوية وعقار الدوكسوروبيسين المضاد للسرطان من التأثير المضاد للورم مقارنةً بالعلاج التقليدي بالدوكسوروبيسين. ويعزى هذا التأثير المضاد للورم المتزايد على الأرجح إلى حقيقة أن المجال المغناطيسي الخارجي يمكن أن يحفز انتقالات إلكترونية في المركبات النانوية. تحتوي المركبات المغناطيسية على جذور حرة إضافية، ويكتسب الدوكسوروبيسين خصائص مغناطيسية للمواد البارامغناطيسية. يعتمد عمل الدواء المضاد للورم على تنشيط الجذور الهيدروكسيلية، التي تدمر الميتوكوندريا والدهون والبروتينات والحمض النووي وهياكل أخرى في الخلايا السرطانية، مما يؤدي في النهاية إلى موت الخلايا المبرمج أو النخر. أدى التأثير المشترك للمجال المغناطيسي الثابت وفرط الحرارة الناجم عن الترددات الراديوية المعتدلة (أقل من 40 درجة مئوية) والمركب النانوي الحساس مغناطيسياً المكون من أكسيد الحديد والدوكسوروبيسين البارامغناطيسي إلى زيادة التأثير المضاد للورم والمضاد للنقائل، مقارنةً بالدوكسوروبيسين الديامغناطيسي التقليدي. يوفر التآزر بين المجالات المغناطيسية والمركب النانوي الحساس مغناطيسياً المضاد للسرطان استراتيجية جديدة للعلاجات الفعالة المستقبلية للسرطان. [12]

تمت الموافقة على جسيمات أكسيد الحديد النانوية الكروية في الاتحاد الأوروبي كجهاز طبي لفرط الحرارة المغناطيسي للأورام في سرطان الدماغ [13، 14] وسرطان البروستاتا [15] بالاشتراك مع العلاج الإشعاعي أو الكيميائي [16]. لوحظ مؤخراً أن مكعبات أكسيد الحديد النانوية المولدة للحرارة والمطوية ببولي إيثيلين جلايكول تتداخل مع المصفوفة خارج الخلية للورم ولديها القدرة على تفكيك المصفوفة تحت المحفزات المغناطيسية. وينتج عن ذلك إعادة توزيع الجسيمات النانوية في الورم أثناء إجراء التسخين ذي الثلاث دورات، مما يؤدي أيضاً إلى تقليل نمو الورم [17]. يتكون علاج فرط الحرارة المضاد للسرطان في تطبيق الحرارة عند درجة حرارة أعلى من 40 درجة مئوية بهدف قتل الخلايا السرطانية [18]. تم استخدام هياكل نانوية مختلفة في تطبيقات فرط الحرارة، بما في ذلك جسيمات أكسيد الحديد المغناطيسية النانوية. بمجرد توصيل هذه المواد النانوية إلى موقع الورم، فإنها تمتص الطاقة بكفاءة من مصدر خارجي (مثل إشعاع NIR أو المجالات المغناطيسية)، وتحولها إلى حرارة. تم الحصول على نتائج واعدة جداً في علاجات فرط الحرارة باستخدام جسيمات أكسيد الحديد المغناطيسية النانوية، سواء في نماذج الخلايا أو في الجسم الحي، كما تمت مراجعته سابقاً على نطاق واسع [19]. عندما تتعرض جسيمات أكسيد الحديد النانوية لمجالات مغناطيسية متذبذبة بترددات راديوية، فإنها تنتج حرارة بسبب إعادة توجيه عملية المغنطة.

تختفي مغنطة جسيمات أكسيد الحديد فائقة المغناطيسية النانوية (SPIONS) بمجرد إزالة المجال المغناطيسي [20]. وهذا مهم جداً، لأن المغنطة تحفز تجمع الجسيمات النانوية: وهي ظاهرة مقبولة أثناء العلاج، ولكنها خطيرة جداً على المريض بعد العلاج، عندما قد تعيق التكتلات الكبيرة إزالة الجسيمات النانوية وتشكل مخاطر صحية خطيرة. لهذا السبب، بالنسبة لتطبيقات فرط الحرارة في الجسم الحي، يجب أن تكون جسيمات أكسيد الحديد النانوية أقل من حد الحجم 30-40 نانومتر، لتجنب تكوين جسيمات نانوية حديدية مغناطيسية. سيؤدي زيادة حجم الجسيمات إلى قيم مغنطة تشبع أعلى وأداء أفضل لتطبيقات فرط الحرارة المغناطيسية. ومع ذلك، فإن هذا صحيح فقط عندما يكون الجسم أصغر من حجم حرج فوقه تصبح الجسيمات النانوية المغناطيسية حديدية مغناطيسية (ما يسمى بحد فائق المغناطيسية)، وهو سلوك مغناطيسي غير مرغوب فيه من حيث المبدأ للتطبيقات الطبية الحيوية، بسبب احتمالية تجمع الجسيمات. وفي الوقت نفسه، يعد حجم الجسيمات قضية ذات أهمية بالغة في العديد من التطبيقات الطبية الحيوية التي يرغب فيها بشدة في استخدام جسيمات صغيرة جداً، بحيث يمكن أن تعمل كمصادر نانوية للحرارة في مناطق الورم ذات الوصول المحدود الحجم. [21]

في الآونة الأخيرة، تمت دراسة جسيمات أكسيد الحديد النانوية كعوامل تحسس إشعاعي عند استخدام مصادر الأشعة السينية. أظهرت الدراسات المخبرية أن جسيمات أكسيد الحديد فائقة المغناطيسية المطلية بالسيترات والمالات حساسة الخلايا السرطانية للأشعة السينية عن طريق تحفيز تكوين أنواع الأكسجين التفاعلية [22]. النتائج واعدة وتستحق مزيداً من التحليل للآليات البيولوجية التي تحدث بعد إنتاج أنواع الأكسجين التفاعلية.

2.3.2. Titanium Dioxide

The principle behind photodynamic therapy (PDT) is that a photo-sensitizer (PS) consisting of a hydrophobic organic molecule is excited with electromagnetic radiation in the range of visible or UV light to generate cytotoxic ROS that induce apoptosis. The earliest photodynamic therapy protocols made use of polymeric and inorganic NPs as passive carriers to improve the solubility of the hydrophobic PS molecules and as platforms for their delivery to the tumor site [23]. An alternative approach consists of the use of inorganic NPs, such as titanium oxide (TiO₂) [24-26], as direct photo-sensitizing agents that can therefore be used in place of PS molecules.

Photocatalyzed titanium dioxide (TiO₂) NPs have been shown to eradicate cancer cells. However, the required *in situ* introduction of UV light limits the use of such therapy in humans. One strategy to overcome the limitations is the surface-functionalization of TiO₂. Cell viability was observed to depend on particle concentrations, cell types and surface chemistry. Specifically, –NH₂ and –OH groups showed significantly higher toxicity than –COOH. The results suggest that functionalized TiO₂, and presumably other NPs, can be surface-engineered for targeted cancer therapy. In cancerous cell lines of T-24, HeLa and U937 cells, TiO₂ particles were found to become incorporated into the cell membrane and the cytoplasm [25].

TiO₂ NPs can be maintained for a long time in the body, and they are nontoxic and stable without light irradiation. A major challenge in photodynamic therapy is the direct illumination of the tissue by UV or visible light to trigger the TiO₂ NPs. However, UV and visible light has a limited penetration distance in tissue, and this is a disadvantage when cancer cells are located far from the surface[27]. The maximum penetration into tissue can be obtained in the near-infrared (NIR) range (700–1000

nm), and this can be used for TiO₂ NPs. Recently, the efficacy of NIR on crystallized shells composed of TiO₂ NPs coated on the surface of NaYF₄:Yb₃p,Tm₃p@NaGdF₄:Yb₃p cores to form (NaYF₄:Yb₃p,Tm₃p@NaGdF₄:Yb₃p)@TiO₂ core/shell nanocomposites (denoted as UCNPs@TiO₂ NCs) has been demonstrated. Considering the deeper tissue penetration of NIR light than UV light, UCNPs@TiO₂-based NIR light-mediated PDT possesses more effective tumor inhibition in comparison with UV light-irradiated UCNPs@TiO₂. These effects have been demonstrated on HeLa cells *in vitro* and *in vivo* in a tumor model using female Balb/c nude mice [28]. Other authors have reported the synthesis of core-shell upconversion nanoparticles (UCNs) with a thin and continuous layer of TiO₂, as nanotransducers with the ability to convert low-energy NIR light to high energy, which can penetrate deeper into the tissue[29]. The same authors have reported recently the capacity of these synthesized UCNs to reduce the production of tumors *in vivo* developed by injection of oral squamous cell carcinoma (OSCC) [30].

2.3.2 ثاني أكسيد التيتانيوم

يعتمد مبدأ العلاج الضوئي الديناميكي (PDT) على تحفيز مادة حساسة للضوء (PS) تتكون من جزيء عضوي كاره للماء باستخدام إشعاع كهرومغناطيسي في نطاق الضوء المرئي أو فوق البنفسجي لتوليد أنواع الأكسجين التفاعلية (ROS) السامة التي تحفز موت الخلايا المبرمج .

استخدمت بروتوكولات العلاج الضوئي الديناميكي المبكرة جسيمات نانوية بوليمرية وغير عضوية كناقلات سلبية لتحسين ذوبان جزيئات PS الكارهة للماء وكمنصات لإيصالها إلى موقع الورم . [23]

يتكون نهج بديل من استخدام جسيمات نانوية غير عضوية مثل ثاني أكسيد التيتانيوم [24-26] (TiO_2) كعوامل تحسس ضوئي مباشرة يمكن استخدامها بدلاً من جزيئات PS.

وقد ثبت أن جسيمات ثاني أكسيد التيتانيوم (TiO_2) النانوية المحفزة ضوئياً تقضي على الخلايا السرطانية. ومع ذلك، فإن الحاجة إلى إدخال ضوء الأشعة فوق البنفسجي في الموقع يحد من استخدام هذا العلاج في البشر .

إحدى الاستراتيجيات للتغلب على هذه القيود هي التعديل السطحي لـ TiO_2 . لوحظ أن بقاء الخلايا يعتمد على تركيز الجسيمات وأنواع الخلايا والكيمياء السطحية. على وجه التحديد، أظهرت مجموعات NH_2 - و OH -سمية أعلى بكثير من مجموعة COOH - تشير النتائج إلى أنه يمكن هندسة سطح جسيمات TiO_2 الوظيفية، وربما الجسيمات النانوية الأخرى، لاستهداف العلاج السرطاني .

في خطوط الخلايا السرطانية T-24 و HeLa و U937، وجد أن جسيمات TiO_2 تندمج في غشاء الخلية والسيتوبلازم . [25]

يمكن الاحتفاظ بجسيمات TiO_2 النانوية لفترة طويلة في الجسم، وهي غير سامة ومستقرة بدون إشعاع ضوئي. أحد التحديات الرئيسية في العلاج الضوئي الديناميكي هو الإضاءة المباشرة للأنسجة بواسطة الأشعة فوق البنفسجية أو الضوء المرئي لتحفيز جسيمات TiO_2 النانوية. ومع ذلك، فإن للأشعة فوق البنفسجية والضوء المرئي مسافة اختراق محدودة في الأنسجة، وهذا عيب عندما تكون الخلايا السرطانية بعيدة عن السطح . [27]

الخصائص الفيزيائية والكيميائية، والسمية الخلوية، والنشاط المضاد للميكروبات

لجسيمات نانوية من الزركونيا المكبرة

Physicochemical Properties, Cytotoxicity, and Antimicrobial Activity
of Sulphated Zirconia Nanoparticles.

يمكن الحصول على أقصى اختراق للأنسجة في نطاق الأشعة تحت الحمراء القريبة (NIR) (700-1000 نانومتر)، ويمكن استخدام هذا لصالح جسيمات TiO_2 النانوية .

أثبتت الأبحاث الحديثة فعالية الأشعة تحت الحمراء القريبة على قشور متبلورة مكونة من جسيمات TiO_2 النانوية المغلفة على سطح نوى $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}, \text{Tm}^{3+}@\text{NaGdF}_4:\text{Yb}^{3+}$ لتشكيل متراكبات نانوية (قلب/قشرة) $(\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}, \text{Tm}^{3+}@\text{NaGdF}_4:\text{Yb}^{3+})@\text{TiO}_2$ المشار إليها باسم $\text{UCNPs}@\text{TiO}_2 \text{ NCs}$.

باعتبار أن اختراق الضوء تحت الأحمر القريب للأنسجة أعمق من الضوء فوق البنفسجي، فإن العلاج الضوئي الديناميكي المعتمد على $\text{UCNPs}@\text{TiO}_2$ والمحفز بضوء NIR يمتلك فعالية أكبر في تثبيط الأورام مقارنة بـ $\text{UCNPs}@\text{TiO}_2$ المحفزة بضوء الأشعة فوق البنفسجية .

تم إثبات هذه التأثيرات على خلايا HeLa في المختبر وفي الجسم الحي باستخدام نموذج ورم في إناث فئران Balb/c عديمة الشعر [28].

أفاد مؤلفون آخرون عن تصنيع جسيمات نانوية قلب-قاعدة (UCNs) ذات طبقة رقيقة ومستمرة من TiO_2 ، كمحاولات نانوية قادرة على تحويل ضوء NIR منخفض الطاقة إلى طاقة عالية يمكنها اختراق أعمق في الأنسجة [29].

نفس المؤلفين أبلغوا مؤخراً عن قدرة هذه الجسيمات المصنعة (UCNs) على تقليل إنتاج الأورام في الجسم الحي الناتجة عن حقن سرطان الخلايا الحشفية الفموي. [30] (OSCC)

2.3.3. Cerium Oxide Nanoparticles

Cerium oxide NPs (CNPs) are a novel and very interesting material for radiation therapy, possessing the “smart” capacity to selectively induce the death of irradiated cancer cells[31], while protecting the surrounding tissue from radiation-induced damage and oxidative stress. Therefore, CNPs have the unique feature of acting as radio-protecting, as well as radio-sensitizing agents simultaneously. These NPs selectively increased oxidative stress and apoptosis in irradiated cancer cells, while protecting normal tissues[32, 33]. It has been hypothesized that the selective toxicity of CNPs against cancer cells is due to the inhibition of the catalase-like activity of CNPs that occurs in acidic (pH 4.3) environments: in the presence of superoxide produced by the ionizing radiation, the SOD-like activity, which is maintained even at low pH, would lead to H₂O₂ accumulation, incrementing radiation toxicity[31]. The hypothesis is based on the assumption that cancer cells are acidic. In fact, the cytosol of cancer cells is slightly more alkaline (pH > 7.4) than normal cells; whereas the extracellular tumor microenvironment is slightly acidic due to the Warburg effect, and the pH decreases from 7.1 (normal tissues) down to 6.7 [34].

Another possible mechanism for the differential toxicity of CNPs on cancer cells would involve their SOD-like activity. It is known from many studies that the SOD enzyme acts as a radio sensitizing agent, potentiating the DNA damage response and delaying the G₂/M transition, thus favoring cell accumulation in G₂ and allowing more thorough DNA repair. Therefore, CNPs may act as radio-sensitizing agents through an additional, biological mechanism that controls the response to DNA damage[35].

Recent results show that CNPs are almost as toxic as radiotherapy to the pancreatic cancer cells L3.6pl, but showed little or no toxic effect on the normal cells hTERT-HPNE. This finding points to the use of these NPs as a stand-alone therapy for pancreatic cancer treatment [31].

A recent study compared the effect of CNPs on cancer and normal human cells and concluded that the toxicity of these NPs is specific to the cancer cells. The low inhibitory potential of cerium oxide in normal human cell lines indicates that they may be safer for human usage in industry and medicine[36]. Other studies have shown that redox-active CNPs exhibit cytotoxic and antiinvasive effects on several cancer cells and are capable of sensitizing tumor cells to radiation, while protecting the normal cells in the stroma surrounding a tumor[37]. In squamous cell carcinoma of the skin and melanoma, CNPs exhibit pro-apoptotic and anti-invasive effects in a ROS-dependent manner. In contrast to conventional chemotherapeutics, CNPs are nontoxic to healthy, stromal cells of the skin. It has been reported that CNPs exert either pro-oxidant or antioxidant redox activity. Although CNP treatment increases

the ROS level in tumor cells, resulting in apoptosis, CNPs showed antioxidant and protective properties in normal cells[38]. A medical application of CNPs may provide a promising possibility for skin cancer therapy and may be a valuable tool to supplement classical chemotherapeutics, such as doxorubicin, and protect against doxorubicin-induced cytotoxicity. Another advantage of CNPs is that they do not present genotoxic effects [39].

These results with CNPs of 5 nm are in contrast to another recent study with CNPs with a size of 16–22 nm, where DNA damaging effects were found in other tumor cell lines[37], indicating that the mode of action of the nanoparticles is strongly dependent on the size and cell type. The supplementation of conventional chemotherapies with CNPs may offer a novel strategy in the treatment of cancer, with greater benefit for patients, by enhancing antitumor activity and lowering the damaging side effects[39].

Previous studies were done *in vitro*, and it is necessary to demonstrate *in vivo* the efficacy of nanoparticles in the treatment of tumors. In this sense, *in vivo* xenograft studies with immunodeficient nude mice showed a decrease of tumor weight and volume after treatment with CNPs. This effect could be attributed to redox-active CNPs, which present selective pro-oxidative and antioxidant properties. This study was the first to show that CNPs prevent tumor growth *in vivo* [40].

2.3.3 جسيمات أكسيد السيريوم النانوية

تمثل جسيمات أكسيد السيريوم النانوية (CNPs) مادةً جديدةً ومثيرةً للاهتمام في العلاج الإشعاعي، حيث تمتلك القدرة "الذكية" على تحفيز موت الخلايا السرطانية المُشععة بشكل انتقائي [31]، مع حماية الأنسجة المحيطة من التلف الناتج عن الإشعاع والإجهاد التأكسدي. وبالتالي، فإن جسيمات CNPs تتميز بقدرة فريدة على العمل كعوامل واقية من الإشعاع وحساسة للإشعاع في نفس الوقت .

تعمل هذه الجسيمات النانوية على زيادة الإجهاد التأكسدي وموت الخلايا المبرمج في الخلايا السرطانية المُشععة بشكل انتقائي، بينما تحمي الأنسجة الطبيعية [32، 33]. وُضعت فرضية أن السمية الانتقائية لـ CNPs ضد الخلايا السرطانية ترجع إلى تثبيط النشاط الشبيه بالكاتالاز في البيئات الحمضية (درجة حموضة 4.3): في وجود الأكسيد الفائق الناتج عن الإشعاع المؤين، فإن النشاط الشبيه بإنزيم SOD ، الذي يظل فعالاً حتى في درجات الحموضة المنخفضة، يؤدي إلى تراكم بيروكسيد الهيدروجين، مما يزيد من سمية الإشعاع [31].

تستند هذه الفرضية على افتراض أن الخلايا السرطانية حمضية. في الواقع، فإن سيتوبلازم الخلايا السرطانية أكثر قلوية قليلاً (درجة حموضة < 7.4) من الخلايا الطبيعية، بينما يكون الوسط المحيط بالورم حمضياً قليلاً بسبب تأثير واربورغ، حيث تنخفض درجة الحموضة من 7.1 (في الأنسجة الطبيعية) إلى 6.7 [34].

آلية أخرى محتملة للسمية التفاضلية لـ CNPs على الخلايا السرطانية قد تشمل نشاطها الشبيه بإنزيم SOD. تُظهر الدراسات أن إنزيم SOD يعمل كعامل حساس للإشعاع، حيث يعزز استجابة تلف الحمض النووي ويؤخر مرحلة G2/M ، مما يفضل تراكم الخلايا في مرحلة G2 ويسمح بإصلاح أكثر شمولاً للحمض النووي. وبالتالي، قد تعمل جسيمات CNPs كعوامل حساسة للإشعاع من خلال آلية بيولوجية إضافية تتحكم في الاستجابة لتلف الحمض النووي [35].

الخصائص الفيزيائية والكيميائية، والسمية الخلوية، والنشاط المضاد للميكروبات
لجسيمات نانوية من الزركونيا المكبرتة
Physicochemical Properties, Cytotoxicity, and Antimicrobial Activity
of Sulphated Zirconia Nanoparticles.

أظهرت النتائج الحديثة أن جسيمات CNPs سامة تقريباً مثل العلاج الإشعاعي لخلايا سرطان البنكرياس L3.6pl، بينما أظهرت تأثيراً سامياً ضئيلاً أو معدوماً على الخلايا الطبيعية. hTERT-HPNE تشير هذه النتيجة إلى إمكانية استخدام هذه الجسيمات كعلاج مستقل لسرطان البنكرياس [31].

أظهرت دراسة حديثة مقارنة تأثير جسيمات CNPs على الخلايا السرطانية والخلايا الطبيعية البشرية أن سمية هذه الجسيمات خاصة بالخلايا السرطانية. يشير الضعف النسبي لأكسيد السيريوم في تثبيط الخلايا الطبيعية إلى أنه قد يكون أكثر أماناً للاستخدام البشري في الصناعة والطب [36].

أظهرت دراسات أخرى أن جسيمات CNPs ذات النشاط الأكسدة-اختزال تظهر تأثيرات سامة ومضادة للانتشار على عدة أنواع من الخلايا السرطانية، وقادرة على زيادة حساسية الخلايا السرطانية للإشعاع مع حماية الخلايا الطبيعية في النسيج الداعم المحيط بالورم [37]. في سرطان الخلايا الحشفية الجلدية والأورام الميلانينية، تظهر جسيمات CNPs تأثيرات محفزة لموت الخلايا المبرمج ومضادة للانتشار بطريقة تعتمد على أنواع الأكسجين التفاعلية. على عكس العلاج الكيميائي التقليدي، فإن جسيمات CNPs غير سامة للخلايا السليمة في الجلد [38].

قد يوفر التطبيق الطبي لـ CNPs إمكانية واعدة لعلاج سرطان الجلد، وقد يكون أداة قيمة لتعزيز العلاج الكيميائي التقليدي مثل الدوكسوروبيسين، مع الحماية من السمية الناتجة عنه. ميزة أخرى لـ CNPs هي عدم وجود تأثيرات مسرطنة [39].

تتعارض هذه النتائج الخاصة بجسيمات CNPs بحجم 5 نانومتر مع دراسة حديثة أخرى استخدمت جسيمات بحجم 16-22 نانومتر، حيث تم اكتشاف تأثيرات مدمرة للحمض النووي في خطوط خلوية ورمية أخرى [37]، مما يشير إلى أن طريقة عمل الجسيمات النانوية تعتمد بشكل كبير على الحجم ونوع الخلية .

قد يوفر الجمع بين العلاج الكيميائي التقليدي وجسيمات CNPs استراتيجية جديدة لعلاج السرطان، بفوائد أكبر للمرضى، من خلال تعزيز النشاط المضاد للورم وتقليل الآثار الجانبية الضارة [39].

أجريت الدراسات السابقة في المختبر، ومن الضروري إثبات فعالية الجسيمات النانوية في علاج الأورام في الجسم الحي. في هذا الصدد، أظهرت دراسات الزرع في الفرنان عديمة المناعة انخفاضاً في حجم ووزن الورم بعد العلاج بجسيمات CNPs. يمكن أن يعزى هذا التأثير إلى جسيمات CNPs ذات النشاط الأكسدة-اختزال، التي تظهر خصائص أكسدة انتقائية وخصائص مضادة للأكسدة. كانت هذه الدراسة الأولى التي تظهر أن جسيمات CNPs تمنع نمو الورم في الجسم الحي.[40]

2.3.4. Zinc Oxide Nanoparticles

Application of ZnO NPs, has shown that they are most efficacious on T98G cancer cells, moderately effective on KB cells and least toxic on normal human HEK cells. These results demonstrated that treatment with ZnO NPs sensitizes T98G cells by increasing both mitotic (linked to cytogenetic damage) and interphase (apoptosis) death. The ZnO NPs behave as genotoxic drugs, since they induce micronucleus formation in cells. These results could be helpful in designing more potent anticancer agents for therapeutic uses[41].

