بررسی اثرات آنتی اکسیدانی و سمیت نانوذرات نقره سنتز شده به روش سبز توسط عصاره آبی گیاه روناس بر سلول های سرطانی کبد(HepG2) در مقایسه با سلول نرمال فیبروبلاست پوستی(HDF)

سارا قندهاری[۱]، مسعود همایونی تبریزی*[۱]، پوران اردلان[۲]

۱) گروه زیست شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد ایران

۲) گروه شیمی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران

تاریخ دریافت: ۹۶/۰۶/۲۷ **تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۱/۱۰**

چکیده

مقدمه: نانوذرات به دلیل توانایی بالقوه در زمینه های مختلف از جمله پزشکی و دارو مورد توجه بسیاری قرار گرفته اند. نانوذرات نقره از شناخته شده ترین ترکیبات در داورسانی و درمان سرطان به شمار می آید. بررسی ها نشان می دهد که نانوذرات نقره سنتز شده به روش سبز دارای اثرات ضد میکروبی، آنتی اکسیدان، سیتوتوکسیک و ضد التهابی می باشند. لذا در این مطالعه توان آنتی اکسیدانی و سمیت سلولی نانوذرات نقره سنتز شده از عصاره گیاه روناس بر علیه سلول های سرطان کبد و سلول های نرمال فیبروبلاستی پوست با استفاده از پروتوکل های استاندارد بررسی شد.

مواد و روش ها: ابتدا نانوذرات نقره با استفاده از عصاره آبی روناس تهیه شد و سپس تـــوان مهـــاری نانوذره ســـنتز شده بر علیه رادیکال هـــای آزاد ABTS و DPPH مورد ارزیابی قرار گرفت. از روش MTT به منظور ارزیابی میزان سمیت این نانوذرات در غلظت های مختلف بر علیه سلول های نرمال فیبروبلاست پوستی(HDF) و سلول های سرطان کبد(HepG2) استفاده شد. به این ترتیب که ابتدا سلول ها کشت داده شد و سپس به مدت ۲۴ ساعت در معرض غلظت های مختلف نانوذرات قرار گرفتند و در نهایت میزان سمیت با استفاده از محلول MTT سنجش گردید.

یافته های پژوهش: نتایج به دست آمده نشان داد که نانوذرات نقره قادر است به صورت وابسته به غلظت اثر مهاری بر رادیکال های آزاد ABTS و DPPH اعمال نماید به طوری که با افزایش غلظت تا ۱۲۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر میزان مهار رادیکال های آزاد به بالای ۸۰ درصد افزایش نشان داد. نتایج حاصل از بررسی اثر سمیت نانوذره بر سلول های سرطان کبد نشان داد که این نانوذرات قادر است سلول های سرطانی را در غلظت های بسیار پایین مهار کند(IC_{50}: 6 µg/ml) حال آن که در این غلظت ها بر سلول های نرمال اثر کشندگی ندارد(IC_{50}: 100 µg/ml).

بحث و نتیجه گیری: نتایج نشان می دهد که نانوذرات سنتز شده دارای خاصیت آنتی اکسیدانی بوده و هم چنین قادر است در غلظت پایین سلول سرطان کبد را مهار و در غلظتی مشابه بر سلول نرمال اثر سمیت نداشته باشد که همین امر این نانوذره را کاندیدی مناسب جهت استفاده در مهار سلول های سرطانی می کند.

واژه های کلیدی: نانوذرات نقره، گیاه روناس، آنتی اکسیدان، سیتوتوکسیک

* نویسنده مسئول: گروه زیست شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران

Email:mhomayouni6@gmail.com

Copyright © 2018 Journal of Ilam University of Medical Science. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution international 4.0 International License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) which permits copy and redistribute the material, in any medium or format, provided the original work is properly cited.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-09]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.2.57]

مقدمه

سرطان کبد از رایج ترین سرطان ها به شمار می آید و آمار مرگ و میر ناشی از سرطان نشان می دهد که تقریباً تمامی بیماران در طی سال اول ابتلا فوت کرده اند که علت مرگ و میر بالا ابتلا به عفونت ویروس هپاتیت می باشد، متاسفانه تعداد بیماران تشخیصی در سراسر جهان به طور چشمگیری افزایش پیدا کرده و در چند دهه آینده افزایش خواهد یافت(۱). بررسی ها نشان می دهد که سلول های سرطان کبد به برخی از درمان های رایج از جمله رادیوتراپی مقاوم هستند لذا شناسایی درمان های موثر و ایمن می تواند در جهت حذف سلول های سرطانی و جلوگیری از سرطان موثر باشد(۱). نانوتکنولوژی علم تولید، شناسایی و دستکاری مواد در مقیاس نانو می باشد و دارای طیف وسیعی از کاربردها در زمینه های پزشکی شامل تشخیص، مانیتورینگ و درمان سرطان است(۲). نانوذرات فلزی شامل طیف وسیع فلزات از جمله طلا، نقره، پلاتین و پالادیوم می شوند و حتی از فلزات پایه ای چون نیکل، کبالت و مس قابل سنتز است(۳). هر یک از این ترکیبات دارای ویژگی های منحصر به فردی می باشند برای مثال می توان به نانوذرات نقره اشاره نمود. این نانوذرات با خواص ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی خود کاندیدی مناسب در جهت استفاده در پزشکی و داروسازی، بهداشتی و غیره است(۴). تولید نانوذرات با روش های مختلف فیزیکی، شیمیایی و زیستی انجام پذیر است(۵) و تمرکز آن بیشتر بر سنتز نانوذرات با خواص ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی می باشد که می توان از آن ها برای مقابله با بیماری های دژنراتیو و سرطان استفاده نمود(۶). در سنتز نانوذرات به روش های فیزیکی و شیمیایی، استفاده از ترکیبات غیر قابل تجزیه به عنوان عوامل کاهش دهنده به طور بالقوه برای محیط زیست و سیستم بیولوژیکی خطرناک است(۷). لذا، اخیراً روش زیستی سبز با استفاده از عصاره گیاهان دارویی با خواص مختلف از جمله خاصیت آنتی اکسیدانی به دلیل زمان و هزینه کمتر در سنتز نانوذرات، اهمیت خاصی به دست آورده است(۸). استفاده از نانوذرات به عنوان عوامل درمانی فرصت های جدیدی را برای پیشرفت روش های درمانی فراهم می آورد. گیاهان به دلیل عاری بودن از مواد شیمیایی سمی و هم چنین ارائه پوشش طبیعی نقش مهمی در سنتز نانوذرات ایفا می کنند(۹).

بیشترین اثرات آنتی اکسیدانی عصاره های گیاهی به دلیل حضور ترکیبات فنلی مانند فلاونوئیدها، اسیدفنولیک، تانن ها و دیترپن ها است(۱۲-۱۰). اخیراً، روند تحقیق در آنتی اکسیدان های طبیعی و آنتی اکسیدان مصنوعی منجر به غربالگری و شناسایی آنتی اکسیدان های جدید از منابع گیاهی شده است. گزارش شده است که آنتی اکسیدان مصنوعی دارای اثرات ضد ایدز، ضد انعقادی و ضد توموری است(۱۳). برآورد پتانسیل آنتی اکسیدانی و ظرفیت کاهندگی با روش های مختلفی انجام می شود. این روش ها به عنوان تست های مبتنی بر انتقال الکترون و هیدروژن طبقه بندی شده اند. DPPH، ABTS، FRAP و Folin Ciocalteu نمونه هایی از آزمایشات مبتنی بر انتقال الکترون هستند. در چنین واکنش هایی، آنتی اکسیدان های موجود در نمونه الکترون ها را به اکسیدان هایی مانند رادیکال DPPH یا یون فلزی موجود در واکنش Folin Ciocalteu انتقال می دهند. بنا بر این، با ثبت تغییرات در جذب در یک طول موج خاص، ظرفیت کل کاهش یک نمونه را می توان از یک منحنی استاندارد محاسبه کرد(۱۴). فعالیت آنتی اکسیدانی در عصاره گیاهی می تواند نقش مهمی در رفع اکسیژن تک و سه گانه، تجزیه پراکسیدها و یا خنثی سازی رادیکال های آزاد داشته باشد(۱۵). بنا بر این فرض شده است که فعالیت آنتی اکسیدانی بالاتر نانوذرات ممکن است به دلیل جذب ترجیحی ماده آنتی اکسیدان از عصاره بر روی سطح نانوذرات باشد. از جمله ویژگی های دیگر نانوذرات اثر سمیت آن ها بر سلول های سرطانی است که با توجه به نوع نانوذرات و دودمان سلولی می تواند متفاوت باشد(۱۶،۱۷). پارامترهای مختلف مانند میزان سطح، اندازه ذرات و واکنش پذیری سطح، سمیت نانوذرات را در عصاره های گیاهی تعیین می کنند(۱۸). هزاران

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-09]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.2.57]

گونه گیاهی دارای پتانسل خوب جهت ارائه درمان مستقیم و یا حاوی ترکیبات درمانی وجود دارد. گیاهان مورد توجه بسیاری از آزمایشگاه های شیمی قرار گرفته و قادر به بیوسنتز بسیاری از بیوملکول های مختلف است(۱۴). روناس گیاهی است خودرو با ساقه خاردار و ارتفاعی حدود دو متر که در مناطق مدیترانه، در شمال آفریقا و برخی مناطق آسیا می روید. در بسیاری از مجامع از این گیاه در تولید رنگ استفاده می گردد. بررسی های بیشتر نشان داده که روناس گیاه دارویی مهمی است که برای درمان بیماری های مختلف مورد استفاده قرار می گیرد، وجود ترکیبات فنول و فلاونویید این گیاه می تواند اثر آنتی اکسیدانی این گیاه را توجیه نماید(۱۹). با توجه به این که تاکنون از این گیاه به منظور سنتز نانوذرات استفاده نشده بود لذا در این مطالعه نانوذرات نقره با استفاده از گیاه روناس سنتز شد و اثرات بیولوژیک آن با تکیه بر ویژگی های آنتی اکسیدانی و سمیت سلولی بر علیه دودمان سرطان کبد در مقایسه با سلول نرمال فیبروبلاستی پوست مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش ها

مواد مورد استفاده: به منظور انجام این بررسی دو دودمان سلولی شامل سلول های سرطان کبد انسانی (HepG2) و سلول نرمال فیبروبلاست پوستی(HDF) از پژوهشکده فناوری زیستی دانشگاه فردوسی مشهد تهیه گردید. محیط کشت DMEM، سرم جنینی گاوی(FBS)، آنتی بیوتیک، تریپسین، بافر فسفات (PBS) با مارک Invitrogen تهیه گردید. ABTS، DPPH و پتاسیم پرسولفات از شرکت سیگما جهت بررسی اثر آنتی اکسیدانی تهیه گردید. تمام مواد شیمیایی مورد استفاده در سنتز نانوذرات از کمپانی مرک خریداری شد.

تهیه عصاره آبی روناس: پودر روناس(۱۰ گرم) در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر مخلوط گردید و در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد حرارت داده شد. عصاره از طریق کاغذ صافی وایتمن صاف گردید.

بیوسنتز نانوذرات نقره از عصاره گیاه روناس با روش سبز: سنتز نانوذرات نقره با استفاده از روش قربانی و همکاران با اندکی تغییر صورت گرفت. برای این منظور ۵۰۰ میلی لیتر $AgNO_3$ یک میلی مولار با ۱ میلی لیتر عصاره روناس با غلظت ۱۰۰ میلی مولار برای ۶۰ دقیقه در دمای ۳۵ درجه سانتی گراد مخلوط شد و سپس مجدداً در ۲ ساعت دیگر در دمای اتاق قرار گرفت. محصول جامد قهوه ای با استفاده از سانتریفوژ با ۱۰/۰۰۰ دور در دقیقه برای ۱۰ دقیقه و شستشوی دقیق با آب مقطر جمع آوری شد. محصولات نهایی با خشک شدن در دمای ۴۵ درجه سانتی گراد به دست آمد(۲۰).