The apoptosis-correlated, intracellular production of ROS was also measured with melanoma cancer cells with varying ZnO NP doses [42]. Zinc oxide NPs were used at a very low concentration and were found to exhibit activity against HepG2 (liver cancer) and MCF-7 (breast cancer) cancer cells in a dose-dependent manner: viability, measured by the MTT assay, showed a dose-dependent decrease. At a very low concentration, such as 25 µg/mL, the cell viability was less than 10% in the case of HepG2 cells. The results of these anti-proliferative studies clearly demonstrate that treatments with NPs sensitize cancer cells. The degree of apoptosis was found to be enhanced with an increase in the concentration of NPs, and a significant concentration of NPs resulted in cell death in both cancer cell lines[43]. In that study,

quantitative real-time PCR was utilized to analyze the mRNA levels of apoptotic markers (p53, Bax, bcl-2 and caspase-3) in

HepG2 cells exposed to ZnO NPs at a concentration of 50 µg/mL for 24 h. The results showed that the mRNA levels of these apoptotic markers were significantly altered in HepG2 cells due to ZnO NP exposure. The mRNA level of the tumor suppression gene p53 was 1.9-fold higher and the mRNA expression levels of the pro-apoptotic gene Bax and the anti-apoptotic gene bcl-2 were decreased (2.7- and 2.5-fold, respectively) in the exposed cells, compared to untreated cells. Moreover, the effect of ZnO NPs on the mRNA expression level of caspase-3 was studied and was found to be 1.8-fold higher in the treated cells than the untreated control cells. The mRNA expression levels of p53, Bax, bcl-2 and caspase in HepG2 cells in response to ZnO NP exposure was studied, because apoptosis is controlled through these pathways. The quantitative real-time PCR results show that ZnO NPs upregulate the mRNA levels of the cell cycle checkpoint protein p53 and the pro-apoptotic protein Bax. The expression of the anti-apoptotic protein bcl-2 was downregulated in cells exposed to ZnO NPs. Furthermore, the upregulation of p53 and the downregulation of bcl-2 family members, such as Bax, induce the permeabilization of the outer mitochondrial membrane, which releases soluble proteins from the intermembrane space into the cytosol, where they promote caspase activation [43].

Therapeutic cancer vaccines are emerging as part of an anticancer regimen that utilizes specific antigens to initiate and modulate the antitumor immune response[44]. Dendritic cells (DCs) have been used for therapeutic cancer vaccines [45]. DC-based cancer immunotherapy that destroys tumors requires a clinically-suitable delivery system for the target antigens in the DCs. In one study,

the authors developed iron oxide (Fe_3O_4)-zinc oxide (ZnO) core-shell NPs (CSNPs) to have ZnO -binding peptides to carry tumor antigens in DCs. This NP-antigen complex was efficiently

taken up by the DCs and was demonstrated to function as a cancer immunotherapy via injection of the DCs containing the CSNP-antigen complex into the hind footpads of mice. Mice immunized

with DCs containing the NP-antigen complex showed enhanced tumor antigen-specific T-cell responses, delayed tumor growth and better survival than controls[46]. However, a study of the potential toxicity of these new nanocarriers is required. Recently, a repeated toxicity study was performed *in vivo* by subcutaneous injection in mice and showed a dose-dependent increase in granulomatous inflammation at the injection site of the CSNP-treated animals, but no alterations in the body (Figure 3) and other histopathological lesions in other organs could be attributed to the CSNPs [47].

The electrostatic properties of zinc oxide determine that it can have different charges on its surface under acid and base conditions. This can be used in the conjugation of therapeutic agents and also to internalize NPs within cancer cells, as they are high in phospholipids with negative charges on their surface. Zinc oxide NPs also have a photodynamic property: illumination leads to the production of large amounts of ROS and can result in cell apoptosis [48]. These qualities make zinc oxide NPs a suitable candidate for a drug carrier. Conjugation of therapeutic agents with zinc oxide NPs may yield better results than with other NPs, in the targeted cancerous cells instead of normal cells. The decrease in cell viability of MCF-7 cell lines after treatment with a metalloprotein confirms that synthesized metalloproteins can have an anticancer property.

NPs carrying asparaginase were found to be more specific, highly effective and to provide reliable results[49]. ZnO NP pre-incubation followed by UVA-1

irradiation induced a significant reduction in viable head and neck squamous cell carcinoma cell lines (HNSCC) *in vitro* [50].

One strategy to reduce the toxicity of typical cancer therapies is their combination with NPs. The combination of ZnO NPs with paclitaxel and cisplatin [51] or daunorubicin [52] increases the effect of these chemotherapeutics in cell lines *in vitro*. It is evident that differently-sized ZnO NPs could greatly facilitate drug targeting and accumulation of daunorubicin in leukemia cancer cells and could thus act as an efficient agent to enhance drug delivery [52].

The combination of NPs with typical cancer drugs allows the reduction of the drug dose with the corresponding reduction in side effects.

2.3.4 جسيمات أكسيد الزنك النانوية

أظهرت تطبيقات جسيمات أكسيد الزنك النانوية (ZnO NPs) فعاليتها العظمى على خلايا سرطان الدماغ T98G، وفعالية متوسطة على خلايا سرطان البلعوم KB، وسمية منخفضة جداً على الخلايا الطبيعية البشرية HEK. هذه النتائج أوضحت أن علاج الخلايا T98G بجسيمات ZnO NPs يزيد من حساسيتها عن طريق زيادة كل من الموت الانقسامى (المرتبط بالتلف الجيني) والموت بين الطوري (الاستماتة). تتصرف جسيمات ZnO NPs كمعامل ماسخة جينياً، حيث تحفز تكوين النوى الصغيرة في الخلايا. قد تكون هذه النتائج مفيدة في تصميم عوامل أكثر فعالية لمكافحة السرطان للأغراض العلاجية.[41]

الخصائص الفيزيائية والكيميائية، والسمية الخلوية، والنشاط المضاد للميكروبات
لجسيمات نانوية من الزركونيا المكبرتة
Physicochemical Properties, Cytotoxicity, and Antimicrobial Activity
of Sulphated Zirconia Nanoparticles.

تم قياس إنتاج أنواع الأكسجين التفاعلية (ROS) داخل الخلايا المرتبط بالاستماتة في خلايا سرطان الجلد باستخدام جرعات مختلفة من جسيمات ZnO NPs [42]. عند استخدام تركيزات منخفضة جداً من جسيمات أكسيد الزنك النانوية، أظهرت فعالية ضد خلايا سرطان الكبد HepG2 وسرطان الثدي MCF-7 بطريقة تعتمد على الجرعة: حيث أظهر اختبار MTT انخفاضاً في حيوية الخلايا يعتمد على الجرعة. عند تركيز منخفض جداً

مثل 25 ميكروغرام/مل، كانت حيوية خلايا HepG2 أقل من 10%. تظهر نتائج هذه الدراسات المضادة للتكاثر بوضوح أن العلاج بالجسيمات النانوية يزيد من حساسية الخلايا السرطانية. وجد أن درجة الاستماتة تزداد مع

زيادة تركيز الجسيمات النانوية، وأن تركيزاً كبيراً من الجسيمات النانوية أدى إلى موت الخلايا في كلا الخطين الخلويين السرطانيين. [43]

في تلك الدراسة، تم استخدام تفاعل البوليميراز المتسلسل الكمي في الزمن الحقيقي لتحليل مستويات mRNA للمؤشرات الاستماتية p53، Bax، bcl-2 و caspase-3 في خلايا HepG2 المعرضة لـ ZnO NPs بتركيز 50 ميكروغرام/مل لمدة 24 ساعة. أظهرت النتائج أن مستويات mRNA لهذه المؤشرات الاستماتية تغيرت بشكل كبير في خلايا HepG2 بسبب التعرض لـ ZnO NPs. كان مستوى mRNA لجين كبت الورم p53 أعلى بمقدار 1.9 ضعف، بينما انخفضت مستويات التعبير عن الجين المحفز للاستماتة Bax والجين المثبط للاستماتة bcl-2 (2.7 و 2.5 ضعف على التوالي) في الخلايا المعالجة مقارنة بالخلايا غير المعالجة. بالإضافة إلى ذلك، تمت دراسة تأثير ZnO NPs على مستوى التعبير عن caspase-3 ووجد أنه أعلى بمقدار 1.8 ضعف في الخلايا المعالجة مقارنة بالخلايا الضابطة غير المعالجة. [43]

تظهر لقاحات السرطان العلاجية كجزء من النظام العلاجي المضاد للسرطان الذي يستخدم مستضدات محددة لبدء وتعديل الاستجابة المناعية المضادة للورم [44]. تم استخدام الخلايا المتغصنة (DCs) في لقاحات السرطان العلاجية [45]. يتطلب العلاج المناعي للسرطان القائم على الخلايا المتغصنة نظام توصيل مناسباً سريرياً للمستضدات المستهدفة في الخلايا المتغصنة. في إحدى الدراسات، طور الباحثون جسيمات نانوية قلب-قشرة من أكسيد الحديد-أكسيد الزنك ($\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-ZnO CSNPs}$) مع ببتيدات رابطة لأكسيد الزنك لحمل مستضدات الورم في الخلايا المتغصنة. تم امتصاص مركب الجسيمات النانوية-المستضد بكفاءة بواسطة الخلايا المتغصنة وثبت أنه يعمل كعلاج مناعي للسرطان عن طريق حقن الخلايا المتغصنة المحتوية على مركب CSNP-المستضد في أخص أقدام الفئران الخلفية. أظهرت الفئران الممنعة بالخلايا المتغصنة المحتوية على مركب الجسيمات النانوية-المستضد استجابات معززة للخلايا التائية الخاصة بمستضد الورم، وتأخير في نمو الورم وتحسن في البقاء مقارنة بالضوابط. [46]

ومع ذلك، هناك حاجة لدراسة السمية المحتملة لهذه الناقلات النانوية الجديدة. حديثاً، أجريت دراسة سمية متكررة في الجسم الحي عن طريق الحقن تحت الجلد في الفئران وأظهرت زيادة تعتمد على الجرعة في التهاب الحبيبي في موقع الحقن للحيوانات المعالجة ب-CSNP، ولكن لم تلاحظ أي تغيرات في الجسم (الشكل 3) أو آفات مرضية نسيجية أخرى في الأعضاء يمكن أن تعزى إلى CSNPs [47].

تحدد الخصائص الكهروستاتيكية لأكسيد الزنك أنه يمكن أن يحمل شحنات مختلفة على سطحه في الظروف الحمضية والقاعدية. يمكن استخدام هذه الخاصية في اقتران العوامل العلاجية ولتدخيل الجسيمات النانوية داخل الخلايا السرطانية، حيث تحتوي هذه الخلايا على نسبة عالية من الفوسفوليبيدات ذات الشحنات السالبة على سطحها. تتميز جسيمات أكسيد الزنك النانوية أيضاً بخاصية العلاج الضوئي الديناميكي: حيث يؤدي الإشعاع إلى إنتاج كميات كبيرة من أنواع الأكسجين التفاعلية ويمكن أن يسبب استماتة الخلايا [48]. هذه الصفات تجعل جسيمات أكسيد الزنك النانوية مرشحة مناسبة كناقلات دوائية. قد يعطي اقتران العوامل العلاجية مع جسيمات أكسيد الزنك النانوية نتائج أفضل مقارنة بجسيمات نانوية أخرى، في استهداف الخلايا السرطانية بدلاً من الخلايا الطبيعية. الانخفاض في حيوية خط خلايا MCF-7 بعد العلاج بالبروتينات المعدنية يؤكد أن البروتينات المعدنية المصنعة يمكن أن تمتلك خصائص مضادة للسرطان. وجد أن الجسيمات النانوية الحاملة لأنزيم الأسباراجيناز أكثر تحديداً وفعالية وتوفر نتائج موثوقة [49]. أظهر تحضين خلايا سرطان الرأس والعنق الحرشفية (HNSCC) مسبقاً بجسيمات ZnO NPs متبوعاً بإشعاع UVA-1 انخفاضاً كبيراً في حيوية الخلايا في المختبر. [50]

الخصائص الفيزيائية والكيميائية، والسمية الخلوية، والنشاط المضاد للميكروبات

لجسيمات نانوية من الزركونيا المكبرتة

Physicochemical Properties, Cytotoxicity, and Antimicrobial Activity
of Sulphated Zirconia Nanoparticles.

إحدى الاستراتيجيات لتقليل سمية علاجات السرطان التقليدية هي دمجها مع الجسيمات النانوية. يزيد الجمع بين جسيمات ZnO NPs مع الباكتيتاكسيل والسيسبلاتين [51] أو الداونوروبيسين [52] من تأثير هذه العوامل الكيميائية في خطوط الخلايا في المختبر. من الواضح أن جسيمات أكسيد الزنك النانوية بأحجام مختلفة يمكن أن تسهل بشكل كبير استهداف الدواء وتراكم الداونوروبيسين في خلايا سرطان الدم، وبالتالي يمكن أن تعمل كعوامل فعالة لتعزيز توصيل الدواء. [52]

يسمح الجمع بين الجسيمات النانوية وأدوية السرطان التقليدية بتقليل جرعة الدواء مع تقليل الآثار الجانبية المقابلة.

2.3.5. Copper Oxide Nanoparticles

Studies report the biosynthesis of copper oxide NPs (CONPs) from different plant extracts, such as that of *Ficus religiosa* [53] or *Acalypha indica* [54]. These NPs showed cytotoxic effects on A 549 human lung cancer cells and MCF-7 breast cancer cells, respectively. The mechanism of cytotoxicity was demonstrated to be through the induction of apoptosis with enhanced ROS generation. The green synthesis of these NPs has been proposed as a reliable, simple, nontoxic and eco-friendly method [55]. CONPs have many industrial applications[56], but recent studies have reported the antifungal and bacteriostatic properties of copper NPs/polymer composites[57]. *In vitro* studies demonstrated that cuprous oxide nanoparticles (CONPs) selectively induce the apoptosis of tumor cells *in vitro* [58]. Thereafter, the same authors studied the antitumor properties of CONPs *in vivo*, using the particles to treat mouse subcutaneous melanoma and metastatic lung tumors, based on B16-F10 mouse melanoma cells, by intratumoral and systemic injections, respectively.

The results showed that CONPs significantly reduced the growth of melanoma, inhibited the metastasis of B16-F10 cells and increased the survival rate of tumor-bearing mice. The subcutaneous tumors of the CONP group were clearly smaller than those observed in the glucose control group. To explore the clearance of CONPs, mice were injected with particles via the vena caudalis at a dose of 2mg/kg, and after seven days, the major organs were harvested and

observed. Importantly, the results also indicated that CONPs were rapidly cleared from the organs and that the particles exhibited little systemic toxicity.

Furthermore, the authors observed that CONPs targeted the mitochondria of HeLa cells *in vitro*, which resulted in the release of cytochrome C from the mitochondria and the activation of caspase- 3 and caspase-9 after the CONPs entered the cells. In

conclusion, CONPs can induce the apoptosis of cancer cells through a mitochondrion-mediated apoptosis pathway, which raises the possibility that CONPs could be used to cure melanoma and other cancers. CONPs inhibit the growth and metastasis of melanoma in a tumor-bearing mice model and are rapidly cleared by mice with low toxicity [59]. CONPs were found to induce cytotoxicity in a human liver carcinoma cell line (HepG2) in a dose-dependent manner, which was probably mediated through ROS generation and oxidative stress[60].

2.3.5 جسيمات أكسيد النحاس النانوية

أفادت الدراسات عن تركيب جسيمات أكسيد النحاس النانوية (CONPs) حيويًا من مستخلصات نباتية مختلفة، مثل مستخلص شجرة البيلال [53] (*Ficus religiosa*) أو الأكاليفا [54] (*Acalypha indica*) أظهرت هذه الجسيمات تأثيرات سامة خلوية على خلايا سرطان الرئة البشرية A-549 وخلايا سرطان الثدي MCF-7 على التوالي. تم إثبات أن آلية السمية الخلوية تتم من خلال تحفيز الاستماتة مع زيادة إنتاج أنواع الأكسجين التفاعلية (ROS). تم اقتراح التركيب الحيوي الأخضر لهذه الجسيمات كطريقة موثوقة وبسيطة وغير سامة وصديقة للبيئة [55].

تتمتع جسيمات أكسيد النحاس النانوية بالعديد من التطبيقات الصناعية [56]، ولكن الدراسات الحديثة أبلغت عن خصائص مضادة للفطريات والبكتيريا للمركبات البوليمرية المحتوية على جسيمات النحاس النانوية [57]. أظهرت الدراسات العملية أن جسيمات أكسيد النحاس الأحادي النانوية (CONPs) تحفز بشكل انتقائي استماتة الخلايا السرطانية في المختبر [58]. بعد ذلك، قام نفس المؤلفين بدراسة الخصائص المضادة للأورام لـ CONPs في الجسم الحي، باستخدام الجسيمات لعلاج أورام الجلد الميلانينية تحت الجلد وأورام الرئة النقيلية في

الفئران، بناءً على خلايا سرطان الجلد الميلانيني B16-F10، عن طريق الحقن داخل الورم وبالجهازية على التوالي.

أظهرت النتائج أن CONPs قللت بشكل كبير من نمو الورم الميلانيني، وثبطت انتشار خلايا B16-F10، وزادت معدل بقاء الفئران الحاملة للأورام. كانت الأورام تحت الجلدية في مجموعة CONPs أصغر بشكل واضح من تلك الملاحظة في مجموعة التحكم التي عولجت بالجلوكوز. لاستكشاف إزالة CONPs من الجسم، تم حقن الفئران بالجسيمات عبر الوريد الذنبى بجرعة 2 مجم/كجم، وبعد سبعة أيام، تم استئصال الأعضاء الرئيسية وفحصها. الأهم من ذلك، أشارت النتائج أيضاً إلى أن CONPs تمت إزالتها بسرعة من الأعضاء وأن الجسيمات أظهرت سمية جهازية منخفضة.

الخصائص الفيزيائية والكيميائية، والسمية الخلوية، والنشاط المضاد للميكروبات

لجسيمات نانوية من الزركونيا المكبرتة

Physicochemical Properties, Cytotoxicity, and Antimicrobial Activity
of Sulphated Zirconia Nanoparticles.

علاوة على ذلك، لاحظ المؤلفون أن CONPs تستهدف الميتوكوندريا في خلايا هيللا (HeLa) في المختبر، مما أدى إلى إطلاق سيتوكروم C من الميتوكوندريا وتنشيط كاسباز-3 وكاسباز-9 بعد دخول CONPs إلى الخلايا. خلاصة القول، يمكن أن تحفز CONPs استماتة الخلايا السرطانية من خلال مسار استماتة بواسطة الميتوكوندريا، مما يزيد من إمكانية استخدام CONPs لعلاج الورم الميلانيني وغيره من السرطانات. تثبط CONPs نمو وانتشار الورم الميلانيني في نموذج الفئران الحاملة للأورام وتتم إزالتها بسرعة مع سمية منخفضة [59].

كما وجد أن CONPs تحفز السمية الخلوية في خط خلايا سرطان الكبد البشرية (HepG2) بطريقة تعتمد على الجرعة، والتي ربما تكون بواسطة توليد ROS والإجهاد التأكسدي [60].

2.3.6. Silicon Dioxide or Silica

In contrast to other metal oxide NPs with antitumor effects *per se*, silica has been shown to be a good carrier for different anticancer drugs, such as gemcitabine and paclitaxel, in the treatment of pancreas cancer in mice [61].

The size- and shape-controllable pores of mesoporous silica NPs (SNPs) can store pharmaceutical drugs and prevent their premature release and degradation before reaching their designated target.

Chemotherapeutic drugs can be loaded into mesoporous silica NPs, replacing the need to use solvents that are often toxic for healthy tissues.

The first concern is the potential toxicity of this kind of NP; so it is necessary to study subacute toxicity with mesoporous SNPs. This study showed no toxicity after *in vivo*

administration to mice [62]. Thereafter, the authors reported the design, synthesis and biological evaluation of surface modified SNPs for the delivery of camptothecin (CPT). The tumors in the mice treated with NPs loaded with CPT were virtually eliminated at the end of the experiments. These results proved that the high drug-loading capacity, low toxicity and tumor-accumulating effect of these NPs provide a promising drug delivery vehicle for anticancer drugs. The tumor-curing results were also encouraging, constructing a base for further research into the capacity of MSNs for other types of tumors and the possibility of using lower dosages to further reduce toxicity. SNPs have a natural tendency to aggregate, due to hydrogen-bond interactions between external silanol groups. The use of this type of nanomaterial in biological applications requires the reduction of this natural trend, in order to improve bio-distribution and cellular uptake. Coating the NP surface with trihydroxysilylpropyl carboxylate (THSC) groups has a considerable effect on the surface charge of SNPs (-1.8 and -13.9 mV for non-coated SNP and SNP-COOH, respectively) with the electrostatic repulsion being enough to reduce aggregation and to increase the stability of the particles in aqueous solution [63].

A drug has been covalently linked to the NP through an ester bond with the 20-hydroxy moiety, in order to stabilize its lactone ring and to avoid unspecific release of the drug. The material obtained is highly stable in plasma, with slow release of the cargo at physiological pH values. Cell internalization and *in vitro* efficacy assays demonstrated that SNPs carrying CPT entered cells via endocytosis, and the intracellular release of the cargo induced cell death with half maximal inhibitory concentration (IC₅₀) values and cell cycle distribution profiles similar to those observed for the naked drug. Furthermore, the *in vivo* bio-distribution, therapeutic

efficacy and biocompatibility of the SNP-CPT were evaluated in human colorectal cancer xenografts using *in vivo* fluorescence or bioluminescence optical imaging.

In vivo tumor-accumulation and whole-body tissue distribution were studied based on the acquisition of fluorescence emission of a fluorophore (Cy5.5) conjugated to the SNP-CPT, as well as by HPLC quantification of tissue CPT levels. The results showed that although the SNP-CPT tended to accumulate in organs of the reticuloendothelial system, the SNPs boost CPT concentration in tumor compared to administration of the free drug. Accordingly, SNP-CPT treatment delayed the growth of subcutaneous tumors while significantly reducing the systemic toxicity associated with CPT administration. These results indicate that SNP-CPT could be used as a robust drug delivery system for antitumor treatments based on CPT [64]. The authors indicated that although their results regarding tumor growth differences were not as dramatic as those obtained previously by Lu *et al.*[62], a distinct type of experiment was carried out in each case. Botella *et al.*[63] Performed a tumor growth inhibition experiment starting treatment once the tumors were well established; in contrast, Lu *et al.* performed a tumor growth prevention assay, and the therapeutic agents were also administered at higher doses via a different route [64] .

2.3.6 ثاني أكسيد السيليكون أو السيليكا

على عكس الجسيمات النانوية الأخرى لأكاسيد الفلزات ذات التأثيرات المضادة للأورام بحد ذاتها، فقد أثبتت السيليكا أنها حامل ممتاز لمختلف الأدوية المضادة للسرطان، مثل الجيمسيتابين والباكليتاكسيل، في علاج سرطان البنكرياس في الفئران.[61]

تمتلك جسيمات السيليكا النانوية المسامية (SNPs) مساماً قابلة للتحكم في الحجم والشكل، مما يمكنها من تخزين الأدوية ومنع إطلاقها المبكر وتحللها قبل الوصول إلى الهدف المحدد. يمكن تحميل الأدوية الكيميائية في جسيمات السيليكا النانوية المسامية، مما يلغي الحاجة إلى استخدام المذيبات التي غالباً ما تكون سامة للأنسجة السليمة.

أولى المخاوف هي السمية المحتملة لهذا النوع من الجسيمات النانوية؛ لذا كان من الضروري دراسة السمية تحت الحادة لجسيمات السيليكا المسامية. أظهرت هذه الدراسة عدم وجود سمية بعد إعطائها للفئران في الجسم الحي [62]. بعد ذلك، أبلغ المؤلفون عن تصميم وتصنيع وتقييم بيولوجي لجسيمات السيليكا المعدلة سطحياً لتوصيل الكامبوتثيسين (CPT) تم القضاء على الأورام عملياً في الفئران المعالجة بالجسيمات المحملة بـ CPT بنهاية التجارب. أثبتت هذه النتائج أن القدرة العالية على تحميل الدواء، والسمية المنخفضة، وتأثير تراكم الورم لهذه الجسيمات توفر ناقلاً واعداً للأدوية المضادة للسرطان. كانت نتائج علاج الأورام مشجعة أيضاً، مما يشكل أساساً لمزيد من البحث في قدرة جسيمات السيليكا المسامية على أنواع أخرى من الأورام وإمكانية استخدام جرعات أقل لتقليل السمية بشكل أكبر.