ارزیابی توان آنتی اکسیدانی نانوذرات: سنجش میزان مهار رادیکال های آزاد یکی از بهترین روش ها برای ارزیابی توان آنتی اکسیدانی مواد به شمار می آید. از روش مهار رادیکال های آزاد ABTS و DPPH می توان به عنوان دو روش رایج به منظور سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی مواد استفاده نمود. روش DPPH اولین بار در سال ۱۹۵۸ توسط Blois مورد استفاده قرار گرفت(۲۱).

در این دو روش رادیکال های آزاد DPPH (از ارغوانی به زرد) و ABTS (از سبز به زرد) احیاء شده و رنگ آن ها تغییر می یابد و ترکیباتی که قابلیت احیاء این رادیکال های آزاد را دارند به عنوان عوامل آنتی اکسیدان در نظر گرفته می شوند.

ارزیابی میزان مهار رادیکال آزاد DPPH: این روش به دلیل ساده بودن و حساسیت بالا یکی از رایج ترین روش های مورد استفاده در ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی ترکیبات مختلف به شمار می رود(۲۲). اساس این روش بر جذب هیدروژن توسط رادیکال آزاد DPPH و تغییر رنگ آن از ارغوانی به زرد می باشد که سبب کاهش میزان جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر می گردد چرا که رادیکال های آزاد DPPH بیشترین میزان جذب را در طول موج ۵۱۷ نانومتر دارند. در این روش ۱ میلی گرم از پودر DPPH در ۱۶/۹ میلی لیتر اتانول حل شد و به عنوان محلول کاری مورد استفاده قرار گرفت. برای ارزیابی میزان مهار رادیکال های آزاد توسط نانوذرات ابتدا نیم میلی لیتر از غلظت های مختلف نانوذره که با روش رقیق سازی سریالی به دست آمده است(۳۹ تا ۱۲۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر) در میکروتیوپ آماده سازی شد و در ادامه به هر

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-09]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.2.57]

میکروتیوپ حجم برابری از رادیکال آزاد DPPH افزوده شد(۲۳). از اتانول به عنوان کنترل منفی و از BHA (آنتی اکسیدان سنتزی) به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. برای ارزیابی میزان مهار رادیکال آزاد از شاخص IC_{50} استفاده شد که اشاره دارد به غلظتی از ماده که سبب مهار ۵۰ درصد از رادیکال های آزاد می گردد. میزان این شاخص را می توان از رابطه ذیل محاسبه نمود:

ODکنترل-OD نمونه/OD کنترل×۱۰۰

ارزیابی میزان مهار رادیکال آزاد ABTS: رادیکال آزاد ABTS فعال تر از DPPH است به همین دلیل سرعت واکنش پذیری آن با ترکیبات آنتی اکسیدانی بیشتر از سایر رادیکال های آزاد می باشد. به همین دلیل به طور گسترده ای از این روش استفاده می گردد. در این روش ابتدا با استفاده از اکسیداسیون ABTS توسط پتاسیم پر سولفات رادیکال های آزاد ABTS تولید شده و سپس میزان مهار این رادیکال ها توسط ترکیبات آنتی اکسیدانی بررسی می گردد. این رادیکال های آزاد بیشترین جذب را در طول موج ۷۳۴ نانومتر دارا می باشند و لذا مهار این رادیکال ها سبب کاهش میزان جذب در این طول موج می گردد. در این روش ابتدا محلول ABTS (۷ میلی مولار) تهیه شد و سپس پتاسیم پر سولفات جهت اکسیداسیون به آن اضافه گردید در ادامه جهت کامل شدن روند اکسیداسیون و تولید رادیکال های آزاد این محلول به مدت ۱۶ ساعت در تاریکی قرار گرفت. سپس محلول حاصل تا رسیدن به جذب ۰/۰۷ در طول موج ۷۳۴ نانومتر رقیق سازی شد و به عنوان محلول کاری مورد استفاده قرار گرفت. در ادامه غلظت های مختلف نانوذره تهیه و با حجم برابر از محلول کاری ABTS مخلوط و به مدت یک ساعت در دمای اتاق و در تاریکی قرار گرفت. پس از طی انکوباسیون میزان جذب در طول موج ۷۳۴ نانومتر اندازه گیری و میزان مهار با استفاده از فرمول بالا محاسبه شد. از اتانول(کنترل منفی) و BHA (کنترل مثبت) استفاده شد(۱۵).

آزمون ارزیابی سمیت سلولی: جهت ارزیابی اثر سمیت سلولی نانوذرات از آزمون MTT استفاده شد در این بررسی تنها فاکتور غلظت مورد ارزیابی قرار گرفت به همین منظور میزان سمیت نانوذرات بر سلول ها، ۲۴ ساعت پس از تیمار ارزیابی گردید. این آزمون بر اساس احیاء MTT توسط دهیدروژنازهای میتوکندریایی سلول های زنده و ایجاد رنگ فورمازان ارغوانی رنگ صورت می گیرد. برای این منظور سلول های سرطان کبد(HepG2) و سلول های نرمال (HDF) به صورت جدا از هم به تعداد ۱×۱۰^{۵} سلول در هر چاهک درون پلیت ۹۶ خانه ای با حجم نهایی ۱۰۰ میکرولیتر کشت داده شدند و پس از گذشت ۲۴ ساعت، با غلظت های مختلف نانوذره(µg/ml ۱۰۰، ۵۰، ۲۵، ۱۲، ۶، ۵، ۲) تیمار شدند. از سلول های تیمار نشده به عنوان کنترل استفاده شد. برای هر گروه سه تکرار در نظر گرفته شد. ۲۴ ساعت پس از هر تیمار، کریستال های فورمازان تشکیل شده در حلال DMSO حل شدند و سپس در ۵۷۰ نانومتر با استفاده از الایزا ریدر میزان جذب اندازه گیری شد. در انتها درصد تکثیر سلولی به صورت نسبت OD نمونه به OD کنترل×۱۰۰ محاسبه شد و ۵۰ درصد غلظت مهاری، به عنوان IC_{50} در نظر گرفته شد(۲۴).

آنالیز آماری: از نرم افزار SPSS جهت آنالیز داده ها استفاده گردید. برای بررسی نتایج و مقایسه میانگین عصاره های مختلف از آزمون تجزیه واریانس یک طرفه ANOVA جهت مقایسه کلی و سپس از آزمون LSD استفاده شد. تمامی اندازه گیری ها برای هر نمونه سه بار تکرار شد و مقادیر به صورت میانگین±انحراف معیار گزارش گردید.

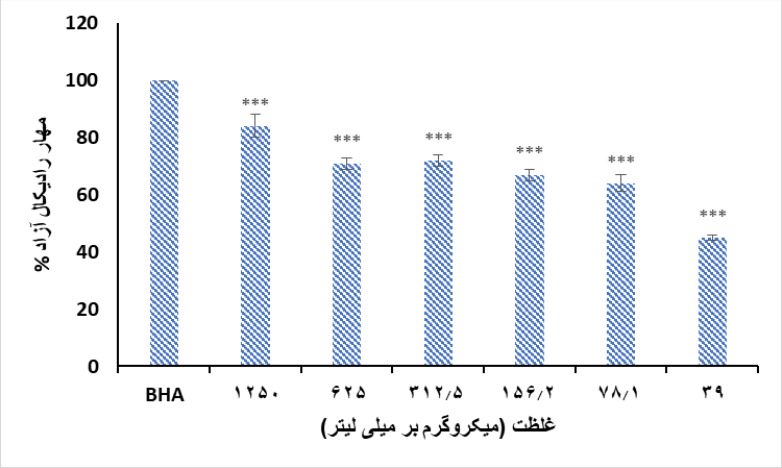
یافته های پژوهش

سنجش میزان مهار رادیکال آزاد ABTS: آنالیز داده ها نشان داد که غلظت در معرض قرارگیری با نانوذرات تاثیر معناداری بر مهار رادیکال ABTSدارد($P\leq0.001$). همان طور که داده ها نشان می دهد میزان مهار رادیکال آزاد ABTS با افزایش غلظت نانوذرات افزایش چشمگیری را نشان می دهد به طوری که در غلظت ۳۹ میکروگرم بر میلی لیتر میزان مهار ۴۵ درصد و با افزایش غلظت به ۱۲۵۰ میزان مهار

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-09]

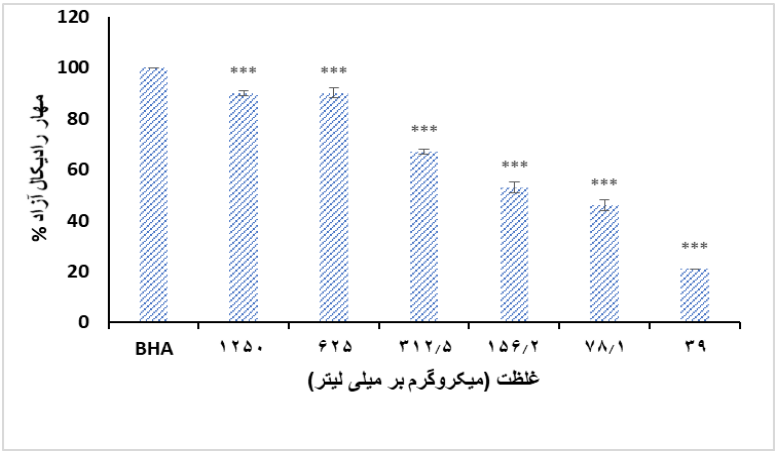
[DOI: 10.29252/sjimu.26.2.57]

۸۴ درصد افـــزایش نـــشان داد(نمـــودار شماره ۱).



نمودار شماره ۱. بررسی میزان مهار رادیکال ABTS در غلظت های مختلف نانوذرات نقره سنتز شده توسط گیاه روناس با سطح معنی داری P≤0.001***

سنجش میزان مهار رادیکال آزاد DPPH: بررسی نتایج میزان مهار رادیکال هـــای آزاد DPPH نشـــان می دهد که با افزایش غلظت نانوذرات میزان مهار نیز افزایش چشمگیری داشـــته است. مـــیزان مهـــار رادیکال های آزاد در غلظت ۳۹ میکروگرم بر میلی لیتر در حدود ۲۱ درصد می باشد و با افزایش غلظت به ۱۵۶ میکروگرم بر میلی لیتر این میزان به حدود ۵۳ درصد افزایش یافت. میزان مهار رادیکال آزاد در غلظت ۱۲۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر در حدود ۹۰ درصد است که نشان دهنده افـــزایش اثر مهـــاری نانوذرات بر رادیکال هـــای آزاد به صورت وابســـته به غلـــظت است(نمودار شماره ۲).



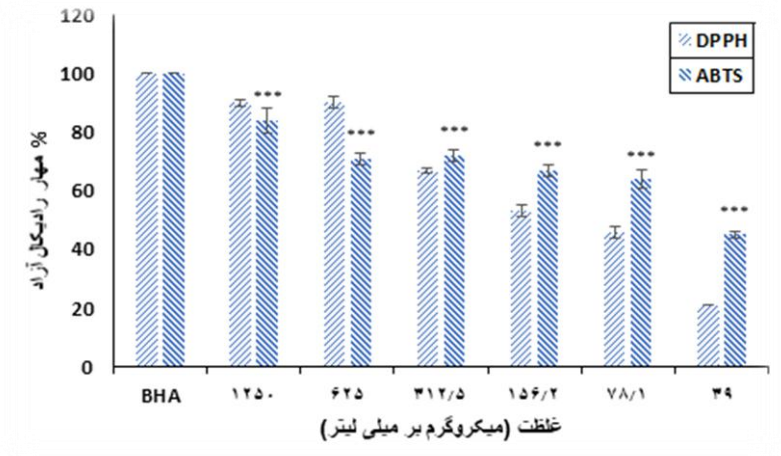
نمودار شماره ۲. بررسی میزان مهار رادیکال DPPH در غلظت های مختلف نانوذره نقره سنتز شده توسط گیاه روناس با سطح معنی داری P≤0.001***