تميل جسيمات السيليكا النانوية إلى التكتل بشكل طبيعي بسبب تفاعلات الروابط الهيدروجينية بين مجموعات السيلانول الخارجية. يتطلب استخدام هذا النوع من المواد النانوية في التطبيقات البيولوجية تقليل هذه الميل الطبيعي لتحسين التوزيع الحيوي والامتصاص الخلوي. تبين أن طلاء سطح الجسيمات النانوية بمجموعات ثلاثي هيدروكسي سيلليل بروبيل كربوكسيلات (THSC) له تأثير كبير على الشحنة السطحية للجسيمات. 1.8-13.9 مليفولت للجسيمات غير المطلية والمطلية بـ COOH على التوالي، حيث يكون التنافر الكهروستاتيكي كافياً لتقليل التكتل وزيادة استقرار الجسيمات في المحاليل المائية.[63]

الخصائص الفيزيائية والكيميائية، والسمية الخلوية، والنشاط المضاد للميكروبات

لجسيمات نانوية من الزركونيا المكبرطة

Physicochemical Properties, Cytotoxicity, and Antimicrobial Activity
of Sulphated Zirconia Nanoparticles.

تم ربط الدواء تساهمياً بالجسيمات النانوية عبر رابطة إستر مع مجموعة الهيدروكسيل 20، لتثبيت حلقة اللاكتون ومنع الإطلاق غير المحدد للدواء. المادة الناتجة مستقرة للغاية في البلازما، مع إطلاق بطيء للحمولة عند قيم الأس الهيدروجيني الفسيولوجية. أظهرت اختبارات الامتصاص الخلوي والفعالية في المختبر أن جسيمات السيليكا النانوية الحاملة لـ CPT تدخل الخلايا عبر الالتقام الخلوي، وأن الإطلاق داخل الخلايا للحمولة يحفز موت الخلايا بـ تركيز مثبط متوسط (IC50) وملامح توزيع دورة خلوية مشابهة لتلك الملاحظة مع الدواء الحر.

علاوة على ذلك، تم تقييم التوزيع الحيوي، والفعالية العلاجية، والتوافق الحيوي لـ SNP-CPT في الجسم الحي في طعوم أورام القولون والمستقيم البشرية باستخدام التصوير البصري الفلوري أو الضيائي الحيوي. تمت دراسة تراكم الورم في الجسم الحي وتوزيع الأنسجة في الجسم كله بناءً على اكتساب الانبعاث الفلوري للفلوروفور (Cy5.5) المقترن بـ SNP-CPT، وكذلك عن طريق قياس كمية CPT في الأنسجة باستخدام كروماتوغرافيا السائل عالية الأداء (HPLC). أظهرت النتائج أنه على الرغم من ميل SNP-CPT إلى التراكم في أعضاء الجهاز الشبكي البطاني، فإن الجسيمات تعزز تركيز CPT في الورم مقارنة بإعطاء الدواء الحر. وفقاً لذلك، أدى علاج SNP-CPT إلى تأخير نمو الأورام تحت الجلد مع تقليل كبير للسمية الجهازية المرتبطة بإعطاء CPT. تشير هذه النتائج إلى أن SNP-CPT يمكن استخدامه كنظام قوي لتوصيل الأدوية للعلاجات المضادة للأورام القائمة على CPT [64].

أشار المؤلفون إلى أنه على الرغم من أن نتائجهم فيما يتعلق باختلافات نمو الورم لم تكن دراماتيكية مثل تلك التي حصل عليها لو وآخرون سابقاً [62]، إلا أن كل حالة شملت نوعاً مختلفاً من التجارب. أجرى بوتيلو وآخرون [63] تجربة تثبيط نمو الورم بدءاً بالعلاج بعد تأسيس الأورام جيداً، في حين أجرى لو وآخرون اختبار منع نمو الورم، كما تم إعطاء العوامل العلاجية بجرعات أعلى عبر طريق مختلف [64].

2.4. Influence of Size and Characteristics of Nanoparticles

Different strategies have been developed for cancer treatment; the first exploits the enhanced permeation and retention effect (EPR) associated with the hyperpermeability of the tumor vasculature where sufficiently small particles (<500 nm) can passively extravasate and accumulate in tumor parenchyma [65].

However, the size of the different metal oxide nanoparticles are smaller than 50 nm. The measures of the NPs are usually performed in water, but when NPs are in cell culture medium, aggregates are observed. This is one of the principal limitations in knowing the real size of NPs when *in vitro* studies are performed.

The uptake, localization and effect of cerium oxide nanoparticles in the cells depend on their size, surface charge and agglomeration inside the cells. Particles of a diameter less than 20 nm are present longer in the cells than larger particles.

The uptake of single, un-agglomerated nanoparticles therefore becomes very improbable for particles of less than 50 nm in size; then, particle size is indirectly the dominant factor determining the rate of uptake, while primary particle number concentration and total surface area are of minor importance [36, 66].

Studies reporting the use of TiO₂ in photodynamic therapy have presented a non-uniform size of the nano-construct that might have compromised repeatability and translatability of photodynamic therapy results *in vivo* [30].

When NPs are administered *in vivo* and are present in blood, then protein corona can be formed, modifying their action. NP-protein coronas generally reduce cytotoxicity and immunotoxicity, but immunotoxicity can be mitigated or activated depending on the type of NP and adsorbed plasma protein. At this time, there is limited knowledge of the correlation between the physicochemical properties of NPs and their physiological effects. The formation and immunological response to NP-protein coronas is significantly influenced by the physiochemical surface properties of the NPs (*i.e.*, physical surface architecture and chemical functionality), and thus, future works should address this by analyzing protein distribution and examining *in vitro* and *in vivo* responses[67] .

2.4 تأثير حجم وخصائص الجسيمات النانوية

تم تطوير استراتيجيات مختلفة لعلاج السرطان؛ تعتمد الأولى على تأثير النفاذية والاحتباس المعزز (EPR) المرتبط بفرط النفاذية للأوعية الدموية للورم، حيث يمكن للجسيمات الصغيرة بدرجة كافية (>500 نانومتر) أن تتسرب بشكل سلبي وتتراكم في نسيج الورم.[65]

ومع ذلك، فإن حجم جسيمات أكاسيد الفلزات النانوية المختلفة أقل من 50 نانومتر. عادةً ما يتم قياس الجسيمات النانوية في الماء، ولكن عند وجودها في وسط مزرعة خلوية، يتم ملاحظة تكون تجمعات. وهذا يمثل أحد القيود الرئيسية في معرفة الحجم الحقيقي للجسيمات النانوية عند إجراء الدراسات المعملية.

يعتمد امتصاص وتوطن وتأثير جسيمات أكسيد السيريوم النانوية في الخلايا على حجمها، وشحنتها السطحية، ودرجة تجمعها داخل الخلايا. تبقى الجسيمات التي يقل قطرها عن 20 نانومتر في الخلايا لفترة أطول مقارنة بالجسيمات الأكبر حجماً. وبالتالي يصبح امتصاص الجسيمات النانوية المفردة غير المتجمعة أمراً غير مرجح للجسيمات الأصغر من 50 نانومتر؛ مما يجعل حجم الجسيمات العامل الأساسي غير المباشر في تحديد معدل الامتصاص، بينما يقل أهمية تركيز عدد الجسيمات الأولية ومساحة السطح الكلية 36، 66

الخصائص الفيزيائية والكيميائية، والسمية الخلوية، والنشاط المضاد للميكروبات

لجسيمات نانوية من الزركونيا المكبرة

Physicochemical Properties, Cytotoxicity, and Antimicrobial Activity
of Sulphated Zirconia Nanoparticles.

أظهرت الدراسات التي تناولت استخدام ثاني أكسيد التيتانيوم في العلاج الضوئي الديناميكي اختلافاً في حجم التركيبات النانوية، مما قد يؤثر على إمكانية تكرار النتائج وتحويلها إلى تطبيقات في الجسم الحي.[30]

عند إعطاء الجسيمات النانوية في الجسم الحي ووجودها في الدم، يمكن أن تتكون حالة بروتينية حولها، مما يعدل من عملها. عادةً ما تقلل حالات البروتين-الجسيمات النانوية من السمية الخلوية والمناعية، ولكن يمكن التخفيف من

السمية المناعية أو تنشيطها اعتماداً على نوع الجسيمات النانوية وبروتينات البلازما الممتزة. حالياً، هناك معرفة محدودة عن العلاقة بين الخصائص الفيزيوكيميائية للجسيمات النانوية وتأثيراتها الفسيولوجية. يتأثر تكوين حالة البروتين-الجسيمات النانوية واستجابة الجهاز المناعي لها بشكل كبير بالخصائص الفيزيوكيميائية لسطح الجسيمات النانوية (مثل البنية السطحية الفيزيائية والوظائف الكيميائية)، وبالتالي يجب أن تركز الأبحاث المستقبلية على تحليل توزيع البروتين ودراسة الاستجابات في المختبر وفي الجسم الحي.[67]

2.5. Chemical Nanotechnology

For chemists, nanotechnology is not an entirely new field, as many existing chemical technologies utilize nanoscale processes. Chemical catalysis is a typical example of chemical nanotechnology that has existed for more than a century. Catalysts accelerate numerous chemical transformations, such as the conversion of crude oil into gasoline and the conversion of small organic chemicals into drugs. Similarly, enzymes in cells are actually a kind of biological catalyst, and they organize and modulate the life chemistry of the body. It is expected that the nanoscale understanding of catalysis will lead to better and cleaner industrial processes[68].

2.5 التقانة النانوية الكيميائية

بالنسبة للكيميائيين، لا تمثل التقانة النانوية مجالاً جديداً بالكامل، حيث أن العديد من التقنيات الكيميائية الحالية تستخدم عمليات نانوية. يُعد الحفز الكيميائي مثالاً نموذجياً على التقانة النانوية الكيميائية التي ظهرت منذ أكثر من قرن. تعمل المحفزات على تسريع العديد من التحولات الكيميائية، مثل تحويل النفط الخام إلى بنزين وتحويل المواد الكيميائية العضوية الصغيرة إلى أدوية. وبالمثل، تعتبر الإنزيمات في الخلايا نوعاً من المحفزات الحيوية، حيث تنظم وتعديل كيمياء الحياة في الجسم. من المتوقع أن يؤدي الفهم النانوي لعملية الحفز إلى تطوير عمليات صناعية أفضل وأكثر نظافة. [68]

2.6. Nanobiotechnology

Nanobiotechnology is a field that concerns the utilization of biological systems optimized through evolution, such as cells, cellular components, nucleic acids and proteins, to fabricate functional nanostructures and mesoscopic architectures comprised of organic and inorganic materials [69]. Biological molecules can be harnessed for the creation of nanostructures, and can be used to assemble nanoscale building blocks based on the principle of molecular recognition [70]. Many biological molecules, such as DNA, can bind to other molecules in a lock-and-key manner with very high selectivity and specificity. For example, the sequences of single-stranded oligonucleotides can be chosen so that they can bind to other partly complementary single-stranded oligonucleotides, causing the formation of complex patterns such as two dimensional crystals or cubes.

The instruments originally developed for synthesizing and manipulating nanoscale materials have been refined and applied in the fundamental researches of biological activities [69].

Nanotechnology has contributed important tools to investigate and manipulate biological nanoobjects. One example is an atomic force microscope (AFM) based sensor, which detects biological molecules by binding them to a tiny cantilever, thereby tuning its resonance frequency. Another example is the miniaturization of a wide variety of laboratory apparatus to the size of a silicon chip. In this way the speed and throughput of classical biochemical methods, such as gel electrophoresis and polymerase chain reaction, can be increased[70].

2.6 التقانة النانوية الحيوية

التقانة النانوية الحيوية مجال يتعلق باستخدام الأنظمة البيولوجية المحسنة عبر التطور، مثل الخلايا ومكوناتها والأحماض النووية والبروتينات، لتصنيع هياكل نانوية وظيفية وتراكيب متوسطة الحجم تتكون من مواد عضوية وغير عضوية.[69]

يمكن تسخير الجزيئات الحيوية لإنشاء هياكل نانوية، واستخدامها لتجميع وحدات بناء نانوية بناءً على مبدأ التمييز الجزيئي [70]. العديد من الجزيئات الحيوية مثل الحمض النووي يمكنها الارتباط بجزيئات أخرى بطريقة القفل والمفتاح بانتقائية عالية. على سبيل المثال، يمكن اختيار تسلسلات قليل النوكليوتيدات أحادية السلسلة بحيث ترتبط مع قليل نوكليوتيدات أحادية سلسلة كاملة جزئياً، مما يسبب تكوين أنماط معقدة مثل بلورات ثنائية الأبعاد أو مكعبات.

الأدوات التي طورت أصلاً لتركيب ومعالجة المواد النانوية تم تحسينها وتطبيقها في الأبحاث الأساسية للأنشطة البيولوجية [69]. ساهمت التقانة النانوية بأدوات مهمة لدراسة ومعالجة الأجسام النانوية الحيوية. أحد الأمثلة هو مجس يعتمد على مجهر القوة الذرية (AFM) الذي يكشف الجزيئات الحيوية بربطها برافعة دقيقة، مما يغير ترددها الرنيني. مثال آخر هو تصغير حجم معدات مخبرية متنوعة إلى حجم رقاقة سيليكون. بهذه الطريقة يمكن زيادة سرعة وإنتاجية الطرق الكيميائية الحيوية التقليدية مثل الرحلان الكهربائي الهلامي وتفاعل البوليميراز المتسلسل.[70]

2.7. Biomedical Nanotechnology

Nanomaterials and nanotechnology are widely applied in biomedicine, especially in the areas of biomedical diagnosis, drugs and prostheses and implants[71]. The applications of biomedical nanotechnology generally fall into two categories: outside the body and inside the body. For applications outside the body, biosensors and biochips have been used to analyze blood and other biological samples. For applications inside the body, researchers are working on targeted drugs delivery, implantation of insulin pumps and gene therapy. In addition, great achievements have been made on the prostheses and implants that include nanostructured materials.

2.7 التقانة النانوية الطبية الحيوية

تُستخدم المواد والتقنيات النانوية على نطاق واسع في المجال الطبي الحيوي، وخاصة في مجالات التشخيص الطبي الحيوي، والأدوية، والأطراف الصناعية والغرسات [71]. تنقسم تطبيقات التقانة النانوية الطبية الحيوية بشكل عام إلى فئتين: خارج الجسم وداخله. بالنسبة للتطبيقات خارج الجسم، تم استخدام المستشعرات الحيوية والشرائح الحيوية لتحليل الدم والعينات البيولوجية الأخرى. أما للتطبيقات داخل الجسم، يعمل الباحثون على تطوير أنظمة توصيل الأدوية المستهدفة، وزرع مضخات الإنسولين، والعلاج الجيني. بالإضافة إلى ذلك، تم تحقيق تقدم كبير في مجال الأطراف الصناعية والغرسات التي تتضمن مواد نانوية البنية.

2.8. Cancer Nanotechnology

Cancer is one of the leading causes of death in developed countries. Conventional treatments, including surgery, radiation, chemotherapy and biological therapies (immunotherapy) are limited by the accessibility of the tumor, the risk of operating on a vital organ, the spread of cancer cells throughout the body and the lack of selectivity toward tumor cells [72]. Nanotechnology can provide a better chance of survival. Cancer nanotechnology is actually a kind of biomedical nanotechnology. As more and more attention is paid to the diagnosis and therapy of cancers using nanotechnology, so cancer nanotechnology becomes a special branch in nanotechnology.

Cancer nanotechnology includes varieties of materials and techniques that are used for solving various problems. The research activities in cancer nanotechnology generally fall into seven categories.

The first is the development of early imaging agents and diagnostic techniques for detecting cancers at their earliest, pre-symptomatic stage.

Second is the development of techniques that can provide on-site assessments of the effects of the therapies.

Third is the development of targeting devices that can bypass biological barriers and accurately deliver therapeutic agents to the tumor sites.

Fourth, the development of agents that can be used to monitor predictive molecular changes and to prevent pre-cancerous cells from becoming malignant ones.

Fifth is the development of surveillance systems for detecting the mutations that could trigger the cancer process and also for detecting genetic markers indicating a predisposition to cancers.

Sixth is the development of methods for controlling cancer symptoms that badly affect quality of life.

Seventh is the development of techniques helping researchers to rapidly identify new targets for clinical treatment and forecast possible side effects and drug resistance.

There are two major trends in cancer nanotechnology research [68]. One trend is the development of multi-functional nanomaterials than can be used to simultaneously image a tumor and deliver drugs to the tumor. This may be the most radical improvement that nanotechnology can make for cancer treatment. The other trend in cancer nanotechnology is to dose a tumor with many drugs simultaneously, not just with one drug. In this way, the drug resistance problem, which is one of the most vexing problems in cancer treatment, could be solved. Usually, the drug resistance of a cancer cell is due to its ability to pump out the anti-cancer drugs once they are delivered into the cell. However, by delivering an agent that can inhibit the pumping at the same time as the anticancer drugs are delivered to cancer cells, the problem of drug resistance may disappear.

2.8 التقانة النانوية في مجال السرطان

يُعد السرطان أحد الأسباب الرئيسية للوفاة في الدول المتقدمة. تواجه العلاجات التقليدية التي تشمل الجراحة، والإشعاع، والعلاج الكيميائي، والعلاجات البيولوجية (المناعية) قيوداً تتعلق بإمكانية الوصول إلى الورم، ومخاطر الجراحة في الأعضاء الحيوية، وانتشار الخلايا السرطانية في الجسم، وعدم انتقائية العلاج للخلايا السرطانية [72]. يمكن أن توفر التقانة النانوية فرصاً أفضل للنجاة. تُعتبر التقانة النانوية في مجال السرطان في الواقع نوعاً من التقانة النانوية الطبية الحيوية. ومع تزايد الاهتمام باستخدام التقانة النانوية في تشخيص وعلاج السرطان، أصبحت التقانة النانوية في مجال السرطان فرعاً متخصصاً في مجال التقانة النانوية. تشمل التقانة النانوية في مجال السرطان أنواعاً مختلفة من المواد والتقنيات المستخدمة لحل مشكلات متعددة. تنقسم الأنشطة البحثية في هذا المجال إلى سبع فئات رئيسية:

1. تطوير عوامل التصوير والتقنيات التشخيصية للكشف عن السرطان في مراحله المبكرة قبل ظهور الأعراض.
2. تطوير تقنيات يمكنها تقدير تأثيرات العلاجات مباشرة في موقع الورم.
3. تطوير أجهزة استهداف يمكنها تجاوز الحواجز البيولوجية وتوصيل العوامل العلاجية بدقة إلى مواقع الأورام.
4. تطوير عوامل يمكن استخدامها لرصد التغيرات الجزيئية التنبؤية ومنع تحول الخلايا ما قبل السرطانية إلى خلايا خبيثة.
5. تطوير أنظمة مراقبة للكشف عن الطفرات التي قد تثير عملية السرطان، وكذلك للكشف عن المؤشرات الجينية الدالة على الاستعداد للإصابة بالسرطان.
6. تطوير طرق للسيطرة على أعراض السرطان التي تؤثر بشكل سيء على جودة الحياة.
7. تطوير تقنيات تساعد الباحثين على تحديد أهداف جديدة للعلاج السريري بسرعة، وتوقع الآثار الجانبية المحتملة ومقاومة الأدوية.

هناك اتجاهان رئيسيان في أبحاث التقانة النانوية في مجال السرطان [68]. يتمثل الاتجاه الأول في تطوير مواد نانوية متعددة الوظائف يمكن استخدامها في تصوير الورم وتوصيل الأدوية إليه في وقت واحد. وقد يكون هذا التحسين الأكثر جذرية الذي يمكن أن تقدمه التقانة النانوية لعلاج السرطان. أما الاتجاه الثاني فيتمثل في معالجة الورم بعدة أدوية في وقت واحد، وليس دواءً واحداً فقط. بهذه الطريقة، يمكن حل مشكلة مقاومة الأدوية، التي تعد من أكثر المشكلات إثارة للقلق في علاج السرطان. عادةً ما تكون مقاومة الخلية السرطانية للأدوية ناتجة عن قدرتها على ضخ الأدوية المضادة للسرطان خارجها بمجرد دخولها إليها. ومع ذلك، من خلال توصيل عامل يمكنه تثبيط عملية الضخ في نفس وقت توصيل الأدوية المضادة للسرطان إلى الخلايا السرطانية، قد تختفي مشكلة مقاومة الأدوية.

2.9 Typical Approaches for Synthesis of Nanomaterials

The approaches for synthesis of nanomaterials are commonly categorized into top-down approach, bottom-up approach and hybrid approach.

2.9 الطرق النموذجية لتصنيع المواد النانوية

تُصنف طرق تصنيع المواد النانوية عادةً إلى:

1. النهج من الأعلى إلى الأسفل (Top-down)
2. النهج من الأسفل إلى الأعلى (Bottom-up)
3. النهج الهجين (Hybrid approach)

2.9.1. Top-down Approach

Generally speaking, the top-down approach is an extension of lithography. This approach starts with a block of material, and reduces the starting material down to the desired shape in nanoscale by controlled etching, elimination and layering of the material [73]. Owing to the advancement of the semiconductor industry, the top-down approach for the fabrication of nanomaterials is a welldeveloped method. One problem with the top-down approach is the imperfection of the surface structure [73]. The conventional top-down techniques, such as lithography, may cause severe crystallographic damage to the processed patterns, and some uncontrollable defects may also be introduced even during the etching steps. For example, a nanowire fabricated by lithography usually contains impurities and structural defects on the surface. As the surface over volume ratio in nanomaterials is very large, such imperfections may significantly affect the physical properties and surface chemistry of the nanomaterials.

Regardless of the surface imperfections and other defects, the top-down approach is still important for synthesizing nanomaterials. However, it should be noted that, in the quest for miniaturization, top-down lithographic approaches for creating nanomaterials are approaching the fundamental limitations. Even cutting-edge electron beam lithography cannot create structures smaller than 10 nm[74]. Besides, lithographic techniques are usually expensive, and their productivities are usually low.

الخصائص الفيزيائية والكيميائية، والسمية الخلوية، والنشاط المضاد للميكروبات
لجسيمات نانوية من الزركونيا المكبرتة
Physicochemical Properties, Cytotoxicity, and Antimicrobial Activity
of Sulphated Zirconia Nanoparticles.

2.9.1 النهج من الأعلى إلى الأسفل

يعتمد هذا النهج على تقنيات النحت والتصغير، حيث يبدأ بكتلة من المادة ويتم تقليلها إلى الشكل والحجم النانوي المطلوب عن طريق النحت المُتحكم فيه، والإزالة، والطبقات [73]. نظراً لتطور صناعة أشباه الموصلات، أصبح هذا النهج طريقة متطورة لتصنيع المواد النانوية.

ومع ذلك، فإن أحد عيوب هذا النهج هو عدم كمال البنية السطحية للمواد النانوية الناتجة [73]. فالتقنيات التقليدية مثل الطباعة الضوئية (Lithography) قد تسبب تلفاً في البنية البلورية للأنماط المصنعة، وقد تظهر عيوب غير متحكم فيها حتى أثناء خطوات النحت. على سبيل المثال، قد تحتوي الأسلاك النانوية المصنعة بهذه الطريقة على شوائب وعيوب هيكلية على السطح. ونظراً لأن نسبة السطح إلى الحجم في المواد النانوية كبيرة جداً، فإن هذه العيوب قد تؤثر بشكل كبير على الخصائص الفيزيائية والكيميائية السطحية للمواد النانوية. على الرغم من هذه العيوب، يظل النهج من الأعلى إلى الأسفل مهماً في تصنيع المواد النانوية. لكن يجب ملاحظة أن هذا النهج يقترب من حدوده الأساسية في مساعي التصغير. فحتى تقنية الطباعة الإلكترونية المتطورة (Electron beam lithography) لا يمكنها إنشاء هياكل أصغر من 10 نانومتر [74]. بالإضافة إلى ذلك، تعد تقنيات الطباعة باهظة التكلفة وعادةً ما تكون إنتاجيتها منخفضة.

2.9.2. Bottom-up Approach

In a bottom-up approach, materials are fabricated by efficiently and effectively controlling the arrangement of atoms, molecules, macromolecules or supramolecules [75]. The bottom-up approach is driven mainly by the reduction of Gibbs free energy, so the nanomaterials thus produced are in a state closer to a thermodynamic equilibrium state. The synthesis of large polymer molecules is a typical example of the bottom-up approach, where individual building blocks, monomers, are assembled into a large molecule or polymerized into bulk material. Crystal growth is another example of the bottom-up approach, where growth species – either atoms, or ions or molecules – assemble in an orderly fashion into the desired crystal structure on the growth surface [73]. The concept and practice of a bottom-up approach have existed for quite a while, and this approach plays a crucial role in the fabrication and processing of nanomaterials. The nanostructures fabricated in the bottom-up approach usually have fewer defects, a more homogeneous chemical composition and better short and long range ordering.