مقایسه اثر مهاری نانوذره بر رادیکال های آزاد DPPH و ABTS با تکیه بر نمودارها نشان می دهد که این نانوذره قادر است رادیکال های آزاد ایجاد شده را به میزان زیادی مهار کند که تا حدودی با مهار رادیکال های آزاد توسط BHA برابری می کند. نانوذره در غلظت های پاییـــن تر رادیکـــال های آزاد DPPH را بهـــتر از ABTS مـــهار می کـــند اما با افـــزایش غلظت میزان مـــهار رادیـــکـــال های

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-09]

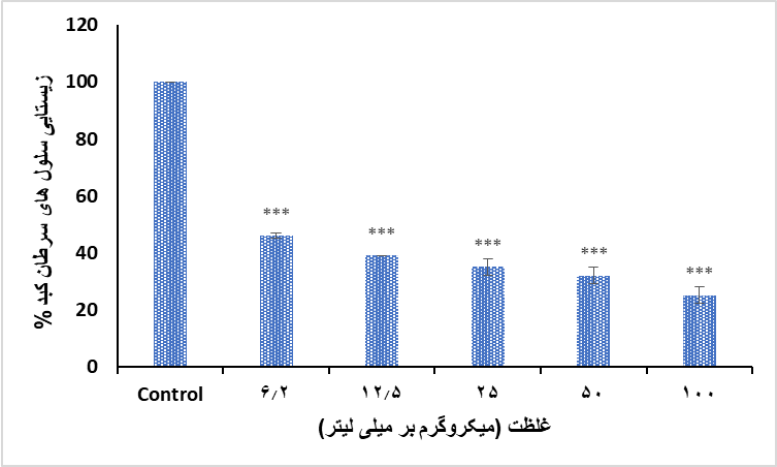
[DOI: 10.29252/sjimu.26.2.57]

ABTS بیشتر از DPPH می باشد(نمودار شماره ۳).



نمودار شماره ۳. مقایسه میزان مهار رادیکال DPPH و ABTS در غلظت های مختلف نانوذره نقره توسط گیاه روناس با سطح معنی داری P≤0.001***

ارزیابی میزان سمیت نانوذرات بر سلول های HDF و HepG2: درصد زیستایی سلول های تیمار شده نسبت به سلول های تیمار نشده در غلظت های(µg/ml ۱۰۰، ۵۰، ۲۵، ۱۲، ۶، ۵، ۲) در دو دودمان سلولی مورد بررسی محاسبه گردید(نمودار شماره ۴). آنالیز داده ها نشان می دهد که نانوذرات نقره اثر مهاری بر سلول های سرطان کبد انسانی داشته و قادر است این سلول ها را در غلظت های مختلف مهار نماید. نتایج نشان می دهد میزان مهار نانوذرات بر سلول های سرطانی به غلظت تیمار سلول ها با نانوذرات بستگی دارد. به طوری که با افزایش غلظت نانوذرات زیستایی سلول ها کاهش و سمیت نانوذرات افزایش می یابد. ۶ میکروگرم بر میلی لیتر غلظتی است که در آن حدود ۵۰ درصد از سلول ها دچار آپاپتوز شده اند. بررسی میزان سمیت نانوذرات بر سلول های HepG2 نشان می دهد که نانوذرات اثر مهاری شدید بر سلول ها داشته و قادر است رشد سلول ها را در غلظت های پایین نیز مهار کند.



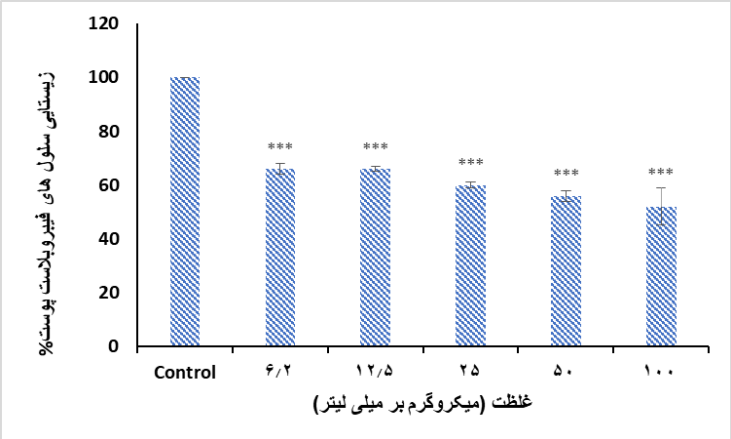
نمودار شماره ۴. بررسی درصد زیستایی سلول های سرطان کبد انسانی در تیمار با غلظت های مختلف نانوذره که نشان دهنده اثر سمیت بالا نانوذرات سنتز شده بر سلول ها می باشد با سطح معنی داری P≤0.001***

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-09]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.2.57]

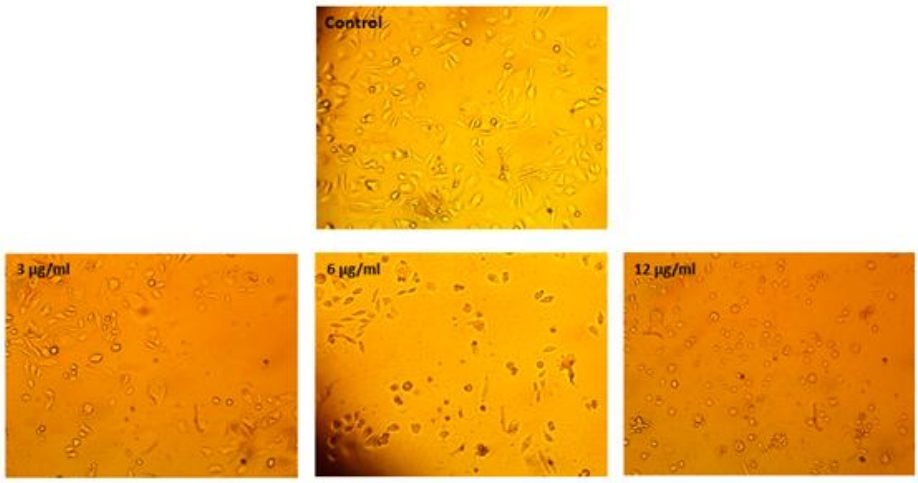
[DOI: 10.29252/sjimu.26.2.57] [Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-09]

نمودار شماره ۵ اثر سمیت نانوذرات را بر سلول های نرمال نشان می دهد. همان طور که مشاهده می گردد سلول های نرمال نسبت به سلول های سرطانی در تیمار نانوذرات مقاوم بوده و زیستایی بالاتری را نشان می دهد. نتایج بالا نشان می دهد که نانوذره سلول های سرطانی را نسبت به سلول نرمال در غلظت پایین تر و قدرت بالاتری سرکوب می کند که همین امر این نانوذرات را کاندیدی مناسب جهت استفاده در درمان سرطان می کند.



نمودار شماره ۵. بررسی درصد زیستایی سلول های نرمال پوست انسانی در تیمار با غلظت های مختلف نانوذره و با سطح معنی داری ***P≤0.001

بررسی تغییرات مورفولوژی سلول های تیمار شده با نانوذره: اثر سمیت نانوذرات نقره در غلظت های بالاتر تغییرات مورفولوژی بسیار واضحی را سبب شد، همان طور که در شکل شماره ۱ نشان داده شد مورفولوژی سلول های تیمار نشده پس از ۲۴ ساعت به صورت دوکی با هسته مشخص و در اندازه های یکسان می باشد. اما با افزایش غلظت نانوذرات سلول ها تغییراتی را از قبیل کاهش در اندازه و سایز، تغییر در شکل، چین خوردگی و جوانه زنی سیتوپلاسمی را نشان دادند که این نتایج نشان دهنده اثر سمیت نانوذرات بر سلول های سرطانی می باشد.



شکل شماره ۱. بررسی تغییرات مورفولوژیکی سلول های HepG2 تیمار شده با غلظت های مختلف نانوذره در مقایسه با سلول های تیمار نشده

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-09]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.2.57]

بحث و نتیجه گیری

علم نانو تکنولوژی و سنتز مواد در مقیاس نانو امروزه بسیار مورد توجه قرار دارد. نانوذرات دارای خواص فارماکولوژیکی متعددی هستند که همین امر منجر به استفاده وسیع آن ها در مباحث مربوط به سلامت و دارو شده است. سنتز نانوذرات به روش های بیولوژیکی به دلیل سادگی و سمیت کمتر جایگزین روش های فیزیکی و شیمیایی شده و رواج زیادی پیدا نموده است(۲۵). استفاده از گیاهان در زمینه سنتز نانو به دلیل سمیت کم، زیست سازگار بودن و خواص دارویی گیاهان استفاده شده به سرعت در حال انجام است(۸). فاکتورهای بسیاری از جمله اندازه و مورفولوژی بر روی مکانیسم های سلولی نانوذرات موثر می باشد، بررسی ها نشان می دهد که اندازه نانوذرات با میزان جذب آن توسط سلول رابطه معکوس دارد به طوری که با کاهش اندازه میزان جذب افزایش می یابد و بالعکس(۲۶)، از طرفی نانوذرات با شکل کروی جذب بهتری نسبت به نانوذرات میله ای دارد(۲۶) بنا بر این با تنوع نانوذرات اثرات آن ها نیز متنوع است(۲۷). لذا بررسی های مختلفی بر روی نانوذرات سنتز شده به روش های مختلف صورت گرفته است. مطالعات مختلفی بر روی ویژگی های آنتی اکسیدانی و ضد سرطانی نانوذرات سنتز شده صورت گرفته است(۲۸،۲۹) که با مطالعه حاضر قابل مقایسه و بررسی می باشد. در مطالعه حاضر اثر آنتی اکسیدانی نانوذره سنتز شده به روش سبز از گیاه روناس با استفاده از سنجش میزان مهار رادیکال های آزاد DPPH و ABTS بررسی شد و نتایج نشان داد که میزان مهار رادیکال های آزاد با افزایش غلظت افزایش می یابد. بررسی میزان مهار رادیکال آزاد DPPH با استفاده از نانوذرات نقره سنتز شده از گیاهان chenopodium murale، توت هندی، Piper longum و Bergenia ciliate نشان داد که میزان مهار رادیکال های وابسته به غلظت نانوذرات و تمامی نانوذرات سنتز شده از گیاهان فوق قادر به مهار رادیکال های آزاد DPPH می باشند(۳۲-۳۰، ۲۳). در مطالعه دیگری در سال ۲۰۱۳میزان مهار رادیکال های آزاد ABTS و DPPH توسط نانوذره نقره سنتز شده از میوه زردآلو Prunus armeniaca مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد که نانوذره سنتز شده قادر است در غلظت ۱۶/۱۸ و ۷/۱۲ میزان ۵۰ درصد از رادیکال های آزاد DPPH و ABTS را مهار کند(۳۳). مقایسه این نتیجه با نتایج بررسی حاضر نشان می دهد که نانوذره سنتز شده از روناس دارای اثر آنتی اکسیدانی بسیار قوی بر روی هر دو رادیکال آزاد مورد بررسی می باشد. در مطالعه دیگری که در سال ۲۰۱۴ توسط Mittal و همکاران صورت گرفت اثر مهار نانوذره نقره سنتز شده از گیاه S. cumini بر رادیکال های آزاد ABTS و DPPH ارزیابی شد. بررسی مهار رادیکال های آزاد DPPH و ABTS غلظت میانه ای حدود ۲۲/۱۹ و ۶۶/۳۸ میکرولیتر را نشان داد که مقایسه با نتیجه مطالعه حاضر توان آنتی اکسیدانی بالای نانوذره نقره روناس را نشان می دهد(۱۵). در مطالعه حاضر اثر سمیت نانوذره بر سلول های سرطان کبد(HepG2) و نرمال(HDF) مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد که نانوذره سنتز شده قادر است سلول ها را به ترتیب با IC_{50} حدود ۶ و ۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر مهار نماید. از آن جا که سمیت نانوذرات بر دودمان های مختلف بسته به ویژگی نانوذرات و نوع دودمان مورد بررسی متفاوت می باشد لذا مطالعات مختلفی در این زمینه انجام شده است. مطالعات نشان می دهد که نقره به گروه SH موجود در سطح غشای سلولی متصل می شود و منجر به تغییرات مورفولوژیکی نفوذ پذیری غشاء پلاسما می شود. علاوه بر این، نانوذرات نقره باعث مرگ سلول از طریق تاثیرگذاری بر زنجیره تنفسی می شوند و به این ترتیب قادر به مهار سلول ها است(۳۴). در مطالعه ای در سال ۲۰۱۴ اثر سمیت نانوذرات نقره سنتز شده از عصاره زردآلو بر سلول های لنفوما(Dalton lymphoma) مورد ارزیابی قرار گرفت و غلظت میانه نانوذرات نقره زردآلو حدود ۵۰ میکرو گرم گزارش شد که در مقایسه با نانوذرات روناس µg/ml ۶ سمیت بسیار پایینی را نشان می دهد(۱۵). مطالعه انجام شده در سال ۲۰۱۴ بر روی سلول های اپیتلیال لثه انسانی نشان داد که