الخصائص الفيزيائية والكيميائية، والسمية الخلوية، والنشاط المضاد للميكروبات
لجسيمات نانوية من الزركونيا المكبرتة
Physicochemical Properties, Cytotoxicity, and Antimicrobial Activity
of Sulphated Zirconia Nanoparticles.

2.9.2 النهج من الأسفل إلى الأعلى

يعتمد هذا النهج على بناء المواد النانوية من الذرات أو الجزيئات، حيث يتم التحكم في ترتيب الذرات أو الجزيئات أو الجزيئات الكبيرة أو فوق الجزيئية بطريقة فعالة ومنظمة. [75]
يُحرك هذا النهج انخفاض طاقة جيبس الحرة، مما يجعل المواد النانوية الناتجة أقرب إلى حالة التوازن الديناميكي الحراري. ومن الأمثلة النموذجية لهذا النهج:..

- تصنيع الجزيئات البوليمرية الكبيرة، حيث يتم تجميع الوحدات البنائية (المونومرات) في جزيء كبير أو بوليمر.
- نمو البلورات، حيث تتراكم الذرات أو الأيونات أو الجزيئات بطريقة منظمة لتشكيل البنية البلورية المطلوبة على سطح النمو. [73]

يتميز هذا النهج بأن الهياكل النانوية الناتجة تكون:

أقل عيوباً

أكثر تجانساً في التركيب الكيميائي

ذات ترتيب أفضل على المدى القصير والبعيد

يُعد النهج من الأسفل إلى الأعلى أكثر كفاءة في تصنيع مواد نانوية عالية الجودة، لكنه يتطلب تحكماً دقيقاً في ظروف التفاعل مثل درجة الحرارة، والضغط، وتركيز المواد المتفاعلة.

2.9.3. Hybrid Approach

Though both the top-down and bottom-up approaches play important roles in the synthesis of nanomaterials, some technical problems exist with these two approaches. For the top-down approach, the main challenge is how to accurately and efficiently create structures which are becoming smaller and smaller; while for the bottom-up approach, the main challenge is how to fabricate structures which are of sufficient size and amount to be used as materials in practical applications. The top-down and bottom-up approaches have evolved independently. It is found that, in many cases, combining top-down and bottom-up methods into a unified approach that transcends the limitations of both is the optimal solution[74, 76]. A thin film device, such as a magnetic sensor, is usually developed in a hybrid approach, since the thin film is grown in a bottom-up approach, whereas it is etched into the sensing circuit in a top-down approach.

2.9.3 النهج الهجين

على الرغم من أهمية النهجين من الأعلى إلى الأسفل ومن الأسفل إلى الأعلى في تصنيع المواد النانوية، إلا أن كلا منهما يواجه تحديات تقنية:

- تحدي النهج من الأعلى إلى الأسفل: صعوبة تصنيع هياكل نانوية دقيقة جداً وبكفاءة عالية مع استمرار تصغير الأحجام.
- تحدي النهج من الأسفل إلى الأعلى: صعوبة إنتاج كميات كافية من المواد النانوية ذات الحجم المناسب للتطبيقات العملية.

لذلك، ظهر النهج الهجين الذي يجمع بين المزايا الأساسية للطريقتين لتجاوز قيود كل منهما، مما يجعله الحل الأمثل في العديد من التطبيقات [74، 76]. على سبيل المثال، تُصنع أجهزة الأغشية الرقيقة (مثل المجسات المغناطيسية) عادةً بالنهج الهجين، حيث:

- يتم تكوين الغشاء الرقيق بالنهج من الأسفل إلى الأعلى (مثل الترسيب الكيميائي).
- يُنحت إلى دوائر استشعار بالنهج من الأعلى إلى الأسفل (مثل الطباعة الضوئية).

2.10. Interdisciplinarity of Nanoscience and Nanotechnology

Nanoscience and nanotechnology are highly interdisciplinary, encompassing aspects of physics, chemistry, biology, materials science and engineering, and medicine [77]. Due to their interdisciplinarity, nanoscience and nanotechnology have brought about cooperation between scientists and engineers with different backgrounds to share their expertise, instruments and techniques[76].

The evolutionary developments within different areas in the investigation of materials that are becoming smaller and smaller have contributed to the rapid progress in nanoscience and nanotechnology, and meanwhile nanoscience and nanotechnology benefit not only the electronics industry, but also the chemical and space industries, as well as medicine and health care. In the following subsections we concentrate on the roles of three disciplines in the research of nanoscience and nanotechnology: chemistry, physics and biology and medicine.

الخصائص الفيزيائية والكيميائية، والسمية الخلوية، والنشاط المضاد للميكروبات
لجسيمات نانوية من الزركونيا المكبرتة
Physicochemical Properties, Cytotoxicity, and Antimicrobial Activity
of Sulphated Zirconia Nanoparticles.

2.10 التكامل بين علوم وتقنيات النانو

تتميز علوم وتقنيات النانو بطابعها متعدد التخصصات، حيث تجمع بين الفيزياء، الكيمياء، الأحياء، علوم المواد، الهندسة، والطب [77]. أدى هذا التكامل إلى:

1. تعاون علمي واسع بين الباحثين والمهندسين من تخصصات مختلفة لتبادل الخبرات والأدوات والتقنيات. [76]

2. تطور سريع في مجال النانو بفضل التقدم في تصغير المواد عبر التخصصات المختلفة.

3. تطبيقات متنوعة تشمل:

- صناعة الإلكترونيات
- الصناعات الكيميائية والفضائية
- المجال الطبي والرعاية الصحية

في الأقسام التالية، سنركز على دور ثلاثة تخصصات رئيسية في أبحاث النانو:

1. الكيمياء (تصميم المواد النانوية وتركيبها)
2. الفيزياء (دراسة الخصائص الميكانيكية والإلكترونية)
3. علم الأحياء والطب (التطبيقات الحيوية والعلاجية)

يُظهر هذا التكامل كيف تُحدث تقنيات النانو ثورة في مجالات متعددة معاً.

2.10.1. Chemistry

Chemistry plays a leading role in nanotechnology, and in a sense, chemistry is the ultimate nanotechnology. The opportunities for chemistry to make important contributions to nanoscience abound, and three promising areas include synthesis of nanomaterials, molecular mechanisms in nanobiology, and risk assessment and evaluation of safety [78]. Chemistry is unique in the sophistication of its ability to synthesize new forms of matter. In making new forms of matter by joining atoms and groups of atoms together with bonds, chemistry contributes to the invention and development of materials whose properties depend on nanoscale structure. Meanwhile, chemistry makes unique contributions to the study of the molecular mechanisms of functional nanostructures in biology, such as the light-harvesting apparatus of plants, ATPases, the ribosome and the structures that package DNA, ultimately the cell. Furthermore, analyzing the risks of nanomaterials to health and the environment requires cooperation across various disciplines, including chemistry, physiology, molecular medicine and epidemiology.

2.10.1 الكيمياء

تلعب الكيمياء دوراً رئيسياً في تقنية النانو، ويمكن اعتبارها تقنية النانو المثالية. تبرز مساهمات الكيمياء في ثلاثة مجالات واعدة:

1. تصنيع المواد النانوية: تتميز الكيمياء بقدرتها الفريدة على تركيب مواد جديدة عبر ربط الذرات والجزيئات، مما يساهم في تطوير مواد ذات خصائص تعتمد على البنية النانوية.
2. دراسة الآليات الجزيئية في البيولوجيا النانوية: مثل آلية حصاد الضوء في النباتات، وإنزيمات ATP، والريبوسومات، وهياكل تغليف الحمض النووي.
3. تقييم مخاطر المواد النانوية: يتطلب هذا التعاون بين الكيمياء، الفسيولوجيا، الطب الجزيئي، وعلم الأوبئة لتحليل تأثيراتها على الصحة والبيئة.[78]

2.10.2. Physics

Compared with bulk materials, materials at the nanoscale exhibit quite different properties, and physics studies the underlying mechanisms of the changes of properties due to the size changes. Physicists are investigating the special mechanical, thermal, electrical and optical properties of various types of nanomaterials, such as quantum dots and hybrid thin films, and most of the researches involves quantum mechanics. Among various categories of nanomaterials, magnetic nanomaterials exhibit unique size dependence of magnetic properties in the nanoscale, and knowledge of these properties is essential for the design and modifications of magnetic nanomaterials and for the development their specific applications. The research on nanomagnetism, magnetism in nanomaterials, has been among the most challenging topic in nanoscience and nanotechnology[79].

2.10.2 الفيزياء

تختلف خصائص المواد النانوية جذرياً عن نظيرتها الضخمة، وتهتم الفيزياء بدراسة الآليات الكامنة وراء هذه التغيرات. يركز الفيزيائيون على:

- الخصائص الميكانيكية، الحرارية، الكهربائية، والبصرية للمواد النانوية مثل النقاط الكمية والأغشية الرقيقة الهجينة، باستخدام ميكانيكا الكم.
- المواد المغناطيسية النانوية: تظهر اعتماداً فريداً على الحجم في الخصائص المغناطيسية، مما يجعل أبحاث النانومغناطيسية من أكثر المجالات تحدياً في علوم وتقنيات النانو. [79]

2.10.3. Biology and Medicine

It is a main trend that biomedical and physical sciences share a common interest in nanomaterials, and the conventional borders of these areas are disappearing. The union of biologists and physicians with engineers and materials scientists is encouraging [80]. As few biologists and physicians know much about engineering and materials science, and even fewer engineers and materials scientists know much about medicine, the potential for such a union seems boundless.

Nanofabrication can provide analytical tools for investigating biomolecules as well as for exploring the interior structure and function of cells[81]. In return, biology is clearly having an equally significant impact on nanoscience and nanotechnology. Methods in biology can be used to make nanomaterials that are difficult or impossible to be fabricated by synthetic means [82]. Due to the evolution of billions of years, organisms of all types are equipped with numerous nanomachines, such as DNA that can be used for information-storage and chloroplasts that capture the solar energy [83, 84]. Researchers in the field of nanoscience and nanotechnology are seeking practical help from biology.

One of the most attractive features of biological systems is that an organism has the capability to produce extremely complex molecules, for example DNA and proteins, with atomic precision. The powerful biomachinery can further arrange different organisms into a complicated system. However, synthesized nanomaterials, for example carbon nanotubes and metal nanoparticles, do not have similarly efficient guiding mechanisms. Besides, it is very difficult to handle and manipulate nanomaterials using the traditional methods. Inspired by the discoveries in biology, researchers in the field of nanoscience and nanotechnology are trying to use the molecular toolbox in biology, for the synthesis of functional nanomaterials[83]. Researchers attempt to combine the capability of assembling complex structures in biology and the ability of developing functional devices in nanoscience and nanotechnology. Such a combination is helpful for the development of a variety of novel structures and devices [83]. Williams *et al.* (2002) [85] demonstrated the bioelectronics assembly, as shown in figure 2.1 .

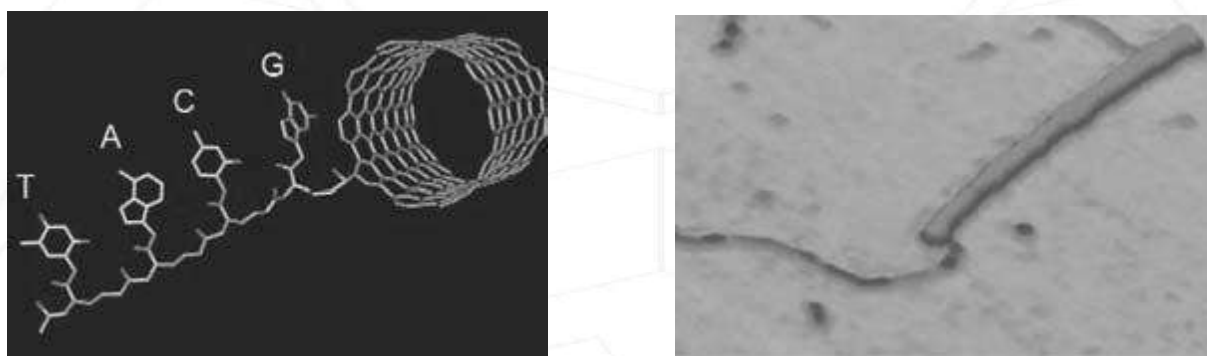


Figure 2.1 Bioelectronics assembly of a carbon nanotube. (a) Schematic drawing, and (b) micrograph.(Service 2002)

2.10.3 الأحياء والطب

يختلف الحد التقليدي بين العلوم الطبية الحيوية والفيزيائية مع تشاركهما الاهتمام بالمواد النانوية. يتجلى هذا التكامل في:

1. أدوات النانو للتحليل البيولوجي: تُستخدم تقنيات النانو لدراسة الجزيئات الحيوية وتركيب الخلايا

ووظائفها. [81]

2. الاستفادة من الأنظمة الحيوية: تستغل الأبحاث النانوية الآليات البيولوجية الدقيقة (مثل الحمض

النوي والبلاستيدات الخضراء) التي تطورت عبر مليارات السنين [83] ، [84].

3. التصنيع الدقيق: تُستخدم الأدوات الجزيئية في الأحياء (مثل الأحماض النووية الببتيدية (PNA) لتركيب

مواد نانوية وظيفية يصعب تصنيعها كيميائياً. [82]

مثال تطبيقي:

أظهرت دراسة لـ ويليامز وآخرون [85] (2002) كيفية تجميع أنابيب الكربون النانوية في أجهزة إلكترونية جزيئية باستخدام الحمض النووي الببتيدي (PNA) ، الذي يتميز بثبات أعلى من الحمض النووي DNA في الظروف القاسية (انظر الشكل 2.1).

In this example, the assembly of the carbon nanotubes into molecular-scale electronic devices is based on the selective binding capabilities of peptide nucleic acid (PNA). Similar to DNA, PNA consists of a series of nucleotide bases (A's, T's, G's and C's) that selectively bind to one another. However, in a PNA, the backbone of sugar and phosphate groups in DNA is substituted with more stable links based on peptides. Due to this substitution PNAs can endure higher temperatures and stronger solvents, often used in chemical and biological processing, than DNAs.

الخصائص الفيزيائية والكيميائية، والسمية الخلوية، والنشاط المضاد للميكروبات

لجسيمات نانوية من الزركونيا المكبرتة

Physicochemical Properties, Cytotoxicity, and Antimicrobial Activity
of Sulphated Zirconia Nanoparticles.

في هذا المثال، يتم تجميع أنابيب الكربون النانوية في أجهزة إلكترونية جزيئية باستخدام قدرات الربط الانتقائي لحمض الببتيد النووي (PNA). يشبه PNA الحمض النووي DNA في احتوائه على سلسلة من القواعد النيوكليوتيدية (A ، T ، G ، C) التي ترتبط ببعضها بشكل انتقائي.

لكن الفارق الرئيسي أن العمود الفقري لـ PNA يتكون من روابط ببتيدية بدلاً من مجموعات السكر والفوسفات الموجودة في DNA ، مما يجعله أكثر استقراراً. بفضل هذا التركيب الببتيدي، يتمتع PNA بمقاومة أعلى لدرجات الحرارة المرتفعة والمذيبات القوية المستخدمة في العمليات الكيميائية والبيولوجية مقارنة بـ DNA.

هذه الخصائص الفريدة لـ PNA تجعله أداة مثالية لتطبيقات النانو الإلكترونية التي تتطلب ثباتاً في الظروف القاسية، حيث يمكنه الحفاظ على سلامة التراكيب النانوية أثناء عمليات التصنيع المختلفة.

2.11. Status of Nanomedicine

Nanomedicine has developed in numerous directions, and it has been fully acknowledged that the capability of structuring materials at the molecular scale greatly benefits the research and practice of medicine. The investigation of fundamental problems regarding the biocompatibility of nanomaterials has been initiated both theoretically and experimentally. The complicated issues related to the future approval of nanomedical materials by the US Food and Drug Administration are extensively discussed. It seems that preparations are being made for our society to deploy nanomedicine for human betterment[86].

However, nanomedicine is a long-term expectation. Before nanomedicine can be used in clinics, fundamental mechanisms of nanomedicine should be fully investigated, and clinical trials and validation procedures should be strictly conducted. Though it is possible that some biological entities, such as proteins, DNA and other bio-polymers, could be directly used for biosensor applications, nevertheless some serious issues, such as biocompatibility and robustness, may hinder the progress of these efforts.

Though in many areas, such as disease diagnosis, targeted drug delivery and molecular imaging, clinical trials of some nanomedicine products are being made, the clinical applications of these techniques, which require rigorous testing and validation procedures, may not be realized in the near future[76]. At all events, it should be noted that although the applications of nanomaterials in biology and medicine are in an embryo stage, it is the great promise of nanomedicine that has inspired researchers to extensively investigate the interfaces between nanotechnology, biology and medicine [68].

2.11 حالة الطب النانوي الحالية

شهد الطب النانوي تطورات متعددة الاتجاهات، حيث أصبح من المؤكد أن القدرة على هندسة المواد على المستوى الجزيئي تحدث ثورة في البحث والممارسة الطبية. ومع ذلك، لا يزال هذا المجال في مراحله المبكرة، ويواجه تحديات كبيرة قبل أن يصبح جاهزاً للتطبيق السريري الواسع. الإنجازات والتحديات الحالية:

1. أبحاث التوافق الحيوي:

- بدأت الدراسات النظرية والعملية لفحص تفاعل المواد النانوية مع الأنظمة الحيوية.
- تُناقش بشكل مكثف متطلبات الموافقة التنظيمية (مثل إدارة الغذاء والدواء الأمريكية FDA) للمواد النانوية الطبية.

2. التطبيقات الواعدة تحت التطوير:

- تشخيص الأمراض عبر أجهزة الاستشعار الحيوية النانوية.
- أنظمة توصيل الأدوية المستهدفة.
- التصوير الجزيئي الدقيق.

3. عقبات رئيسية:

- قضايا السلامة: الحاجة إلى فهم أعمق لآليات عمل المواد النانوية في الجسم.
- المتانة والموثوقية: صعوبة استخدام الجزيئات الحيوية (مثل البروتينات والحمض النووي) مباشرة بسبب هشاشتها.
- إجراءات الاختبار: ضرورة إخضاع المنتجات لاختبارات سريرية صارمة قد تستغرق سنوات.

الخصائص الفيزيائية والكيميائية، والسمية الخلوية، والنشاط المضاد للميكروبات
لجسيمات نانوية من الزركونيا المكبرة

Physicochemical Properties, Cytotoxicity, and Antimicrobial Activity
of Sulphated Zirconia Nanoparticles.

النظرة المستقبلية:

- على الرغم من أن التطبيقات السريرية الواسعة قد لا تتحقق قريباً، إلا أن الأبحاث الحالية تُعد أساساً للاختراقات المستقبلية. [76]
- يُعتبر الدمج بين تقنية النانو والعلوم البيولوجية والطبية مجالاً واعداً يلهم العلماء لاستكشاف آفاق جديدة. [68]
- تُجرى حالياً تجارب سريرية محدودة في مجالات مثل الأجهزة التشخيصية النانوية، لكن التعميم على نطاق واسع يتطلب مزيداً من الوقت والضمانات. [86]

CHAPTER 3

METHODOLOGY

3.1. Materials

Ammonium sulphate, zirconium oxy nitrate and ammonium hydroxide (28 – 30 %) were obtained from Sigma – Aldrich (Malaysia). A trypsin/ethylenediaminetetracetic acid (EDTA) solution was purchased from Invitrogen (Carlsbad, CA, USA). Dimethylsulfoxide (DMSO), phosphate-buffered saline (PBS), 3-(4, 5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) and Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) were purchased from Sigma.

الفصل الثالث

المنهجية

3.1 المواد

تم الحصول على كبريتات الأمونيوم، نترات أوكسي الزركونيوم وهيدروكسيد الأمونيوم (28-30%) من سيجما-ألدريتش (ماليزيا). تم شراء محلول التربسين/إيثيلين دايمين تيترا أسيتك أسيد (EDTA) من إنفيتروجين (كارلسباد، كاليفورنيا، الولايات المتحدة). تم شراء ثنائي ميثيل سلفوكسيد (DMSO) ، محلول الفوسفات المخزن (PBS) ، بروميد 3-(4,5-ثنائي ميثيل ثيازول-2-آيل)-2,5-ثنائي فينيل تيترازوليوم (MTT) ووسط دليكو المعدل لنسر (DMEM) من سيجما.

3.2. Preparation

5 grams of hydrate zirconyloxy nitrate $ZrO(NO_3)_2$ were dissolved in about 100 ml of deionized water at a drop-wise addition of 2.63 grams of a 25% aqueous solution of ammonia which led to precipitation; as much of the ammonia solution was added as was necessary to reach a pH of ≈ 9 . The product was aged overnight, filtered under vacuum, washed several times and dried for about 24 h at 120 °C.

Ammonium sulphate was dissolved in about 50 ml of deionized water in amounts corresponding to the desired stoichiometry and the solution was added dropwise under vigorous stirring to form a zirconium oxyhydroxide solution and the mixture was left under vigorous stirring at room temperature for 4 hours. The mixture was dried at 120 °C overnight and calcined for 5hrs at 600 °C [87].

3.2 التحضير

تم إذابة 5 جرام من نترات أوكسي الزركونيوم المائية $ZrO(NO_3)_2$ في حوالي 100 مل من الماء منزوع الأيونات مع إضافة 2.63 جرام من محلول الأمونيا المائي (25%) قطرة قطرة مما أدى إلى الترسيب. تمت إضافة محلول الأمونيا حتى الوصول إلى $pH \approx 9$. تم ترك المنتج طوال الليل، ثم ترشيحه تحت تفريغ، وغسله عدة مرات وتجفيفه لمدة 24 ساعة عند 120°م.

تم إذابة كبريتات الأمونيوم في حوالي 50 مل من الماء منزوع الأيونات بكميات تتوافق مع التركيب المطلوب وتمت إضافة المحلول قطرة قطرة مع التحريك القوي إلى محلول هيدروكسيد أوكسي الزركونيوم وترك المزيج تحت التحريك القوي في درجة حرارة الغرفة لمدة 4 ساعات. تم تجفيف المزيج عند 120°م طوال الليل وتكلسه لمدة 5 ساعات عند 600°م. [87]

3.3. Physicochemical characterization of sulphated zirconia

The physicochemical characterization sulphated zirconia nanoparticles has been performed using Powder X-ray diffraction (XRD), Thermal Gravimetric Study (TGA), Fourier Transform Infrared spectrometer (FT-IR), Brunner-Emmett-Teller surface area measurement (BET), Scanning electron microscopy with Energy Dispersive Spectroscopy (SEM-EDS), Transmission Electron Microscope (TEM). The key information on these characterization techniques is depicted in Table 3.1.

3.3 التحليل الفيزيوكيميائي لزركونيا الكبريتات

تم إجراء التحليل الفيزيوكيميائي لجسيمات زركونيا الكبريتات النانوية باستخدام:

1. حيود الأشعة السينية للبودرة (XRD)
2. التحليل الحراري الوزني (TGA)
3. مطياف الأشعة تحت الحمراء بتحويل فورييه (FT-IR)
4. قياس مساحة السطح بطريقة بروناور-إيميت-تيلر (BET)
5. المجهر الإلكتروني الماسح مع مطياف تشتت الطاقة (SEM-EDS)
6. المجهر الإلكتروني النافذ (TEM)

الخصائص الفيزيائية والكيميائية، والسمية الخلوية، والنشاط المضاد للميكروبات
لجسيمات نانوية من الزركونيا المكبرتة

Physicochemical Properties, Cytotoxicity, and Antimicrobial Activity
of Sulphated Zirconia Nanoparticles.

Table 3.1 Summary of catalyst characterization techniques and product analysis instrumentations

<i>Technique</i>	<i>Goal</i>
Powder X-ray Diffraction (XRD)	To identify phases and crystalite size of the nanoparticle
Thermal gravimetric analysis (TGA)	To determine the thermal stability of the nanoparticle
Surface Area Analyzer (BET) Scanning Electron Microscopy with Energy Dispersive (SEM-EDS)	To measure specific surface area, average pore size and pore volume of the nanoparticle To determine the morphology and chemical composition of nanoparticle
Transmission Electron Microscopy (TEM)	To indicate the size and the dispersion of promoted metal oxide on the surface of the nanoparticle

جدول 3.1 ملخص لتقنيات تحفيز المواد وأجهزة تحليل المنتجات

الهدف	التقنية
تحديد الأطوار البلورية وحجم البلورات النانوية	(XRD) حيود الأشعة السينية للبودرة
تحديد الثبات الحراري للجسيمات النانوية	(TGA) التحليل الحراري الوزني
قياس مساحة السطح النوعية، متوسط حجم المسام وحجمها	(BET) مقياس مساحة السطح
تحديد المورفولوجيا والتركيب الكيميائي للجسيمات النانوية	المجهر الإلكتروني الماسح مع مطياف تشتت الطاقة (SEM-EDS)
تحديد حجم وتوزيع أكاسيد الفلزات المحفزة على سطح الجسيمات النانوية	(TEM) المجهر الإلكتروني النافذ

3.3.1 Powder X-ray Diffraction

X-ray diffraction is widely used helpful investigative method for inspection and computable analysis of the many phases of compounds existent in powder. Analysis is achieved via matching diffractogram got for unidentified samples by a universally recognized databank covering well known pattern, containing beyond 70000 patterns. Recent workstation skilful diffractometer schemes utilize programmed procedures to determine, save and deduce the distinctive patterns made by specific components for greatly composite mixtures.

The X-rays are diffracted by the crystals. This diffraction represents the interfering among X-ray spread with the electrons in many particles at diverse positions inside the crystal lattice. The deflected ray is redirected from a level entering via the crystal matrix in a way like mirrors.

Study of X-ray diffraction has been performed employing X-ray machine (model XRD 6000- Shimadzu). The generation of patterns of the crystalline materials is achieved via using Cu-K α emission produce through Philips glass X-ray tube extensively centre operated at 40 mA and 2.7 kW category at room temperature. While the X' Pert high Score Plus software was used to study the generated diffractogram. The catalyst sample was grinded into a fine powder and then mounted on the sample holder with the aid of a glass slid. Scanning was then carried out at $2\theta = 10^\circ - 80^\circ$ with resolution of 0.02° at scanning speed of $2^\circ/\text{min}$. Within the scanning procedure, the catalyst sample being studied was irradiated with X-ray at wavelength (λ). Once the wavelength (λ) and the angle of incidence (θ) are identified, the Bragg law (3.5) can be applied to find out the dspacing value (inter-planar distance) of the sample [88].

الخصائص الفيزيائية والكيميائية، والسمية الخلوية، والنشاط المضاد للميكروبات

لجسيمات نانوية من الزركونيا المكبرة

Physicochemical Properties, Cytotoxicity, and Antimicrobial Activity
of Sulphated Zirconia Nanoparticles.

3.3.1 حيود الأشعة السينية للبودرة

يُعتبر حيود الأشعة السينية طريقة تحليلية مفيدة على نطاق واسع لفحص وتحليل المراحل المختلفة للمركبات الموجودة في المساحيق. يتم التحليل عن طريق مطابقة أنماط الحيود التي تم الحصول عليها للعينات المجهولة مع قاعدة بيانات معترف بها عالمياً تحتوي على أكثر من 70,000 نمط معروف. تستخدم أحدث أنظمة جهاز الحيود الإشعاعي إجراءات مبرمجة لتحديد وحفظ واستنتاج الأنماط المميزة التي تصنعها مكونات محددة في الخلائط المعقدة.

عندما تصطدم الأشعة السينية بالبلورات، فإنها تنحرف بسبب التداخل بين الأشعة السينية المنتشرة والإلكترونات الموجودة في مواقع مختلفة داخل الشبكة البلورية. يتم إعادة توجيه الأشعة المنحرفة من مستوى الدخول عبر المصفوفة البلورية بطريقة تشبه الانعكاس على المرايا.

أجريت دراسة حيود الأشعة السينية باستخدام جهاز) موديل (XRD 6000-Shimadzu تم توليد أنماط المواد البلورية باستخدام إشعاع Cu-K α الناتج من أنبوب الأشعة السينية زجاجي فيليبس الذي يعمل عند 40 مللي أمبير و2.7 كيلو واط في درجة حرارة الغرفة. بينما تم استخدام برنامج X'Pert High Score Plus لدراسة أنماط الحيود الناتجة.

لتحضير العينة:

1. تم طحن عينة المحفز إلى مسحوق ناعم
2. تم تثبيتها على حامل العينات باستخدام شريحة زجاجية
3. تم إجراء المسح عند زوايا $2\theta = 10^\circ - 80^\circ$ بدقة 0.02° وبسرعة مسح $2^\circ/\text{دقيقة}$

أثناء عملية المسح، تم تعريض عينة المحفز للأشعة السينية عند طول موجي (λ) معين. بمجرد تحديد الطول الموجي (λ) وزاوية السقوط (θ)، يمكن تطبيق قانون براج (المعادلة 3.5) لحساب قيمة المسافة بين المستويات البلورية (d-spacing) للعينة. [88]

$n\lambda = 2 d \sin \theta$ (3.1) Where n = the order of reflection (integer).

The size T of the crystal was evaluated via the Debye-Scherrer's equation

$$T = G \lambda / (C \cos \theta) \quad (3.2)$$

Where

T = size of the crystallite

G = Scherrer's constant which to some degree depends on the shape of the peak

λ = wavelength of the X-ray

C = complete distance across at half of the maximum highest peak (FWHM)

θ = angle of Bragg's (degree)

معادلة حيود الأشعة السينية:

قانون براج:

$$n\lambda = 2d \sin \theta \quad (3.1)$$

حيث:

- n = رتبة الانعكاس (عدد صحيح)
- λ = الطول الموجي للأشعة السينية
- d = المسافة بين المستويات البلورية
- θ = زاوية براج (بالدرجات)

معادلة ديبي-شيرر لحجم البلورات:

$$T = G\lambda / (C \cos \theta) \quad (3.2)$$

حيث:

- T = حجم البلورة
- G = ثابت شيرر (يعتمد على شكل القمة الحيودية)
- C = عرض القمة عند نصف أقصى ارتفاع (FWHM)

3.3.2 Thermogravimetry Study of Catalysts

The thermogravimetric study was performed to verify the thermal strength of the catalyst through checking the weight loss of the catalyst per increase in rate of heating. This analysis has been performed for studying the weight loss of the catalyst during the heating events.

The instrument composed of a pan and a balance with a highest precision. The study catalyst is placed in the pan which located in a very sensitive electrical oven. The investigation is done via elevating the rate of heating progressively; finally the graph has come out as mass loss of the catalyst as function of the rate of heating.

The thermogravimetric study has been done using a Mettler Toledo TG-SDTA apparatus (Pt crucibles, Pt/Pt– Rh thermocouple) utilizing N₂ gas as flushing out gas with the rate of heating 10 °C min⁻¹, flow rate of 30 ml min⁻¹ and from room temperature to the required temperature.

3.3.2 دراسة التحليل الحراري الوزني للمحفزات

أجريت الدراسة الحرارية الوزنية لتقييم الثبات الحراري للمحفز من خلال متابعة فقدان الوزن مع زيادة معدل التسخين. تم إجراء هذا التحليل لدراسة فقدان وزن المحفز أثناء عمليات التسخين. يتكون الجهاز من وعاء عينة وميزان عالي الدقة وفرن كهربائي حساس. توضع عينة المحفز في الوعاء داخل الفرن الكهربائي. يتم رفع درجة الحرارة تدريجياً وتسجيل فقدان الكتلة كدالة لدرجة الحرارة. أجريت الدراسة باستخدام جهاز Mettler Toledo TG-SDTA باستخدام بوتقة بلاتين ومزدوجة حرارية Pt/Pt-Rh. استخدم غاز النيتروجين كغاز تنظيف بمعدل تدفق 30 مل/دقيقة ومعدل تسخين 10 °م/دقيقة من درجة حرارة الغرفة إلى الدرجة المطلوبة.

3.3.3 BET Analysis

Thermo scientific surfer instrument has been used to measure the catalyst surface area, average pore size and pore volume. The surface area according to BET is one of the most significant parameters revealed the activity of a heterogeneous catalyst. A catalyst with large surface area would show a fairly good catalytic performance owing to improved uniformity distributing active centres where the effect takes place. This is similarly with the supported catalysts where support material usually offers a large surface area for more active species to anchor. The Brunauer-Emmett-Teller (BET) procedure is the most commonly employed method for evaluating heterogeneous solid catalysts specific surface area, while nitrogen is the normally used adsorbate gas since it displays intermediate BET constant values preventing any confined adsorption.

3.3.3 تحليل BET

استخدم جهاز Thermo Scientific Surfer لقياس مساحة سطح المحفز، متوسط حجم المسام وحجم المسام. تعد مساحة السطح حسب طريقة BET من أهم المعايير التي تحدد نشاط المحفز غير المتجانس. المحفزات ذات المساحة السطحية الكبيرة تظهر أداءً تحفيزياً جيداً بسبب التوزيع المنتظم للمراكز النشطة. في المحفزات المدعمة، توفر المادة الحاملة مساحة سطح كبيرة لترسيب المكونات النشطة. طريقة Brunauer-Emmett-Teller (BET) هي الطريقة الأكثر استخداماً لقياس المساحة السطحية للمحفزات الصلبة غير المتجانسة. يستخدم النيتروجين كغاز مدمص لأنه يمتلك قيم ثوابت BET متوسطة ويمنع حدوث امتزاز محصور غير مرغوب فيه.

BET method includes utilization of equation (3–7):

$$1 / (w_{adg} ((P_1/P_2)-1)) = (1/ w_{bate. A_{bet}}) + [(A_{bet} -1) / (w_{bate. A_{bet}})] \times (P_2/P_1) \quad (3.3)$$

Wherever

w_{adg} = weight of gas adsorbed at a relative pressure P_2/P_1

w_{bate} = weight of adsorbate forming a surface exposure of monolayer.

A_{bet} = constant of BET that correlated with adsorption energy a sign for the amount of interaction between gas and solid.

BET analysis is performed by using the nitrogen adsorption-desorption technique on the surface of the catalyst at liquid nitrogen temperature of -196°C and relative pressures (P_0/P) ranging from 0.04-0.4 where a linear relationship was retained. Prior to nitrogen adsorption, an appropriate weight of the catalyst sample most commonly around $0.333 \pm 0.05\text{g}$ was degassed at temperature depends on the nature of the catalyst samples for eight hours. A multipoint BET technique is applied for all studied catalyst. This needed a minimum of three points in the suitable comparative pressure range. A linear plot of $(1/ w_{adg} ((P_1/P_2)-1))$ on y axis, against relative pressure (P_1/P_2) at x axis, gives up a slope and intercept that is employed to determine the weight of monolayer adsorbate w_{bate} .

تستخدم طريقة BET المعادلة التالية: (3-7)

$$\frac{1}{w_{ads} \left(\frac{P_1}{P_2} - 1 \right)} = \frac{(1/w_{mono} C)}{(P_2/P_1)} + \frac{[(C-1)/(w_{mono} C)]}{(3.3)}$$

حيث:

w_{ads} = وزن الغاز الممتز عند الضغط النسبي P_2/P_1
 w_{mono} = وزن المادة الممتزة لتشكيل طبقة أحادية
 C = ثابت BET المرتبط بطاقة الامتزاز

يتم التحليل باستخدام تقنية امتزاز/إزالة النيتروجين على سطح المحفز عند:

- درجة حرارة النيتروجين السائل (-196°م)
- ضغط نسبي (P_0/P) بين 0.04-0.4 حيث تبقى العلاقة خطية قبل الامتزاز:

- يتم إزالة الغازات من عينة المحفز (وزنها ~0.333±0.05 جرام)
- عند درجة حرارة تعتمد على طبيعة العينة
- لمدة 8 ساعات

تطبق طريقة BET متعددة النقاط على جميع المحفزات المدروسة، وتتطلب:

- 3 نقاط كحد أدنى في نطاق الضغط المناسب
- رسم بياني لـ $1/[w_{ads}((P_1/P_2)-1)]$ /محور (مقابل) P_2/P_1 محور (x)
- يتم تحديد w_{mono} من الميل ونقطة التقاطع

$$\text{Slope} = \text{Abet} - 1/ (\text{wbate. Abet}) \quad (3.4)$$

$$\text{Intercept} = 1/ (\text{wbate. Abet}) \quad (3.5)$$

$$\text{wbate} = 1/ (\text{intercept} + \text{slope}) \quad (3.6)$$

The total surface area SBET of the catalyst should be given by the following:

$$\text{SBET} = \text{wbate} N_{\text{Avo}} \text{AnitCS} / \text{Mwt} \quad (3.7)$$

N_{Avo} = number of Avogadro

Mwt = N_2 gas molecular weight

AnitCS = N_2 gas cross-sectional area

Therefore SSBET has been measured by dividing SBET on the sample weight (cat) grams.

$$\text{SSBET} = \text{SBET} / (\text{cat}) \text{ grams} \quad (3.8)$$

In addition, the porosity of the prepared catalysts was illustrated thus finding out the total volume

and an average diameter of the pore respectively. Similar to SSBET, a big diameter and volume of

pore are favourable as the promoted catalyst shows fairly better catalytic activity. By guessing that

the pores are filled with liquid adsorbate the total volume of the pores should be generated after

quantity of V_{ads} at $(P_1/P_2) \sim \text{equal } 1$. Hence, the total pore volume of catalyst is equal to that of

liquid nitrogen enclosed in the pores:

$$V_{\text{Total}} = V_{\text{liq}} = (P_{\text{a}} V_{\text{mvol}} V_{\text{ads}}) / RT \quad (3.9)$$

Where V_{liq} & V_{ads} are volumes of liquid and adsorbed nitrogen respectively,

V_{mvol} = liquid nitrogen molar volume By supposing cylindrical pore geometry the average pore diameter (D_{ave}) was calculated by the

following equation (3-14):

$$D_{ave} = V_{Total} / S_{BET} \quad (3.10)$$

$$= (C - 1) / (w_{mono} C) \quad (3.4) \text{ الميل}$$

$$/ (w_{mono} C) \quad (3.5) 1 = \text{نقطة التقاطع}$$

$$w_{mono} = 1 / (\text{نقطة التقاطع} + \text{الميل}) \quad (3.6)$$

يتم حساب المساحة السطحية الكلية S_{BET} للمحفز باستخدام المعادلة:

$$S_{BET} = \frac{(w_{mono} N_A A_{N_2}) / M_{N_2}}{(3.7)}$$

حيث:

$$N_A = \text{عدد أفوجادرو}$$

$$M_{N_2} = \text{الوزن الجزيئي لغاز النيتروجين}$$

$$A_{N_2} = \text{المساحة المقطعية لجزيء النيتروجين}$$

يتم حساب المساحة السطحية النوعية SS_{BET} بقسمة S_{BET} على وزن العينة (بالجرام):

$$SS_{BET} = S_{BET} / \text{وزن العينة} \quad (3.8)$$

الخصائص الفيزيائية والكيميائية، والسمية الخلوية، والنشاط المضاد للميكروبات
لجسيمات نانوية من الزركونيا المكبرتة

Physicochemical Properties, Cytotoxicity, and Antimicrobial Activity
of Sulphated Zirconia Nanoparticles.

أما مسامية المحفزات المحضرة فتم تحديدها بحساب الحجم الكلي للمسام ومتوسط قطرها. وكما هو الحال مع SS_{BET} ، فإن المسام الكبيرة والحجم الكلي للمسام مرغوبان حيث تظهر المحفزات المعززة نشاطاً تحفيزياً أفضل.

بافتراض امتلاء المسام بالمادة الممتازة السائلة، يتم حساب الحجم الكلي للمسام من كمية

$$V_{ads} \text{ عند } (P_1/P_2) \approx 1$$

$$V_{Total} = V_{liq} =$$

$$(P_a V_m V_{ads})/RT \quad (3.9)$$

حيث:

$$V_{ads} = V_{liq} \text{ و } V_{ads} \text{ حجوم النيتروجين السائل والممتز على التوالي}$$

$$V_m = \text{الحجم المولي للنيتروجين السائل}$$

وبافتراض شكل أسطواني للمسام، يتم حساب متوسط قطر المسام D_{ave} بالمعادلة:

$$D_{ave} = 4V_{Total}/S_{BET} \quad (3.10)$$

3.3.4 Scanning Electron Microscopy with Energy Dispersive (SEM-EDS)

Scanning electron microscopy with energy dispersive X-ray spectroscopy (SEM-EDS) was used to obtain information about the morphology and chemical composition of the samples. The morphology study of the nanoparticles was carried out using a JEOL scanning electron microscope model JSM-6400, while the quantitative chemical composition of the prepared Ferric- manganese promoted sulphated zirconia acid catalyst was characterized using energy dispersive X-ray spectroscopy (EDS) for elemental chemical analysis.

3.3.4 الفحص المجهرى الإلكتروني الماسح مع مطياف تشتت الطاقة (SEM-EDS)

تم استخدام الفحص المجهرى الإلكتروني الماسح مع مطياف تشتت الأشعة السينية (SEM-EDS) للحصول على معلومات حول مورفولوجيا وتركيب العينات الكيميائي. تمت دراسة مورفولوجيا الجسيمات النانوية باستخدام مجهر إلكتروني ماسح من طراز JEOL موديل JSM-6400. بينما تم تحديد التركيب الكيميائي الكمي لمحفز حامض زركونيا الكبريتيك المدعم بالحديد والمنغيز باستخدام مطياف تشتت الأشعة السينية (EDS) لتحليل العناصر الكيميائية.

3.3.5 Transmission Electron Microscopy

It plays critical role in indicating the size and the dispersion of promoted metal oxide on the surface of supported metal materials. The inner structure of heterogeneous catalysts and their fine structure and ultra-structural feature are capable to be investigated by transmission electron microscopy (TEM) that offers to this system a wide use to the area of nanoparticles heterogeneous catalysts. Nonetheless, images development is very comparable to that in an optical microscope, but it employs electrons as an alternative of light. An electron gun at the apex of the microscope releases the electrons that pass through vacuum in the tube of the microscope. The speeding up voltage is usually 100-200 kV even though advanced voltages also exist in some saleable microscopes. A system of condenser lenses demagnifies the ray produced by the gun and manages its size as it strikes the sample. The sample would be very thin to convey the electron beam. The object lenses generate a transitional magnified image that is enlarged by the following projector lenses on a fluorescent monitor. Finally the image can be photographed with camera and saved in computer.

TEM analysis was carried out in a (Hitachi H-7100, Japan) microscope operated at 80-200 kV. The catalyst sample was homogeneously dispersed in deionized water by using ultrasonic bath dropped onto copper grids placed on a filter paper and dried at room temperature.

الخصائص الفيزيائية والكيميائية، والسمية الخلوية، والنشاط المضاد للميكروبات

لجسيمات نانوية من الزركونيا المكبرة

Physicochemical Properties, Cytotoxicity, and Antimicrobial Activity
of Sulphated Zirconia Nanoparticles.

3.3.5 الفحص المجهر الإلكتروني النافذ (TEM)

يلعب هذا الفحص دوراً حاسماً في تحديد حجم وتوزيع أكاسيد الفلزات المحفزة على سطح المواد المعدنية المدعمة. يمكن التحقق من البنية الداخلية للمحفزات غير المتجانسة ودراسة خصائصها الدقيقة والتركيبية الدقيقة باستخدام الفحص المجهر الإلكتروني النافذ (TEM) ، والذي يوفر استخداماً واسعاً في مجال محفزات الجسيمات النانوية غير المتجانسة.

تعمل آلية تكوين الصور بشكل مشابه للمجهر الضوئي، ولكن باستخدام الإلكترونات بدلاً من الضوء. حيث تقوم مدفع إلكتروني في قمة المجهر بإطلاق إلكترونات تمر عبر فراغ في أنبوب المجهر. عادةً ما يكون جهد التسريع 100-200 كيلو فولت، على الرغم من وجود جهد أعلى في بعض المجاهر التجارية. يقوم نظام العدسات المكثفة بتصغير الشعاع المنتج من المدفع وضبط حجمه عند اصطدامه بالعينة.

يجب أن تكون العينة رقيقة جداً لتمرير حزمة الإلكترونات. تقوم عدسات الهدف بإنشاء صورة مكبرة وسيطة يتم تكبيرها لاحقاً بواسطة عدسات الإسقاط على شاشة فلورية. أخيراً، يمكن تصوير الصورة بواسطة كاميرا وحفظها في الكمبيوتر.

تم إجراء تحليل TEM باستخدام مجهر هيتاشي H-7100 ، اليابان (يعمل بجهد 80-200 كيلو فولت). تم تشتيت عينة المحفز بشكل متجانس في الماء منزوع الأيونات باستخدام حمام فوق صوتي، ثم وضعت على شبكات نحاسية موضوعة على ورق ترشيح وجففت في درجة حرارة الغرفة.

3.3.6 Fourier Transform Infrared Spectroscopy

One of the major applications of this technique is to identify the unknown materials or their classification as their chemical composition. A spectrum of a substance is its fingerprint.

Sometimes it is not possible to classify a substance from its spectrum, but the existence or lack of certain groups can be interrelated with the existence or lack of absorption at specific wavelengths.

IR spectroscopy is defined as radiation between two vibration states, whose wavelength (λ) is in the range 30 to 3μ ($1\mu=10^{-3}$) of the electromagnetic spectrum and the energy differences are in the range between 1-10 kcal/mol. The IR spectra typically display as a plot of absorption (% of transmission) as a function of wavelength (cm^{-1})

FTIR spectroscopy is known as an interferometric technique. It is measurement method whereby spectra are assembled depend on determination of the temporal consistency of an irradiative supply via time-domain measurements of the electromagnetic radiation. The PerkinElmer spectrometer (model 100 series) instrument using a window of KBr has been employed to identify the functional group of unknown samples. The spectra were recorded directly at room temperature.

الخصائص الفيزيائية والكيميائية، والسمية الخلوية، والنشاط المضاد للميكروبات

لجسيمات نانوية من الزركونيا المكبرة

Physicochemical Properties, Cytotoxicity, and Antimicrobial Activity
of Sulphated Zirconia Nanoparticles.

3.3.6 مطياف الأشعة تحت الحمراء بتحويل فورييه

تتمثل إحدى التطبيقات الرئيسية لهذه التقنية في تحديد المواد المجهولة أو تصنيفها حسب تركيبها الكيميائي. يعتبر طيف المادة بمثابة بصمة لها. في بعض الأحيان لا يمكن تصنيف المادة من خلال طيفها، لكن وجود أو غياب مجموعات معينة يمكن ربطه بوجود أو غياب الامتصاص عند أطوال موجية محددة.

تعرف مطيافية الأشعة تحت الحمراء بأنها الإشعاع بين حالي اهتزاز، حيث يتراوح الطول الموجي (λ) بين 30 إلى 3 ميكرون (1 ميكرون = 10-3) من الطيف الكهرومغناطيسي وتتراوح فروق الطاقة بين 10-1 كيلو كالوري/مول. تعرض أطياف الأشعة تحت الحمراء عادةً كرسم بياني للامتصاص (نسبة النفاذية) كدالة للطول الموجي (سم-1).

تعتبر مطيافية FTIR تقنية تداخلية. وهي طريقة قياس يتم فيها تجميع الأطياف بناءً على تحديد الاتساق الزمني لمصدر إشعاعي عبر قياسات المجال الزمني للإشعاع الكهرومغناطيسي. تم استخدام جهاز مطياف (PerkinElmer موديل 100 series) بنوافذ من KBr لتحديد المجموعات الوظيفية للعينات المجهولة. تم تسجيل الأطياف مباشرة عند درجة حرارة الغرفة.

3.4. Cancer Cell Culture

Four human cell lines were obtained from ATCC. The cell lines comprise human breast cancer (MCF7), human colon cancer (HT29), human liver cancer (HepG2), and normal human breast (MCF10a) cells, which are characterized as virus-negative. They grow as an adherent monolayer of tightly knit epithelial cells. These cells were grown in Dulbecco's modified Eagle's medium, which was supplemented with 10% fetal bovine serum. The media contained penicillin (100 U/mL) and streptomycin (100 g/mL). The cells were grown at 37°C in a humidified 5% CO₂ incubator.