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-09]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.2.57]

تیمار این سلول ها با نانـوذرات نقـره می تواند در غلظت های پایین زیر ۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر زیستایی سلول ها را تحت تاثیر قرار دهد و منجر به القاء آپوپتوز و مرگ سلولی شود(۳۵). همان طور که نتایج بالا نشان می دهد نانوذرات سنتز شده دارای اثرات متفاوتی می باشند. مقایسه نتایج بالا نشـان می دهد که نانوذرات نقـره رونـاس دارای اثر آنتی اکسیدان بسیار بالای است. هم چنین اثر آن بر سلول های سرطانی نشان می دهد که این نانوذرات قادر است در غلظت پایین درصد زیادی از زیستایی سلول ها را کاهش دهد که نشان دهنده نقش ارزنده این نانوذرات در مهار سلول های سرطانی است. بررسی نتایج بالا نشان می دهد که نانوذرات نقره سنتز شده از روناس با ویژگی های آنتی اکسیدانی می تواند با انجام بررسی های بیشتر به عنوان مکمل آنتی اکسیدان مورد استفاده قرار گیرد هم چنین پتانسیل مهاری این نانوذره بر سلول هـای سـرطانی می تواند این نانوذرات را به عنـوان کانـدیـدی منـاسـب جـهت پیشگیـری و درمـان سـرطان مـعرفی کند.

References

1.Guo M, Sun Y, Zhang XD. Enhanced radiation therapy of gold nanoparticles in liver cancer. Appl Sci2a017;7:232. Doi:10.3390/app7030232.

2.Kim PS, Djazayeri S, Zeineldin R. Novel nanotechnology approaches to diagnosis and therapy of ovarian cancer. Gynecol Oncol2011; 120:393-403. Doi.org/10.1016/j.ygyno.2010.11.029.

3.Rai M, Yadav A, Gade A. Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. Biotechnol Adv 2009;27:76-83. Doi.org/10.1016/j.biotechadv.2008.09.002.

4.Narayanan KB, Sakthivel N. Extracellular synthesis of silver nanoparticles using the leaf extract of Coleus amboinicus Lour. Mate Res Bull2011;46:1708-13. Doi.org/10.1016/j.materresbull.2011.05.041.

5.Janne PA, von Pawel J, Cohen RB, Crino L, Butts CA, Olson SS, et al. Multicenter randomized phase II trial of CI-1033, an irreversible pan-ERBB inhibitor for previously treated advanced non small cell lung cancer. J Clin Oncol 2007;25:3936-44. Doi: 10.1200/JCO.2007.11.1336.

6. Sonpavde G, Hutson TE, Sternberg CN. Pazopanib a potent orally administered small molecule multitargeted tyrosine kinase inhibitor for renal cell carcinoma. Exp Opin Invest Drugs2008; 17:253-61. Doi.org/10.1517/13543784.17.2.253.

7.Mittal AK, Bhaumik J, Kumar S, Banerjee UC. Biosynthesis of silver nanoparticles: elucidation of prospective mechanism and therapeutic potential. J Coll Inter Sci 2014;415:39-47. Doi.org/10.1016/j.jcis.2013.10.018.

8.Das S, Schmieder A, Pan D, Senpan A, Caruthers S, Wickline S, et al. A nanoparticle based therapy to target bronchial angiogenesis. Am Thorac Soc 2013;2: 591-9.

9.Gong C, Deng S, Wu Q, Xiang M, Wei X, Li L, et al. Improving antiangiogenesis and anti-tumor activity of curcumin by biodegradable polymeric micelles. Biomaterials 2013;34:1413-32. Doi.org/10.1016/j.biomaterials.2012.10.068.

10.Wu QJ, Gong CY, Luo ST, Zhang DM, Zhang S, Shi HS, et al. AAV mediated human PEDF inhibits tumor growth and metastasis in murine colorectal peritoneal carcinomatosis model. BMC Cancer2012;12:129.

11.Goodarzi V, Zamani H, Bajuli L, Moradshahi A. Evaluation of antioxidant potential and reduction capacity of some plant extracts in silver nanoparticles synthesis. Mole Biol Res Com2014;3:165.Doi:10.1186/1471-2407-12-129.

12.Khandia R, Munjal A, Bangrey R, Mehra R, Dhama K, Sharma N. Evaluation of silver nanoparticle mediated reduction of neovascularisation angiogenesis in chicken model. Adv Anim Vet Sci2015;3:372-6. Doi.org/10.14737/journal.aavs/2015/3.7.372.376.