3.5. Anti-Cancer Cytotoxicity MTT Assay

HT29, MCF7, MCF10 and HepG2 cells lines were plated at 2×10^3 cells/well by adding 200 μ L of a 1×10^4 cells/mL suspension to each well of a 96-well tissue culture plate. The plates were incubated for sufficient time to ensure attachment at 30% to 40% confluency. The media was aspirated off and replaced with fresh media (200 μ L) containing sulphated zirconia nanoparticles of different concentrations (3.9 to 250 μ g/mL) and chemotherapeutic agents at 0.156 to 10.0 μ g/mL (oxaliplatin for HT29 cells, doxorubicin for both MCF7 and MCF10a cells, and tamoxifen for HepG2 cells). The last row was left as an untreated control. The plates were incubated at 37°C, 5% CO₂, for 24 hours. After incubation with the compounds, the media was aspirated off and the cells were washed by PBS buffer three times to ensure that all drugs were removed, and then replaced with a fresh media. MTT solution (20 μ L) in a total volume of 200 μ L was added to every well and mixed gently with the media, which was later incubated for 4 to 6 hours at 37°C with 5% CO₂. The MTT-containing medium was then removed carefully and replaced with DMSO (200 μ L per well) to dissolve the formazin crystals. The plates were read in a microtiter plate reader at 570 nm. The concentration of drug needed to inhibit cell growth by 50% (IC₅₀) was generated from the dose-response curves for each compound and each cell line.

3.4 زراعة خلايا السرطان

تم الحصول على أربعة خطوط خلوية بشرية من ATCC تشمل:

- خلايا سرطان الثدي البشري (MCF7)
- خلايا سرطان القولون البشري (HT29)
- خلايا سرطان الكبد البشري (HepG2)
- خلايا الثدي البشرية الطبيعية (MCF10a)

تمت زراعة الخلايا في وسط **Dulbecco's المعدل Eagle مكمل بـ:**

- 10% مصّل بقرى جنينى
 - بنسلين (100 وحدة/مل)
 - ستربتومايسين (100 ميكروغرام/مل)
- تم تحضين الخلايا عند 37°م في حاضنة رطبة تحتوي على 5.5% CO₂

3.5 اختبار السمية الخلوية المضادة للسرطان (MTT)

إجراءات الاختبار:

1. تم زرع خطوط الخلايا بكثافة 2×10^3 خلية/بئر في ألواح 96 بئر.
 2. بعد التصاق الخلايا ووصولها لـ 30-40% التحام:
- تم استبدال الوسط بوسط جديد (200 ميكرو لتر) يحتوي على:
 - جسيمات زركونيا الكبريتات النانوية (3.9-250 ميكروغرام/مل)
 - عوامل كيميائية علاجية (0.156-10 ميكروغرام/مل):
 - أوكساليلاتين لخلايا HT29
 - دوكسوروبيسين لخلايا MCF7 و MCF10a
 - تاموكسيفين لخلايا HepG2

3. حضنت الألواح عند 37°م، 5 CO2 % لمدة 24 ساعة.

4. بعد الحضانة:

• غسلت الخلايا بمنظم PBS ثلاث مرات

• أضيف محلول (20 MTT ميكرو لتر/بئر)

• حضنت 4-6 ساعات إضافية

5. استبدل الوسط بـ DMSO (200 ميكرو لتر/بئر) لإذابة بلورات الفورمازان.

6. قيس الامتصاص عند 570 نانومتر.

7. حسب تركيز IC50 من منحنيات الجرعة-الاستجابة.

3.6. In Vitro Anti-Microbial Susceptibility Test

Four bacterial strains were used to determine the anti-bacterial activity for the synthesized sulphated zirconia nanoparticles; two Gram-positive (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and *Bacillus subtilis* (BA)) and two Gram-negative bacterial species (*Salmonella choleraesuis* (SA) and *Pseudomonas aeruginosa* (PA)). In addition, *Candida albicans* (CA) was used to screen the antifungal activity of the nanoparticles. The microorganisms were obtained from the microbial culture collection unit (UNiCC) at the Institute of Bioscience, Universiti Putra Malaysia. The bacterial cultures were maintained on Mueller Hinton agar slants (Sigma, MO, USA). The bacterial cultures were incubated overnight in 5 mL of Mueller Hinton broth (Sigma, MO, USA) in a Certomat BS-T incubation shaker (Sartorius Stedim Biotech, Aubagne, France) at 37°C and 150 rpm until the culture reached an OD600 of 1.0 (Spekol UV VIS 3.02, Analytic Jena, Jena, Germany), which corresponds to 10⁸ CFU.mL⁻¹.

الخصائص الفيزيائية والكيميائية، والسمية الخلوية، والنشاط المضاد للميكروبات

لجسيمات نانوية من الزركونيا المكبرة

Physicochemical Properties, Cytotoxicity, and Antimicrobial Activity
of Sulphated Zirconia Nanoparticles.

3.6 اختبار الحساسية المضادة للميكروبات في المختبر

استخدمت أربع سلالات بكتيرية لتقييم النشاط المضاد للبكتيريا لجسيمات زركونيا الكبريتات النانوية المحضرة:

• جراثيم إيجابية الغرام: المكورات العنقودية الذهبية المقاومة للميثيسيلين (MRSA) والعصوية الرقيقة (BA)

• جراثيم سلبية الغرام: السالمونيلا كوليرا (SA) والزائفة الزنجارية (PA)

كما استخدمت المبيضة البيضاء (CA) لفحص النشاط المضاد للفطريات. حصلت الكائنات الدقيقة من وحدة جمع الميكروبات (UNiCC) في معهد العلوم الحيوية، جامعة بترا ماليزيا.

حفظت المزارع البكتيرية على شرائح آجار مولر هينتون (Sigma, MO, USA). حضنت المزارع البكتيرية طوال الليل في 5 مل من مرق مولر هينتون (Sigma, MO, USA) في هزاز Certomat BS-T (Sartorius Stedim Biotech, فرنسا) عند 37°C و 150 دورة/دقيقة حتى وصول الثقافة إلى OD600 من 0.5 (Spekol UV VIS 3.021.0 ، Analytic Jena ، ألمانيا) ما يعادل 108 وحدة تشكيل مستعمرة/مل.

3.7. The Anti-Microbial Activities of the Prepared Sulphated Zirconia Nanoparticles

The anti-microbial activities of the synthesized sulphated zirconia nanoparticles were evaluated against the above-mentioned microorganisms using the agar diffusion (cup diffusion) method according to the guidelines of the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). In brief, 20 ml of liquid-autoclaved Muller Hinton agar (pH 7.3±0.2 at 25°C) was poured onto the disposable sterilized Petri dishes and solidified. The solidified agar plate surfaces were dried in an incubator prior to streaking of the microorganisms onto the surface of the agar plate. Next, 100 µl of the microbial suspensions in the Mueller Hinton broth was streaked over the dried surface of the agar plates and spread uniformly using a sterilized glass rod; the plates were then dried.

الخصائص الفيزيائية والكيميائية، والسمية الخلوية، والنشاط المضاد للميكروبات
لجسيمات نانوية من الزركونيا المكبرتة
Physicochemical Properties, Cytotoxicity, and Antimicrobial Activity
of Sulphated Zirconia Nanoparticles.

Wells were then created in the agar plates using a sterilized cork borer, and the wells were filled with the nanoparticle suspensions in distilled water and the control wells were filled with ampicillin (for Gram negative bacteria), streptomycin (for Gram positive bacteria) and nystatin (for *Candida albican*) solutions as controls. The experiment was performed in triplicate, and the diameters of the zone of inhibition were measured to the nearest millimeter using a caliper after a 24-hour incubation at 37°C. Different between means were determined using standard ANOVA followed by student t-tests.

3.7 النشاط المضاد للميكروبات للجسيمات النانوية المحضرة

قيم النشاط المضاد للميكروبات باستخدام طريقة انتشار الآجار (طريقة الكوب) حسب إرشادات المعهد السريري والمختبري القياسي (CLSI).

صب 20 مل من آجار مولر هينتون المعقم سائلاً (pH 7.3±0.2) عند 25°C (في أطباق بتري المعقمة وتركه ليتصلب. جففت أسطح الآجار في الحاضنة قبل الزرع. زرعت 100 ميكرو لتر من المعلق الميكروبي في مرق مولر هينتون على سطح الآجار ووزعت باستخدام قضيب زجاجي معقم ثم جففت الأطباق. نفذت الآبار في آجار باستخدام مثقاب فلين معقم وملئت ب:

- معلق الجسيمات النانوية في الماء المقطر
- الضوابط:

- أمبيسيلين (البكتيريا سلبية الغرام)
- ستربتومايسين (البكتيريا إيجابية الغرام)
- نيساتين (المبيضة البيضاء)

نفذت التجربة بثلاث مكررات. قيس أقطار مناطق التثبيط بالمليمتر بعد 24 ساعة تحضين عند 37°C. حددت الفروق بين المتوسطات باستخدام ANOVA متبوعاً باختبارات t للطالب.

CHAPTER 4

4.1 Results and Discussion

4.1.1 Thermogravimetric Analysis

Figure 1 shows the thermo gravimetric curve of sulphated zirconia (SZ) and the mass losses found from TGA measurements agree fairly well with those expected for the decomposition of hydrated sulphated zirconia [89]. Therefore, the heating events for this sample below 620°C are attributed to the removal of adsorbed water and the dehydroxylation process of $\text{ZrO}(\text{OH})_2$, while the second major weight loss at higher temperature began at about 673°C and ended at 926°C is referred to as the decomposition of sulphate groups [90]

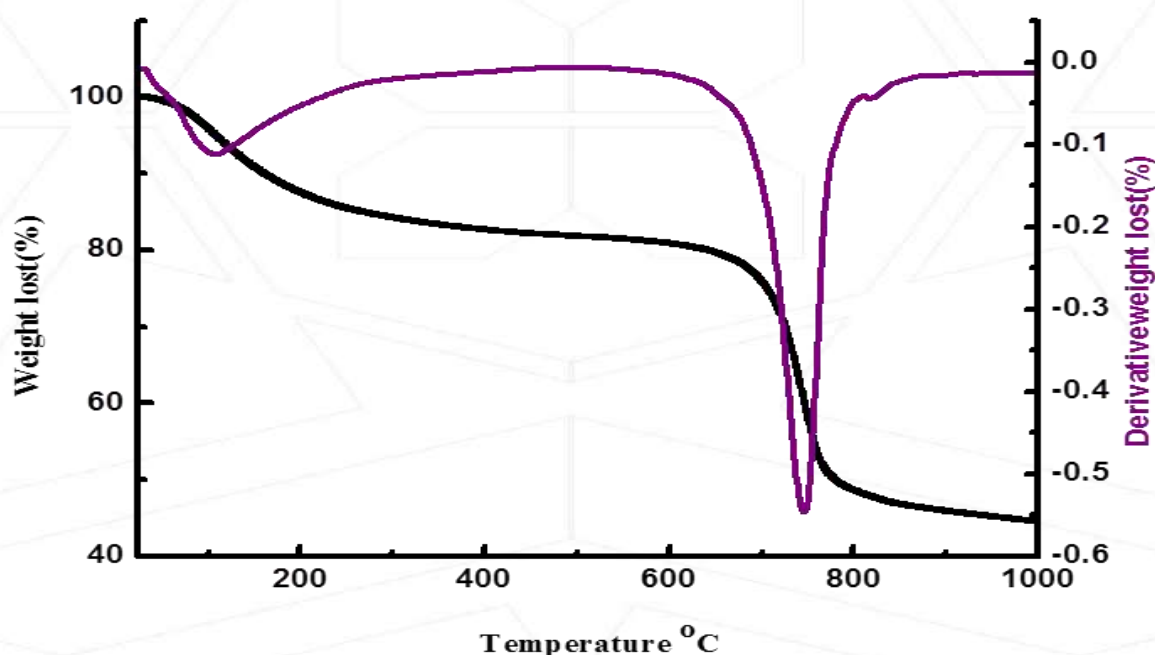


Figure 1: thermo gravimetric curve of SZ calcined at 600 °C for 3 hours.

الفصل الرابع

4.1 النتائج والمناقشة

4.1.1 التحليل الحراري الوزني

يظهر الشكل 1 المنحنى الحراري الوزني لزركونيا الكبريتات (SZ) ، حيث تتفق خسائر الكتلة من قياسات TGA بشكل جيد مع تلك المتوقعة لتحلل زركونيا الكبريتات المائية [89]. لذلك، تُعزى أحداث التسخين لهذه العينة تحت 620°م إلى إزالة الماء الممتز وعملية نزع الهيدروكسيل لـ $ZrO(OH)_2$ ، بينما تُعزى خسارة الوزن الرئيسية الثانية عند درجات حرارة أعلى بدءاً من حوالي 673°م وانتهاءً عند 926°م إلى تحلل مجموعات الكبريتات. [90]

4.1.2 Fourier Transform Infra-Red Spectra

Figure 2 depicts the FTIR spectra of SZ from these spectra and the presence of sulphate groups was confirmed by the band at the range of 1225 to 1070 cm^{-1} , which are due to the asymmetric and symmetric stretching frequency of the $O=S=O$ and $O-S-O$ groups [91, 92]. The absence of peaks around 1450 cm^{-1} confirmed the presence of polynuclear sulphate in the sample irrespective of the high sulphate loading. The band around 1625 cm^{-1} and 3325 cm^{-1} corresponds to the bending and stretching modes of the -OH groups of water molecules present in the sample. The presence of these bands even after the high temperature calcination, points to the existence of Bronsted acidity in the samples

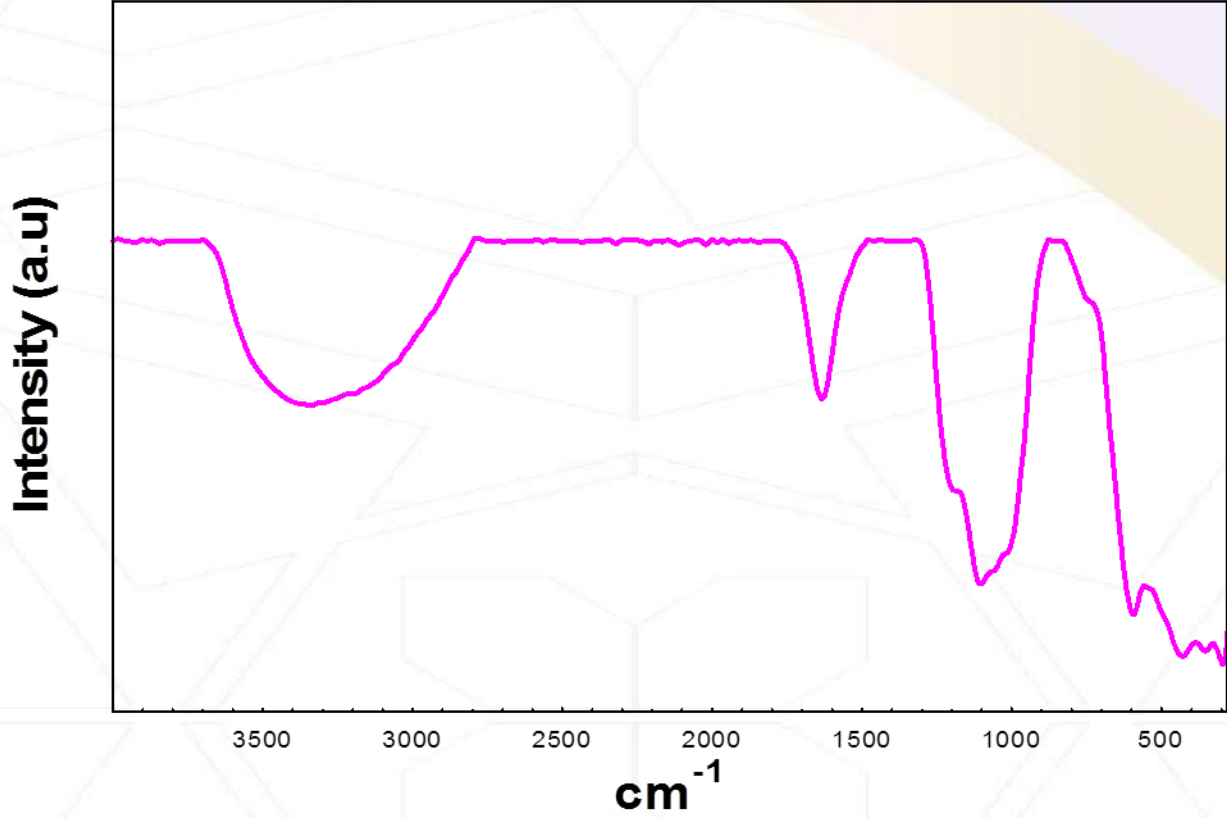


Figure 2: FTIR spectra of calcined Sulphated Zirconia Nanoparticles

4.1.2 أطياف الأشعة تحت الحمراء بتحويل فورييه

يبين الشكل (2) أطياف FTIR لزركونيا الكبريتات (SZ) ، حيث تم تأكيد وجود مجموعات الكبريتات من خلال القمة في المدى 1225 to 1070 cm^{-1} والتي تعزى إلى ترددات التمدد غير المتماثل والمتماثل لمجموعتي $\text{O}=\text{S}=\text{O}$ [91] و $\text{O}-\text{S}-\text{O}$. 92 . غياب القمم حول 1450 cm^{-1} أكد وجود متعدد الكبريتات في العينة بغض النظر عن الحمل العالي للكبريتات. بينما تعود القمة حول 1625 cm^{-1} و 3325 cm^{-1} إلى أنماط الانحناء والتمدد لمجموعات الهيدروكسيل-OH لجزيئات الماء الموجودة في العينة.

الخصائص الفيزيائية والكيميائية، والسمية الخلوية، والنشاط المضاد للميكروبات

لجسيمات نانوية من الزركونيا المكبرتة

**Physicochemical Properties, Cytotoxicity, and Antimicrobial Activity
of Sulphated Zirconia Nanoparticles.**

يشير استمرار وجود هذه القمم حتى بعد التكلس عند درجات حرارة عالية إلى وجود حموضة برونستيد في العينات. هذه النتائج تتفق مع الدراسات السابقة التي تشير إلى أن المجموعات الكبريتية والمائية تلعب دوراً حاسماً في الخصائص الحمضية للمحفزات المحتوية على الكبريت.

4.1.3. BET Analysis

The specific surface area for the SZ and zirconia (Z) obtained using the BET method was 38.0 and 34.6 m²/g, respectively. It was also observed that the incorporation of sulphate dopant in the structure of zirconia caused an increase in specific surface area and pore size of sulphated zirconia. This allowed reactants to be in contact with more acid sites, and the nanoparticles would have better activity.

4.1.3 تحليل BET

المساحة السطحية النوعية لزركونيا الكبريتات (SZ) والزركونيا (Z) التي تم الحصول عليها باستخدام طريقة BET كانت 38.0 و 34.6 م²/غ على التوالي. كما لوحظ أن دمج شوائب الكبريتات في بنية الزركونيا تسبب في زيادة المساحة السطحية النوعية وحجم المسام في زركونيا الكبريتات. هذا سمح للمواد المتفاعلة بالاتصال مع مواقع حمضية أكثر، مما سيعطي الجسيمات النانوية نشاطاً أفضل.

4.1.4. Powder X-ray Diffraction Analysis

The powder XRD patterns of sulphated zirconia calcined at 600°C for 3hrs is illustrated in Figure 3. The XRD patterns of sulphated zirconia shows peaks assigned to both the tetragonal phase at 2θ (30.2°, 35.4°, 50.2°, 60.3°) (JSPDS file No: 00-014-0534 – Zirconium oxide) and diffractions lines around 2θ (43.8°, 62.9°, 75.1°) (JSPDS file No: 01-086-1449ZrO₂) of the monoclinic phase of zirconia [87, 93]. By using Scherrer's equation, the average size of sulphated zirconia was estimated to be 40 nm.

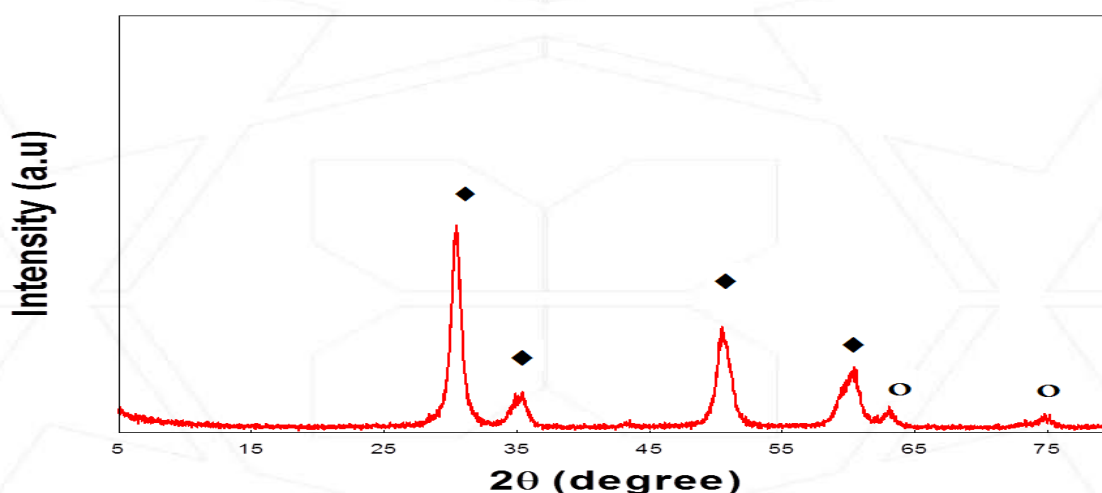


Figure 3: XRD patterns of sulphated zirconia calcined at 600°C for 3hrs.

4.1.4 تحليل حيود الأشعة السينية للبودرة

تظهر أنماط حيود الأشعة السينية للبودرة لزركونيا الكبريتات المكلسة عند 600°م لمدة 3 ساعات في الشكل 3. تظهر أنماط حيود الأشعة السينية لزركونيا الكبريتات قمماً تعزى إلى الطور الرباعي عند 2θ (30.2°، 35.4°، 50.2°، 60.3°) (ملف JSPDS رقم: 00-014-0534 - أكسيد الزركونيوم) وخطوط حيود حول 2θ (43.8°، 62.9°، 75.1°) (ملف JSPDS رقم: 01-086-1449ZrO₂) للطور أحادي الميل من الزركونيا [87، 93]. باستخدام معادلة شيرر، تم تقدير الحجم المتوسط لزركونيا الكبريتات بحوالي 40 نانومتر.

4.1.5. Scanning Electron Microscopy with Energy Dispersive Spectroscopy

The morphology of the sulphated zirconia was studied by scanning electron microscopy (SEM). SEM images of zirconia and SZ are presented in Figure 4. In contrast with pure zirconia, SEM images of the SZ showed a lower agglomeration. This supports the retarding effect of sulphate doping on the prevention of agglomeration via sulphation. EDS was used to analyze the percentage of elements present in the sample [94, 95]. The quantitative percentage of sulphated zirconia elements were found to be sulphur (S) at 1.66%, zirconium (Zr) at 51.95%, and oxygen (O) at 46.39%.

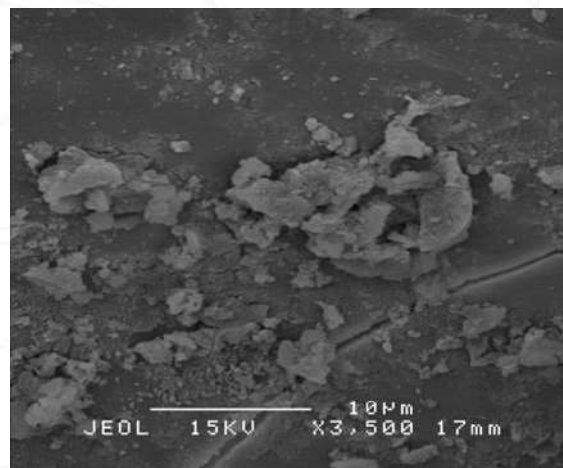
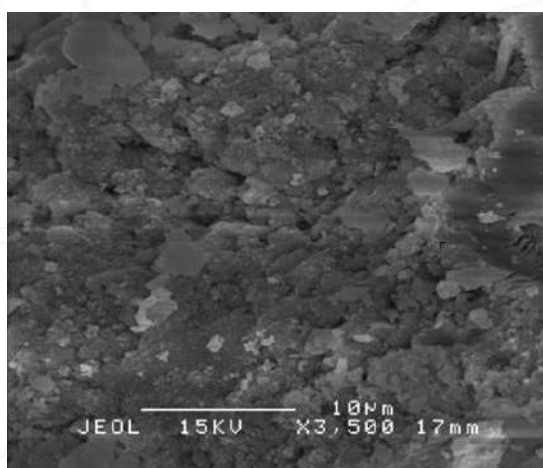


Figure 4: SEM images of zirconia (1) and SZ (2) calcined at 600°C for 3hrs.

4.1.5 المجهر الإلكتروني الماسح مع التحليل الطيفي المشتت للطاقة

تمت دراسة الشكل المورفولوجي للزركونيا المكبتة بالكبريتات بواسطة المجهر الإلكتروني الماسح (SEM). صور SEM للزركونيا و SZ معروضة في الشكل 4. بالمقارنة مع الزركونيا النقية، أظهرت صور SEM لـ SZ انخفاضاً في التكتل. وهذا يدعم التأثير المثبط لتطعيم الكبريتات على منع التكتل عبر الكبريتة. تم استخدام EDS لتحليل النسبة المئوية للعناصر الموجودة في العينة [94, 95]. تم العثور على النسبة الكمية لعناصر الزركونيا المكبتة بالكبريتات لتكون: الكبريت (S) بنسبة 1.66%، الزركونيوم (Zr) بنسبة 51.95%، والأكسجين (O) بنسبة 46.39%.

4.1.6. Transmission Electron Microscopy

The morphology and the extent of dispersion of our nanoparticles were determined with TEM. The TEM images of pure sulphated zirconia nanoparticles are shown in Figure 5. It is apparent that the nanoparticles are approximately tetragonal in shape with diameters ranging from 37 to 54 nm with an average size at 43 nm. In addition, most of the nanoparticles agglomerated, and a few detached. [96, 97].

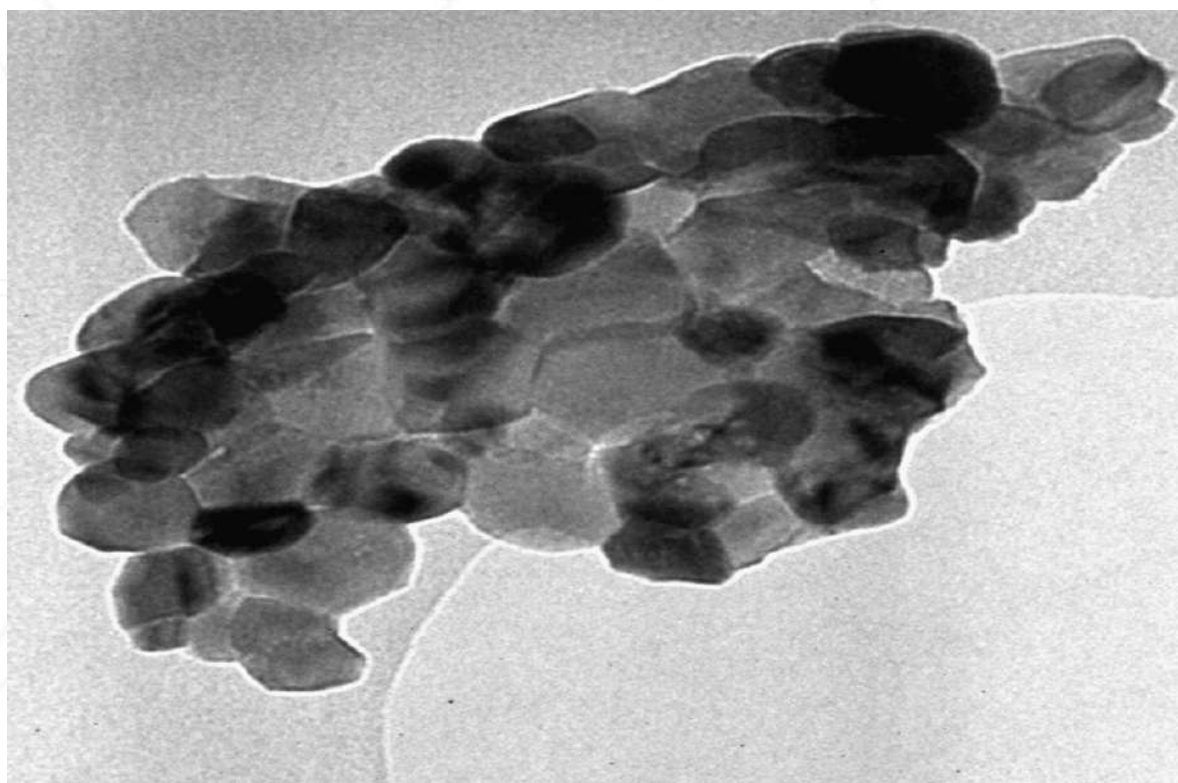


Figure 5: The TEM images of pure Sulphated Zirconia Nanoparticles

4.1.6 المجهر الإلكتروني النافذ

تم تحديد الشكل المورفولوجي ومدى التشتت لجسيماتنا النانوية باستخدام TEM. تُعرض صور TEM للجسيمات الزركونيا النانوية المكبّدة بالكبريتات النقية في الشكل (5) من الواضح أن الجسيمات النانوية ذات شكل شبه رباعي تقريباً، بأقطار تتراوح بين 37 و54 نانومتر، مع متوسط حجم عند 43 نانومتر. بالإضافة إلى ذلك، تكتلت معظم الجسيمات النانوية، وانفصل عدد قليل منها [96]، . [97]

4.1.7. Cytotoxicity of Sulphated Zirconia Nanoparticles

Most importantly, the cytotoxicity of sulphated zirconia nanoparticles on MCF7, HT29 ,HepG2 and MCF10a cells was determined by MTT assay. Figure 6 shows that sulphated zirconia nanoparticles have significant cytotoxic effects against colon cancer HT29 cells at most concentrations tested ($P < 0.05$). For the case of both MCF7 and HepG2 cells, 15.6 $\mu\text{g/mL}$ had no significant effect on cell growth, whereas the nanoparticles inhibited the growth of all cell lines tested in a dose-dependent manner. The IC₅₀ values of sulphated zirconia nanoparticles calculated from the dose response curves are shown in Table 1. On the other hand, the normal breast MCF10a cells were the least sensitive to sulphated zirconia nanoparticles, with an IC₅₀ value of approximately 151.6 $\mu\text{g/mL}$, while the breast cancer MCF7 cells were found to be more sensitive with an IC₅₀ value of 89.9 $\mu\text{g/mL}$. The IC₅₀ value of sulphated zirconia nanoparticles in normal breast MCF10a cells was almost 1.7 times higher than that in breast cancer MCF7 cells lines (Table 4.1). Furthermore, compared with sulphated zirconia nanoparticles, doxorubicin showed higher cytotoxicity in the normal breast MCF10a cell line. The results obtained from the MTT assay showed significant changes in the viability of MCF10a cells treated with that nanoparticles at concentrations of 62.5 and 125 $\mu\text{g/mL}$ for 24 hrs when compared to untreated cells.

الخصائص الفيزيائية والكيميائية، والسمية الخلوية، والنشاط المضاد للميكروبات
لجسيمات نانوية من الزركونيا المكبرتة

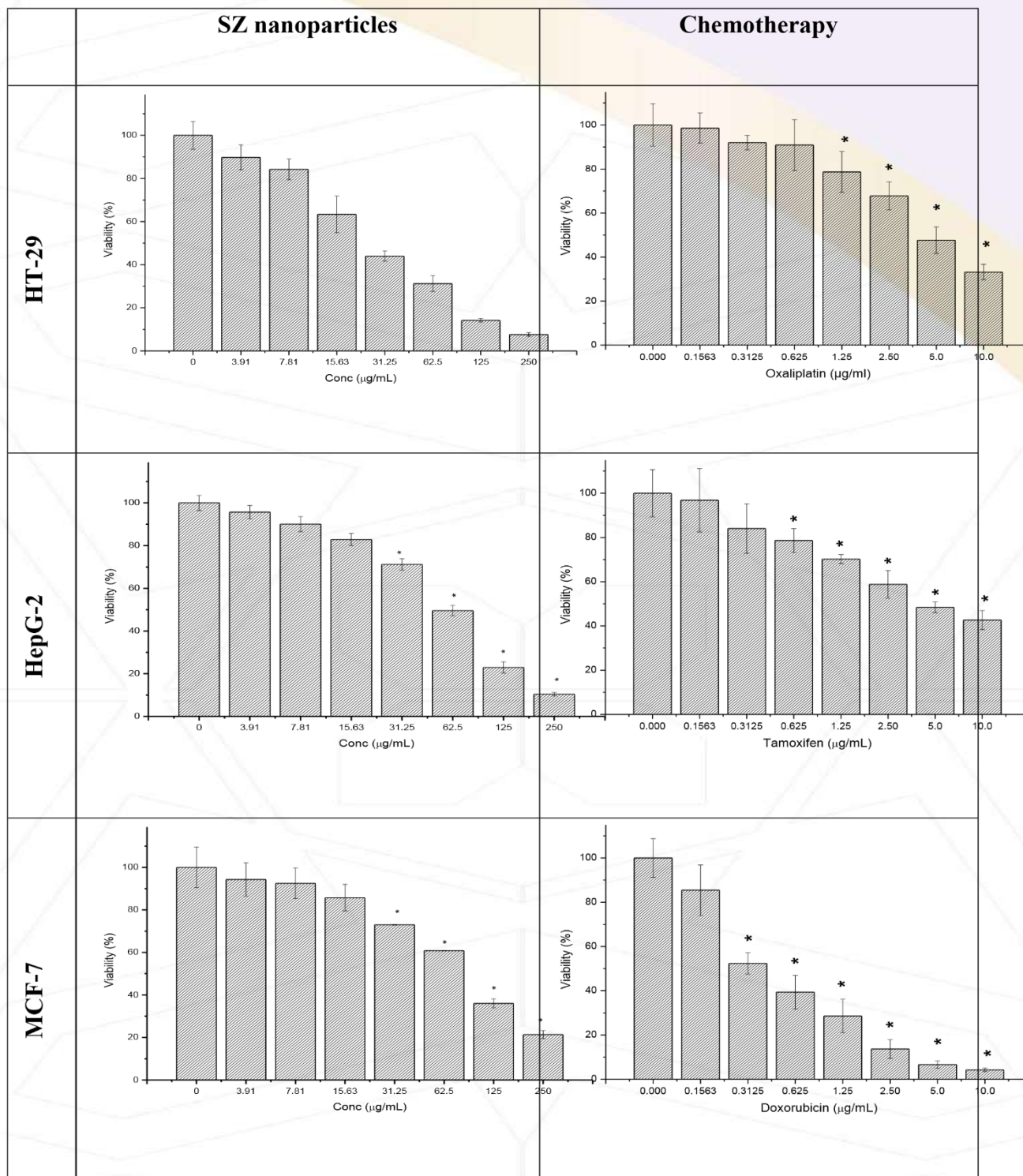
Physicochemical Properties, Cytotoxicity, and Antimicrobial Activity
of Sulphated Zirconia Nanoparticles.

Table 4.1: IC₅₀ of sulphated zirconia nanoparticles, oxaliplatin, doxorubicin, and tamoxifen on HT29, MCF7 and HepG2. MCF10a cells is normal cell line.

Treatment	IC ₅₀ (µg/mL)			
	HepG2	HT29	MCF7	MCF10a
Nanoparticles	61.8	26.4	89.8	151.63
Tamoxifen	4.62	-	-	-
Oxaliplatin	-	4.71	-	-
Doxorubicin	-	-	0.37	0.32

الخصائص الفيزيائية والكيميائية، والسمية الخلوية، والنشاط المضاد للميكروبات
لجسيمات نانوية من الزركونيا المكبرتة

Physicochemical Properties, Cytotoxicity, and Antimicrobial Activity
of Sulphated Zirconia Nanoparticles.



الخصائص الفيزيائية والكيميائية، والسمية الخلوية، والنشاط المضاد للميكروبات
لجسيمات نانوية من الزركونيا المكبرة

Physicochemical Properties, Cytotoxicity, and Antimicrobial Activity
of Sulphated Zirconia Nanoparticles.

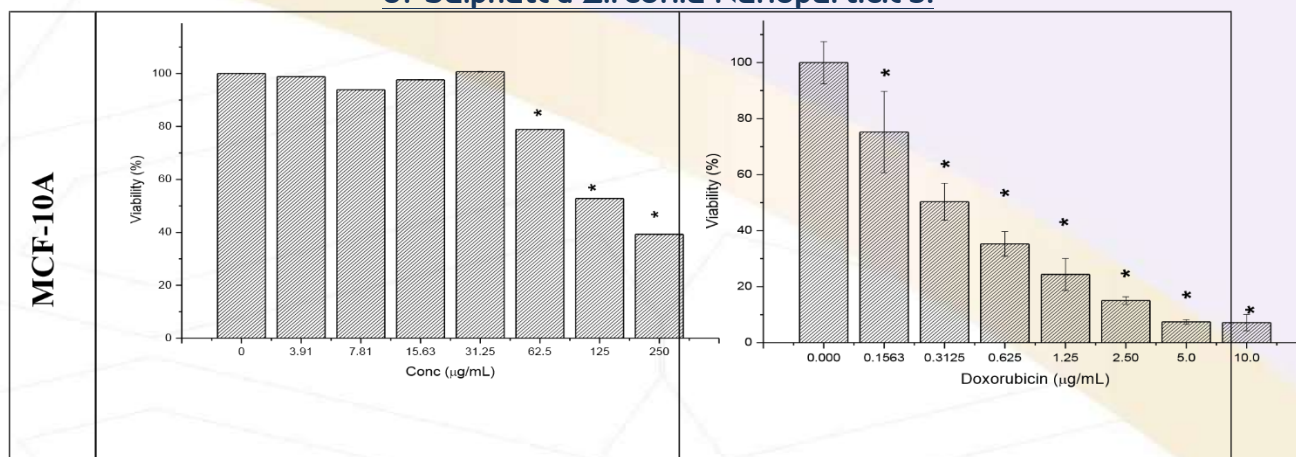


Figure 6: Sulphated zirconia nanoparticles effects on the viability of treated cells which were evaluated through mitochondrial activity using MTT assay. Mean \pm SD (n = 3wells/treatment). *P<0.05 compared with the untreated cells.

4.1.7 السُمِّيَّة الخلوية لجسيمات الزركونيا النانوية المكبرة بالكبريتات

الأهم من ذلك، تم تحديد السُمِّيَّة الخلوية لجسيمات الزركونيا النانوية المكبرة بالكبريتات على خلايا MCF7، HT29، HepG2، MCF10a بواسطة اختبار MTT assay. يوضح الشكل (6) أن جسيمات الزركونيا النانوية المكبرة بالكبريتات لها تأثيرات سُمِّيَّة خلوية كبيرة ضد خلايا سرطان القولون HT29 عند معظم التراكيز التي تم اختبارها. (P < 0.05).

في حالة كل من خلايا MCF7 و HepG2، فإن تركيز 15.6 µg/mL لم يكن له تأثير كبير على نمو الخلايا، بينما أدت الجسيمات النانوية إلى تثبيط نمو جميع خطوط الخلايا التي تم اختبارها بطريقة تعتمد على الجرعة.

تم حساب قيم IC50 لجسيمات الزركونيا النانوية المكبرة بالكبريتات من منحنيات الاستجابة للجرعة كما هو موضح في الجدول (1). من ناحية أخرى، كانت خلايا الثدي الطبيعية MCF10a الأقل حساسية لجسيمات الزركونيا النانوية المكبرة بالكبريتات، بقيمة IC50 تقارب 151.6 µg/mL، في حين أن خلايا سرطان الثدي

MCF7 وُجد أنها أكثر حساسية بقيمة IC50 بلغت 89.9 µg/mL.

كانت قيمة IC50 لجسيمات الزركونيا النانوية المكبرة بالكبريتات في خلايا الثدي الطبيعية MCF10a أعلى بحوالي 1.7 مرة من تلك في خطوط خلايا سرطان الثدي MCF7 (الجدول 4.1). علاوة على ذلك، بالمقارنة مع جسيمات الزركونيا النانوية المكبرة بالكبريتات، أظهر doxorubicin سُمِّيَّة خلوية أعلى في خط خلايا الثدي الطبيعية MCF10a.

أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها من اختبار MTT assay تغيرات كبيرة في حيوية خلايا MCF10a المعالجة بتلك الجسيمات عند تراكيز 62.5 و 125 µg/mL لمدة 24 ساعة مقارنة بالخلايا غير المعالجة.

Table 4.1: IC₅₀ of sulphated zirconia nanoparticles, oxaliplatin, doxorubicin, and tamoxifen on HT29, MCF7 and HepG2. MCF10a cells is normal cell line.

Treatment	IC ₅₀ (µg/mL)		
HepG2	HT29	MCF7	MCF10a
Nanoparticles	61.8	26.4	89.8
Tamoxifen	4.62	-	-
Oxaliplatin	-	4.71	-
Doxorubicin	-	-	0.37

4.1.8. Antimicrobial Activity of Sulphated Zirconia Nanoparticles

As shown in Figure 7 (b and c), the sulphated zirconia nanoparticles showed high antimicrobial activity against both Gram positive and Gram negative bacteria. It was found that the nanoparticles showed the highest activity against PA and MRSA followed by BA and SA. On the other hand, the sulphated zirconia nanoparticles did not show any activity against *Candida albicans* suggesting a lack of antifungal activity.

All of these microorganisms are responsible for a range of serious infections in human and animal populations. Therefore, the sulphated zirconia nanoparticles could find various biomedical applications of therapeutic importance to counteract such highly resistant microorganisms. Moreover, these sulphated zirconia nanoparticles should be further studied due to their noted anticancer properties.

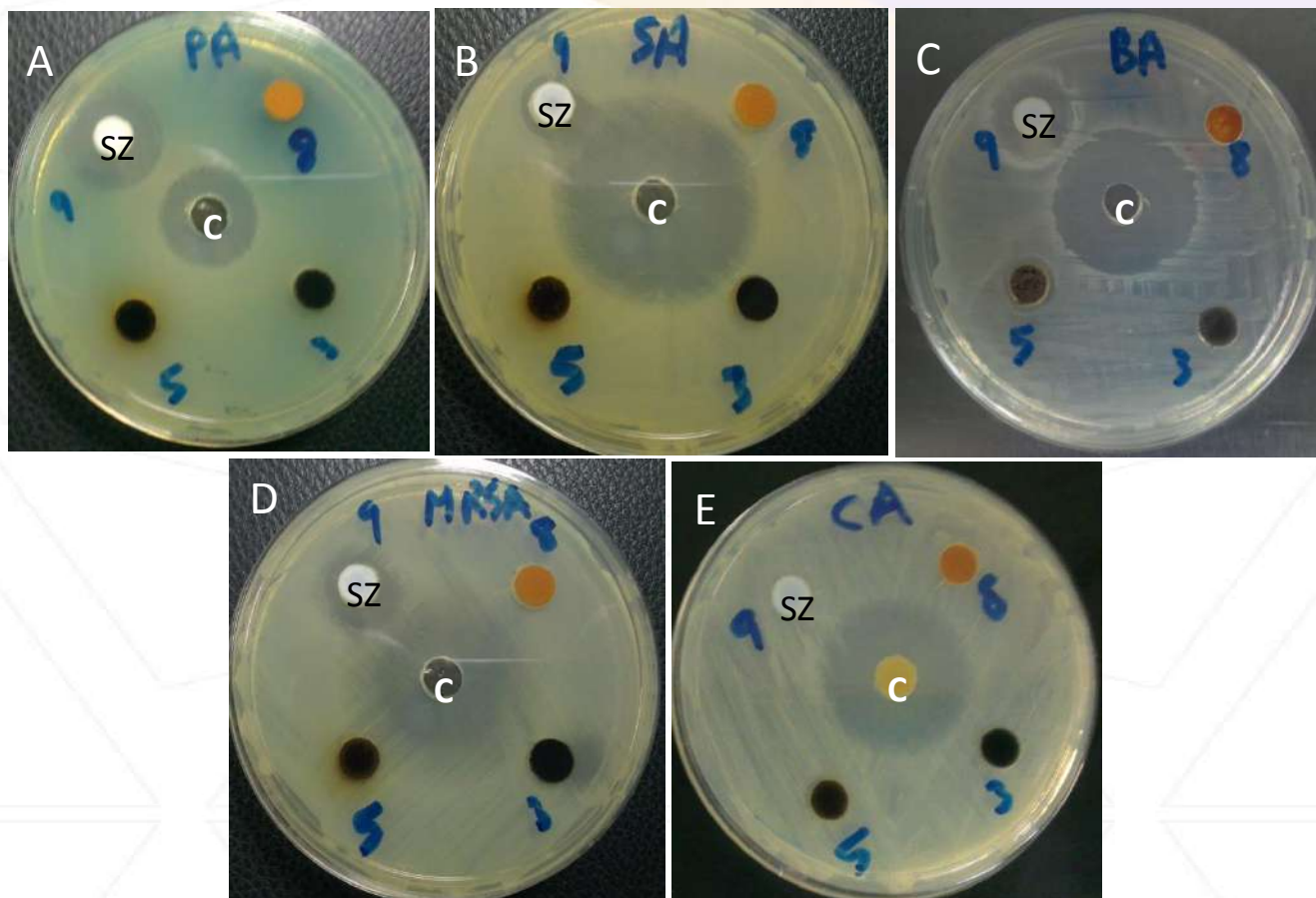


Figure 7: Antimicrobial activity of sulphated zirconia nanoparticles (SZ), against bacteria and yeast using disk agar diffusion method. Photographs of SZ NPs (A) *Pseudomonas aeruginosa*, (B) *Salmonella choleraesuis*, (C) *Bacillus subtilis*, (D) methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, (E) *Candida albicans*. Control antimicrobial agents (C) (ampicillin for Gram-negative, streptomycin for Gram-positive, and nystatin for *Candida albicans*).

الخصائص الفيزيائية والكيميائية، والسمية الخلوية، والنشاط المضاد للميكروبات
لجسيمات نانوية من الزركونيا المكبرتة

Physicochemical Properties, Cytotoxicity, and Antimicrobial Activity
of Sulphated Zirconia Nanoparticles.

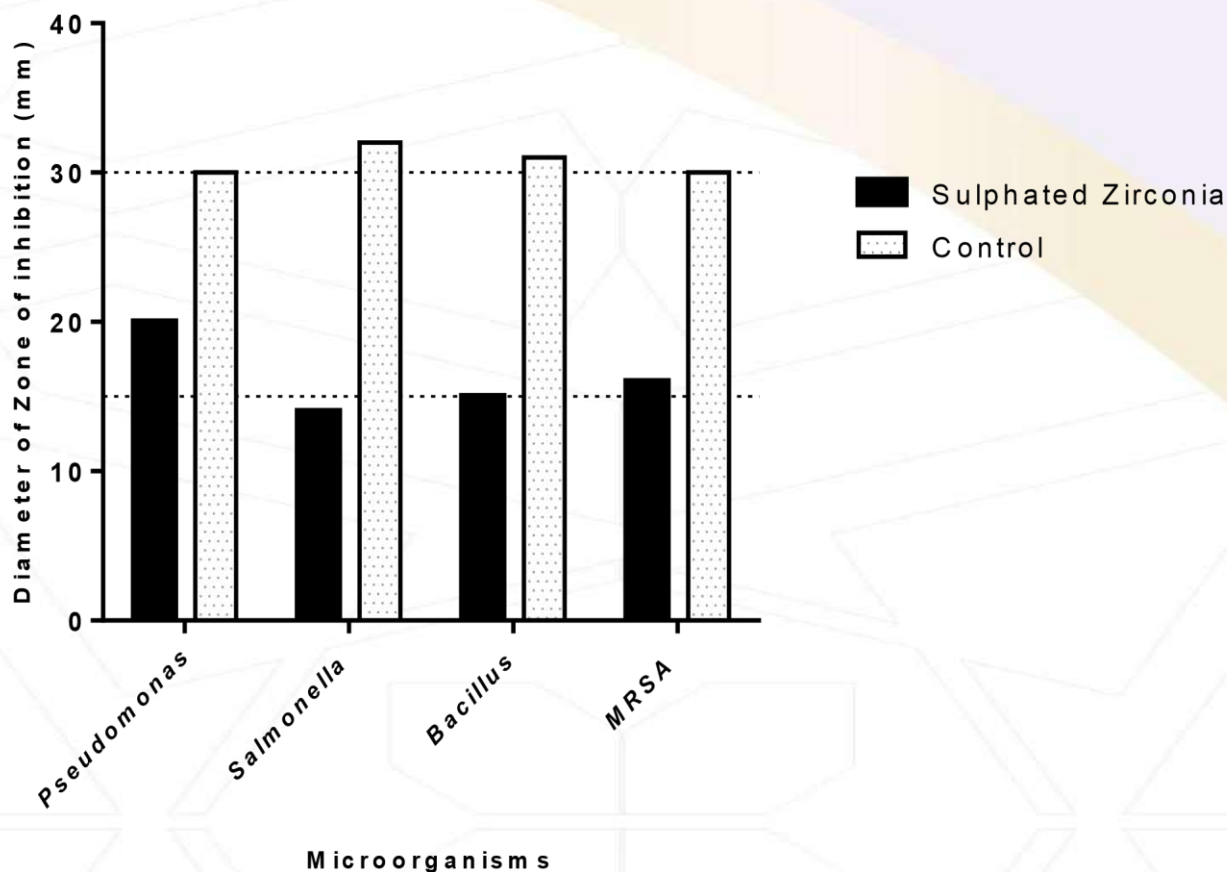


Figure 8. Diameter of zones of inhibition of sulphated zirconia nanoparticles against bacteria and yeast along with the control antimicrobial agents (ampicillin for Gram-negative, streptomycin for Gram-positive). For *Candida albicans*, zone was zero mm and no activity was reported.