13.Chueh PJ, Liang RY, Lee YH, Zeng ZM, Chuang SM. Differential cytotoxic effects of gold nanoparticles in different

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-09]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.2.57]

mammalian cell lines. J Hazard Mate 2014;264:303-
12.Doi.org/10.1016/j.jhazmat.2013.11.031.
14.Lozano T, Rey M, Rojas E, Moya S, Fleddermann J, Estrelalopis I, et al. Cytotoxicity effects of metal oxide nanoparticles in human tumor cell lines. J Phys Con Ser2011;3:72-6. Doi:10.1088/1742-6596/304/1/012046.
15.Jacob SJP, Finub J, Narayanan A. Synthesis of silver nanoparticles using piper longum leaf extracts and its cytotoxic activity against Hep-2 cell line. Coll Surf Biointer2012;91:212-
4.Doi.org/10.1016/j.colsurfb.2011.11.001.
16.Gurunathan S, Lee KJ, Kalishwaralal K, Sheikpranbabu S, Vaidyanathan R, Eom SH . Antiangiogenic properties of silver nanoparticles. Biomaterials 2009;30:6341-50. Doi: 10.1016/j.biomaterials.2009.08.008.
17.Ghorbani P, Soltani M, Homayounitabrizi M, Namvar F, Azizi S, Mohammad R, et al. Sumac silver novel biodegradable nano composite for biomedical application antibacterial activity. Molecules 2015;20:12946-58. Doi.org/10.3390/molecules200712946.
18.Okafor F, Janen A, Kukhtareva T, Edwards V, Curley M. Green synthesis of silver nanoparticles, their characterization, application and antibacterial activity. Int J Environ Res Publ Health 2013;10:5221-38. Doi:10.3390/ijerph10105221.
19.Alam MN, Bristi NJ, Rafiquzzaman M. Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. Saudi Pharmaceut J 2013;21:143-52. Doi.org/10.1016/j.jsps.2012.05.002.
20.Will S, Favaron P, Pavez M, Florentino L, Soares D, Oliveira F, et al. Bactericidal silver nanoparticles present an antiangiogenic effect in the chorioallantoic membrane model. Sci Aga Microbial Path Com Curr Res Technological Adv2011;1:219-27.
21.Folkman J. Angiogenesis. Annu Rev Med2006;57:1-18. Doi.org/10.1146/annurev.med.57.121304.131306.
22.Patil S, Rajiv P, Sivaraj R. an investigation of antioxidant and cytotoxic properties of green synthesized silver nanoparticels . Indo Am J PharmaceutSci2015;2:1453-9.
23.Shin SW, Song IH, Um SH. Role of physicochemical properties in nanoparticle toxicity. Nanomaterials 2015;5:1351-65. Doi.org/10.3390/nano5031351.
24.Shukla VK, Pandey S, Pandey AC. Green synthesis of silver nanoparticles using neem leaf Azadirachta indica extract. AIP Con Proce2010; 2:123-7. Doi.org/10.1063/1.3504340.
25.Ribatti D. The chick embryo chorioallantoic membrane as an in vivo assay to study antiangiogenesis. Pharmaceuticals2010;3:482-513. Doi.org/10.3390/ph3030482.
26.Baharara J, Namvar F, Mousavi M, Ramezani T, Mohamad R. Anti-angiogenesis effect of biogenic silver nanoparticles synthesized using saliva officinalis on chick chorioalantoic membrane. Molecules2014;19:13498-508. Doi:10.3390/molecules190913498.
27.Kang K, Lim DH, Choi IH, Kang T, Lee K, Moon EY, et al. Vascular tube formation and angiogenesis induced by polyvinylpyrrolidone coated silver nanoparticles. Toxicology letters. 2011;205:227-34. Doi.org/10.1016/j.toxlet.2011.05.1033.
28.Zhang XF, Shen W, Gurunathan S. Silver nanoparticle mediated cellular responses in various cell lines an in vitro model. Int J Mole Sci2016;17:1603. Doi.org/10.3390/ijms17101603.
29.Kalishwaralal K, Sheikpranbabu S, BarathManiKanth S, Haribalaganesh R, Ramkumarpandian S, Gurunathan S. Gold nanoparticles inhibit vascular endothelial growth factor induced angiogenesis and vascular permeability via Src dependent pathway in retinal endothelial cells. Angiogenesis2011;14:29-45. Doi.org/10.1007/s10456-011-9225-1.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-09]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.2.57]

Antioxidant And Cytotoxic Properties of Green Synthesized Silver Nanoparticles from Rubia tinctorum

*Ghandehari S[1], Homayounitabrizi M [*1], Ardalan P[2]*

(Received: September 18, 2017 Accepted: December31, 2017)

Abstract

Introduction: Nanotechnology and nanoparticles have significantly been considered for their potential in various fields including medicine and treatment. Silver nanoparticles are the most important nanoparticles that play an important role in treatment of cancer. Previous studies showed that silver nanoparticles have several properties such as antioxidants, anti-cancer and antibacterial. Therefore, in this study, the antioxidant properties of silver nanoparticles synthesized by Rubina tinctorum L (Ru-AgNPs) were investigated, using standard protocols. Subsequently, the cytotoxicity effects of the synthesized nanoparticles were evaluated on cancer cells) HepG2) compared to normal ones (HDF).

Materials & Methods: In this study, the antioxidant effect of Ru-AgNPs was evaluated using ABTS and DPPH free radicals scavenging assay. The MTT procedure was used to evaluate the cytotoxic properties of the nanoparticle against two cell lines examined 24 hours after exposure.

Findings: The results showed that Ru-AgNPs was able to inhibit ABTS and DPPH free radicals depending on the concentration. The MTT results demonstrated that this nanoparticle can inhibit liver cancer cells in very low concentrations (IC_{50}: 6µg/ml), but does not have an inhibitory effect in similar concentration on normal cells (IC_{50}: 100µg/ml).

Conclusion & Discussion: Our results show that Ru-AgNPs has an antioxidant effect and is able to inhibit the HepG2 cells in a low concentration too, but it does not have any toxic effects in a similar concentration on HDF cells, which makes this nanoparticle a suitable candidate for use in inhibiting cancerous cells.

Keywords: silver nanoparticles, Rubia tinctorum plant, antioxidant, cytotoxic

1. Dept of Biology, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran
2. Dept of Chemistry, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran
Corresponding author Email address: mhomayouni6@gmail.com

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-09]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.2.57]