الخصائص الفيزيائية والكيميائية، والسمية الخلوية، والنشاط المضاد للميكروبات
لجسيمات نانوية من الزركونيا المكبرة
Physicochemical Properties, Cytotoxicity, and Antimicrobial Activity
of Sulphated Zirconia Nanoparticles.

4.1.8 النشاط المضاد للميكروبات لجسيمات الزركونيا النانوية المكبرة بالكبريتات

كما هو موضح في الشكل (7-b) و (7-c)، أظهرت جسيمات الزركونيا النانوية المكبرة بالكبريتات نشاطاً مرتفعاً ضد كلٍّ من البكتيريا موجبة الجرام وسالبة الجرام. وقد وُجد أن الجسيمات النانوية أظهرت أعلى نشاط ضد PA و MRSA تليها BA و SA. من ناحية أخرى، لم تُظهر جسيمات الزركونيا النانوية المكبرة بالكبريتات أي نشاط ضد *Candida albicans* مما يشير إلى غياب النشاط المضاد للفطريات. جميع هذه الكائنات الدقيقة مسؤولة عن مجموعة من الالتهابات الخطيرة في الإنسان والحيوان. ولذلك، يمكن أن تجد جسيمات الزركونيا النانوية المكبرة بالكبريتات تطبيقات طبية حيوية متنوعة ذات أهمية علاجية لمواجهة مثل هذه الكائنات الدقيقة المقاومة بشدة. علاوة على ذلك، يجب دراسة هذه الجسيمات النانوية المكبرة بالكبريتات بشكل أكبر نظراً لخصائصها المضادة للسرطان الملحوظة.

CHAPTER 5

5.1 Conclusion and Recommendation for Future Study

5.1.1. Conclusions

The present study showed that sulphated zirconia nanoparticles have significant cytotoxic effects against lung cancer A546 cells at most concentrations tested and inhibited the growth of all cancer cell lines studied here. Furthermore, the sulphated zirconia nanoparticles also showed high antimicrobial activity against both Gram positive and Gram negative bacteria. In conclusion, the sulphated zirconia nanoparticles could find numerous biomedical applications of therapeutic importance to counteract cancer and also highly resistant microorganisms.

الفصل الخامس

5.1 الاستنتاجات والتوصيات للدراسة المستقبلية

5.1.1 الاستنتاجات

أظهرت الدراسة الحالية أن جسيمات الزركونيا النانوية المكبّدة بالكبريتات لها تأثيرات سُمّية خلوية كبيرة ضد خلايا سرطان الرئة A546 عند معظم التراكيز التي تم اختبارها، كما أنها تثبط نمو جميع خطوط الخلايا السرطانية التي تمت دراستها هنا. علاوة على ذلك، أظهرت جسيمات الزركونيا النانوية المكبّدة بالكبريتات نشاطاً مرتفعاً مضاداً للميكروبات ضد كلٍّ من البكتيريا موجبة الجرام وسالبة الجرام. وبالنتيجة، يمكن أن تجد جسيمات الزركونيا النانوية المكبّدة بالكبريتات العديد من التطبيقات الطبية الحيوية ذات الأهمية العلاجية لمواجهة السرطان وكذلك الكائنات الدقيقة المقاومة بشدة.

5.1.2. Recommendation for Future Study

- a- The sulphated zirconia nanoparticles should be prepared using different other techniques and compare to this method.
- b- The sulphate zirconia nanoparticles can apply to other human cancer cell e.g kidney and liver cell.
- c. In-vivo- study using the same synthesized sulphated zirconia nanoparticles.

5.1.2 التوصيات للدراسة المستقبلية

- 1- يجب تحضير جسيمات الزركونيا النانوية المكبّدة بالكبريتات باستخدام تقنيات أخرى مختلفة ومقارنتها مع هذه الطريقة.
- 2- يمكن تطبيق جسيمات الزركونيا النانوية المكبّدة بالكبريتات على أنواع أخرى من الخلايا السرطانية البشرية مثل خلايا الكبد والكلى.
- 3- إجراء دراسة In-vivo باستخدام نفس جسيمات الزركونيا النانوية المكبّدة بالكبريتات المُحضّرة.

References

1. Reddy, B.M. and M.K. Patil, *Organic syntheses and transformations catalyzed by sulfated zirconia*. Chemical reviews, 2009. 109(6): p. 2185-2208.
2. Yadav, G.D. and J.J. Nair, *Sulfated zirconia and its modified versions as promising catalysts for industrial processes*. Microporous and mesoporous materials, 1999. 33(1): p. 1-48.
3. Brown, A.C. and J.J. Hargreaves, *Sulfated metal oxide catalysts. Superactivity through superacidity?* Green Chemistry, 1999. 1(1): p. 17-20.
4. Clark, J.H., *Solid acids for green chemistry*. Accounts of chemical research, 2002. 35(9): p. 791-797.
5. Bond, G.C., *Metal-catalysed reactions of hydrocarbons*. 2006: Springer.
6. Song, X. and A. Sayari, *Sulfated zirconia-based strong solid-acid catalysts: recent progress*. Catalysis Reviews, 1996. 38(3): p. 329-412.
7. Katada, N., et al., *Superacidity and catalytic activity of sulfated zirconia*. The Journal of Physical Chemistry B, 2000. 104(44): p. 10321-10328.
8. Meghshyam, K., *Synthesis of novel zirconia based solid superacids their characterization and application in organic synthesis and transformation reactions*. 2009, Osmania University.
9. Swerdlow, S., E. Campo, and N. Harris, *International Agency for Research on Cancer. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissue*, 2008: p. 1-439.
10. Rasmussen, J.W., et al., *Zinc oxide nanoparticles for selective destruction of tumor cells and potential for drug delivery applications*. Expert opinion on drug delivery, 2010. 7(9): p. 1063-1077.
11. Laurent, S., et al., *Magnetic fluid hyperthermia: focus on superparamagnetic iron oxide nanoparticles*. Advances in Colloid and Interface Science, 2011. 166(1): p. 8-23.
12. Orel, V., et al., *Magnetic properties and antitumor effect of nanocomplexes of iron oxide and doxorubicin*. Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine, 2015. 11(1): p. 47-55.
13. van Landeghem, F.K., et al., *Post-mortem studies in glioblastoma patients treated with thermotherapy using magnetic nanoparticles*. Biomaterials, 2009. 30(1): p. 52-57.
14. Silva, A.C., et al., *Application of hyperthermia induced by superparamagnetic iron oxide nanoparticles in glioma treatment*. Int J Nanomedicine, 2011. 6(3): p. 591-603.

15. Johannsen, M., et al., *Magnetic nanoparticle hyperthermia for prostate cancer*. International Journal of Hyperthermia, 2010. 26(8): p. 790-795.
16. Maier-Hauff, K., et al., *Efficacy and safety of intratumoral thermotherapy using magnetic iron-oxide nanoparticles combined with external beam radiotherapy on patients with recurrent glioblastoma multiforme*. Journal of neuro-oncology, 2011. 103(2): p. 317-324.
17. Kolosnjaj-Tabi, J., et al., *Heat-Generating Iron Oxide Nanocubes: Subtle "Destructurators" of the Tumoral Microenvironment*. ACS nano, 2014. 8(5): p. 4268- 4283.
18. Bhattacharyya, S., et al., *Inorganic nanoparticles in cancer therapy*. Pharmaceutical research, 2011. 28(2): p. 237-259.
19. Danhier, F., O. Feron, and V. Préat, *To exploit the tumor microenvironment: passive and active tumor targeting of nanocarriers for anti-cancer drug delivery*. Journal of Controlled Release, 2010. 148(2): p. 135-146.
20. Hilger, I. and W.A. Kaiser, *Iron oxide-based nanostructures for MRI and magnetic hyperthermia*. Nanomedicine, 2012. 7(9): p. 1443-1459.
21. Bañobre-López, M., A. Teijeiro, and J. Rivas, *Magnetic nanoparticle-based hyperthermia for cancer treatment*. Reports of Practical Oncology & Radiotherapy, 2013. 18(6): p. 397- 400.
22. Klein, S., et al., *Superparamagnetic iron oxide nanoparticles as novel X-ray enhancer for low-dose radiation therapy*. The Journal of Physical Chemistry B, 2014. 118(23): p. 6159- 6166.
23. Chatterjee, D.K., L.S. Fong, and Y. Zhang, *Nanoparticles in photodynamic therapy: an emerging paradigm*. Advanced drug delivery reviews, 2008. 60(15): p. 1627-1637.
24. Zhang, A.-P. and Y.-P. Sun, *Photocatalytic killing effect of TiO₂ nanoparticles on Ls- 174-t human colon carcinoma cells*. World Journal of Gastroenterology, 2004. 10(21): p. 3191-3193.
25. Thevenot, P., et al., *Surface chemistry influences cancer killing effect of TiO₂ nanoparticles*. Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine, 2008. 4(3): p. 226- 236.
26. Seo, J.w., et al., *Development of Water- Soluble Single- Crystalline TiO₂ Nanoparticles for Photocatalytic Cancer- Cell Treatment*. Small, 2007. 3(5): p. 850-853.
27. Cui, S., et al., *In vivo targeted deep-tissue photodynamic therapy based on near-infrared light triggered upconversion nanoconstruct*. ACS nano, 2012. 7(1): p. 676-688.
28. Hou, Z., et al., *UV-Emitting Upconversion-Based TiO₂ Photosensitizing Nanoplatform: Near-Infrared Light Mediated in Vivo Photodynamic Therapy via Mitochondria-Involved Apoptosis Pathway*. ACS nano, 2015. 9(3): p. 2584-2599.

**Physicochemical Properties, Cytotoxicity, and Antimicrobial Activity
of Sulphated Zirconia Nanoparticles.**

29. Idris, N.M., et al., *Photoactivation of core-shell titania coated upconversion nanoparticles and their effect on cell death*. Journal of Materials Chemistry B, 2014. 2(40): p. 7017-7026.
30. Lucky, S.S., et al., *Titania Coated Upconversion Nanoparticles for Near-Infrared Light Triggered Photodynamic Therapy*. ACS nano, 2015. 9(1): p. 191-205.
31. Wason, M.S., et al., *Sensitization of pancreatic cancer cells to radiation by cerium oxide nanoparticle-induced ROS production*. Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine, 2013. 9(4): p. 558-569.
32. Colon, J., et al., *Cerium oxide nanoparticles protect gastrointestinal epithelium from radiation-induced damage by reduction of reactive oxygen species and upregulation of superoxide dismutase 2*. Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine, 2010. 6(5): p. 698-705.
33. Tarnuzzer, R.W., et al., *Vacancy engineered ceria nanostructures for protection from radiation-induced cellular damage*. Nano letters, 2005. 5(12): p. 2573-2577.
34. Neri, D. and C.T. Supuran, *Interfering with pH regulation in tumours as a therapeutic strategy*. Nature reviews Drug discovery, 2011. 10(10): p. 767-777.
35. Ali, D., et al., *Cerium Oxide Nanoparticles Induce Oxidative Stress and Genotoxicity in Human Skin Melanoma Cells*. Cell biochemistry and biophysics, 2014. 71(3): p. 1643- 1651.
36. Pešić, M., et al., *Anti-cancer effects of cerium oxide nanoparticles and its intracellular redox activity*. Chemico-biological interactions, 2015. 232: p. 85-93.
37. Sack, M., et al., *Combination of Conventional Chemotherapeutics with Redox-Active Cerium Oxide Nanoparticles—A Novel Aspect in Cancer Therapy*. Molecular cancer therapeutics, 2014. 13(7): p. 1740-1749.
38. Alili, L., et al., *Combined cytotoxic and anti-invasive properties of redox-active nanoparticles in tumor-stroma interactions*. Biomaterials, 2011. 32(11): p. 2918-2929.
39. De Marzi, L., et al., *Cytotoxicity and genotoxicity of ceria nanoparticles on different cell lines in vitro*. International journal of molecular sciences, 2013. 14(2): p. 3065-3077.
40. Alili, L., et al., *Downregulation of tumor growth and invasion by redox-active nanoparticles*. Antioxidants & redox signaling, 2013. 19(8): p. 765-778.
41. Wahab, R., et al., *ZnO nanoparticles induce oxidative stress in Cloudman S91 melanoma cancer cells*. Journal of biomedical nanotechnology, 2013. 9(3): p. 441-449.

42. Wahab, R., et al., *ZnO nanoparticles induces cell death in malignant human T98G gliomas, KB and non-malignant HEK cells*. Journal of biomedical nanotechnology, 2013. 9(7): p. 1181-1189.
43. Wahab, R., et al., *ZnO nanoparticles induced oxidative stress and apoptosis in HepG2 and MCF-7 cancer cells and their antibacterial activity*. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2014. 117: p. 267-276.
44. Fang, R.H., et al., *Cancer cell membrane-coated nanoparticles for anticancer vaccination and drug delivery*. Nano letters, 2014. 14(4): p. 2181-2188.
45. Bae, M.Y., N.H. Cho, and S.Y. Seong, *Protective anti- tumour immune responses by murine dendritic cells pulsed with recombinant Tat- carcinoembryonic antigen derived from Escherichia coli*. Clinical & Experimental Immunology, 2009. 157(1): p. 128-138.
46. Cho, N.-H., et al., *A multifunctional core-shell nanoparticle for dendritic cell-based cancer immunotherapy*. Nature nanotechnology, 2011. 6(10): p. 675-682.
47. Yun, J.W., et al., *The toxicity and distribution of iron oxide–zinc oxide core- shell nanoparticles in C57BL/6 mice after repeated subcutaneous administration*. Journal of Applied Toxicology, 2015. 35(6): p. 593-602.
48. Ryter, S.W., et al., *Mechanisms of cell death in oxidative stress*. Antioxidants & redox signaling, 2007. 9(1): p. 49-89.
49. Baskar, G., et al., *Anticancer activity of fungal l-asparaginase conjugated with zinc oxide nanoparticles*. Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 2015. 26(1): p. 1-7.
50. Hackenberg, S., et al., *Zinc oxide nanoparticles induce photocatalytic cell death in human head and neck squamous cell carcinoma cell lines in vitro*. International journal of oncology, 2010. 37(6): p. 1583-1590.
51. Hackenberg, S., et al., *Antitumor activity of photo-stimulated zinc oxide nanoparticles combined with paclitaxel or cisplatin in HNSCC cell lines*. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 2012. 114: p. 87-93.
52. Guo, D., et al., *Synergistic cytotoxic effect of different sized ZnO nanoparticles and daunorubicin against leukemia cancer cells under UV irradiation*. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 2008. 93(3): p. 119-126.

53. Sankar, R., et al., *Anticancer activity of Ficus religiosa engineered copper oxide nanoparticles*. Materials Science and Engineering: C, 2014. 44: p. 234-239.
54. Sivaraj, R., et al., *Biosynthesis and characterization of Acalypha indica mediated copper oxide nanoparticles and evaluation of its antimicrobial and anticancer activity*. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2014. 129: p. 255-258.
55. Narayanan, K.B. and N. Sakthivel, *Biological synthesis of metal nanoparticles by microbes*. Advances in colloid and interface science, 2010. 156(1): p. 1-13.
56. Zhang, X., et al., *Different CuO nanostructures: synthesis, characterization, and applications for glucose sensors*. The Journal of Physical Chemistry C, 2008. 112(43): p. 16845-16849.
57. Cioffi, N., et al., *Copper nanoparticle/polymer composites with antifungal and bacteriostatic properties*. Chemistry of Materials, 2005. 17(21): p. 5255-5262.
58. Wang, Y., et al., *Cuprous oxide nanoparticles selectively induce apoptosis of tumor cells*. International journal of nanomedicine, 2012. 7: p. 2641.
59. Wang, Y., et al., *Cuprous oxide nanoparticles inhibit the growth and metastasis of melanoma by targeting mitochondria*. Cell death & disease, 2013. 4(8): p. e783.
60. Siddiqui, M.A., et al., *Copper oxide nanoparticles induced mitochondria mediated apoptosis in human hepatocarcinoma cells*. PloS one, 2013. 8(8): p. e69534.
61. Meng, H., et al., *Use of a Lipid-Coated Mesoporous Silica Nanoparticle Platform for Synergistic Gemcitabine and Paclitaxel Delivery to Human Pancreatic Cancer in Mice*. ACS nano, 2015. 9(4): p. 3540-3557.
62. Lu, J., et al., *Biocompatibility, Biodistribution, and Drug- Delivery Efficiency of Mesoporous Silica Nanoparticles for Cancer Therapy in Animals*. Small, 2010. 6(16): p. 1794-1805.
63. Bagwe, R.P., L.R. Hilliard, and W. Tan, *Surface modification of silica nanoparticles to reduce aggregation and nonspecific binding*. Langmuir, 2006. 22(9): p. 4357-4362.
64. Botella, P., et al., *Surface-modified silica nanoparticles for tumor-targeted delivery of camptothecin and its biological evaluation*. Journal of Controlled Release, 2011. 156(2): p. 246-257.
65. Drummond, D.C., et al., *Optimizing liposomes for delivery of chemotherapeutic agents to solid tumors*. Pharmacological reviews, 1999. 51(4): p. 691-744.

66. Limbach, L.K., et al., *Oxide nanoparticle uptake in human lung fibroblasts: effects of particle size, agglomeration, and diffusion at low concentrations*. Environmental science & technology, 2005. 39(23): p. 9370-9376.
67. Lee, Y.K., et al., *effect of the protein corona on nanoparticles for modulating cytotoxicity and immunotoxicity*. International journal of nanomedicine, 2015. 10: p. 97.
68. Varadan, V.K., L. Chen, and J. Xie, *Nanomedicine: design and applications of magnetic nanomaterials, nanosensors and nanosystems*. 2008: John Wiley & Sons.
69. Mertig, M., et al., *Nanobiotechnology—Concepts, Applications and Perspectives*. 2004, Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.
70. Parak, W.J., et al., *Biological applications of colloidal nanocrystals*. Nanotechnology, 2003. 14(7): p. R15.
71. Malsch, I., *Biomedical applications of nanotechnology*. INDUSTRIAL PHYSICIST, 2002. 8(3): p. 15-17.
72. Arruebo, M., et al., *Magnetic nanoparticles for drug delivery*. Nano today, 2007. 2(3): p. 22-32.
73. Cao, G., *Synthesis, Properties and Applications*. 2004: World Scientific.
74. Darling, S. and S. Bader, *A materials chemistry perspective on nanomagnetism*. Journal of Materials Chemistry, 2005. 15(39): p. 4189-4195.
75. Luo, D., *Nanotechnology and DNA delivery*. MRS bulletin, 2005. 30(09): p. 654-658.
76. Dowling, A., et al., *Nanoscience and nanotechnologies: opportunities and uncertainties*. London: The Royal Society & The Royal Academy of Engineering Report, 2004: p. 61- 64.
77. Hurst, S.J., et al., *Multisegmented one- dimensional nanorods prepared by hard- template synthetic methods*. Angewandte Chemie International Edition, 2006. 45(17): p. 2672-2692.
78. Whitesides, G.M., *Nanoscience, nanotechnology, and chemistry*. Small, 2005. 1(2): p. 172-179.
79. Himpsel, F., et al., *Magnetic nanostructures*. Advances in physics, 1998. 47(4): p. 511- 597.
80. Ritchie, R., *Whither 'nano' or 'bio'?* Materials Today, 2005. 8(12): p. 72.
81. Roco, M.C., R. Williams, and P. Alivisatos, *Nanotechnology Research Directions: IWGN Workshop Report. Vision for Nanotechnology R&D in the Next Decade*. 1999, DTIC Document.

82. Taton, T.A., *Bio-nanotechnology: two-way traffic*. Nature Materials, 2003. 2(2): p. 73-74.
83. Service, R.F., *Nanotechnology. Biology offers nanotechs a helping hand*. Science (New York, NY), 2002. 298(5602): p. 2322.
84. Tirrell, D., et al., *Hierarchical structures in biology as a guide for new materials technology*. National Academy of Sciences, Washington DC, 1994.
85. Williams, K.A., et al., *Nanotechnology: carbon nanotubes with DNA recognition*. Nature, 2002. 420(6917): p. 761-761.
86. Freitas, R.A., *What is nanomedicine? Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 2005. 1(1): p. 2-9.
87. Jentoft, F.C., et al., *Incorporation of manganese and iron into the zirconia lattice in promoted sulfated zirconia catalysts*. Journal of Catalysis, 2004. 224(1): p. 124-137.
88. Hashim, M., et al., *Preparation and characterization chemistry of nano-crystalline Ni-Cu- Zn ferrite*. Journal of Alloys and Compounds, 2013. 549: p. 348-357.
89. Bi, M., et al., *Thermal Studies of Metal Promoted Sulfated Zirconia*. PREPRINTS OF PAPERS-AMERICAN CHEMICAL SOCIETY DIVISION FUEL CHEMISTRY, 1996. 41: p. 77-81.
90. Khalaf, H.A., *Textural properties of sulfated iron hydroxide promoted with aluminum*. Monatshefte für Chemie/Chemical Monthly, 2009. 140(6): p. 669-674.
91. Clearfield, A., G. Serrette, and A. Khazi-Syed, *Nature of hydrous zirconia and sulfated hydrous zirconia*. Catalysis today, 1994. 20(2): p. 295-312.
92. Mekhemer, G.A., et al., *Sulfated alumina catalysts: Consequences of sulfate content and source*. Monatshefte für Chemie/Chemical Monthly, 2005. 136(12): p. 2007-2016.
93. Yamamoto, T., et al., *Structural analysis of iron and manganese species in iron-and manganese-promoted sulfated zirconia*. The Journal of Physical Chemistry B, 1999. 103(13): p. 2385-2393.
94. Zhang, L., et al., *Properties and liquefaction activities of ferrous sulfate based catalyst impregnated on two Chinese bituminous coals*. Fuel, 2002. 81(7): p. 951-958.
95. Yang, L., A. Zhang, and X. Zheng, *Shrimp shell catalyst for biodiesel production*. Energy & Fuels, 2009. 23(8): p. 3859-3865.

96. Butt, H.-J., B. Cappella, and M. Kappl, *Force measurements with the atomic force microscope: Technique, interpretation and applications*. Surface science reports, 2005. 59(1): p. 1-152.
97. Li, Y. and G.A. Somorjai, *Nanoscale advances in catalysis and energy applications*. Nano letters, 2010. 10(7): p. 2289-2295.

الخصائص الفيزيائية والكيميائية، والسمية الخلوية، والنشاط المضاد للميكروبات
لجسيمات نانوية من الزركونيا المكبرتة
**Physicochemical Properties, Cytotoxicity, and Antimicrobial Activity
of Sulphated Zirconia Nanoparticles.**

فهرس المحتويات Table of Contents

الصفحة	البيان	ت
Page	Description	SR
	كلمة الباحث Researcher's Word	
1	الفصل الأول CHAPTER 1	1
3-2	خلفية الدراسة Background	2
5-4	بيان المشكلة البحثية Problem Statement	3
6	أهداف الدراسة Objectives	4
7	الفصل الثاني CHAPTER 2	5
64	الفصل الثالث CHAPTER 3	6
88	الفصل الرابع CHAPTER 4	7
103	الفصل الخامس CHAPTER 5	8
105	المراجع References	9