



## بررسی مقایسه ای اثرات ضد میکروبی، سیتوتوکسیک و آپوپتوتیک نانوذرات نقره سنتز شده توسط عصاره گیاه مارچوبه با نانوذرات نقره تجاری

روژان رجبی<sup>۱</sup>، سید محمد مهدی حمیدی<sup>۱\*</sup>، امیر میرزایی<sup>۲</sup>

۱- گروه زیست شناسی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- گروه زیست شناسی، واحد رودهن، دانشگاه آزاد اسلامی، رودهن، ایران

### چکیده

#### مقدمه

امروزه نانوذرات فلزی بخصوص نانوذرات نقره در زمینه پزشکی و درمانی حایز اهمیت هستند. هدف از این مطالعه سنتز نانوذره نقره توسط عصاره گیاه مارچوبه و بررسی مقایسه ای اثرات ضد میکروبی، سیتوتوکسیک و آپوپتوتیک نانوذرات نقره سنتز شده و تجاری می باشد.

#### مواد و روش ها

در این مطالعه توصیفی، نانوذرات نقره توسط عصاره گیاه مارچوبه سنتز گردید. خصوصیات فیزیکی- شیمیایی آن توسط روش های UV-vis، SEM، TEM، FTIR، XRD و EDX بررسی شد. در ادامه خاصیت ضد میکروبی نانوذرات نقره سنتز شده و تجاری با روش میکروداپلوشن و اثرات سیتوتوکسیک و آپوپتوتیک آنها بر روی رده سلولی سرطان پستان (MCF-7) به ترتیب با استفاده از روش های MTT و فلوسیتومتری در غلظت های ۳/۱۲۵ تا ۱۰۰ میکروگرم در میلی لیتر مطالعه شد.

#### یافته ها

نانوذرات نقره سنتز شده پیک جذبی ۴۳۸ نانومتر را در UV-vis نشان دادند. نتایج حاصل از SEM، TEM، XRD، FTIR و EDX نشان داد که نانوذرات نقره سنتز شده دارای ساختار کروی، دارای میانگین اندازه ۱۲/۹۶ نانومتر و دارای خلوص ۹۰/۵ درصد بودند. نتایج میکروداپلوشن نشان داد که نانوذرات نقره سنتز شده دارای اثرات ضد میکروبی معنادتری نسبت به نانوذرات نقره تجاری بودند. همچنین نتایج MTT و فلوسیتومتری نشان داد که نانوذرات نقره سنتز شده در غلظت های ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم در میلی لیتر خاصیت سیتوتوکسیک و آپوپتوتیک معنادتری نسبت به نانوذرات نقره تجاری دارند.

#### نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که نانوذرات نقره سنتز شده نسبت به نانوذرات نقره تجاری دارای اثرات بیولوژیکی معنادتری می باشند و بنابراین این نانوذرات می توانند به عنوان کاندید دارویی مورد توجه قرار گیرند.

#### کلیدواژه ها

نانوذرات نقره، مارچوبه، اثرات ضد میکروبی، اثرات سیتوتوکسیک، نانوذرات نقره تجاری

### مقاله پژوهشی اصیل

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۳/۰۴

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۴/۱۷

\*نویسنده مسئول: سید محمد

مهدی حمیدی، گروه زیست

شناسی، واحد تهران مرکزی،

دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

تلفن: ۰۲۱ ۴۴۶۰۰۱۸۲

پست الکترونیک:

m.hamdi@iauctb.ac.ir

## مقدمه

گلداری است که بومی بیشتر مناطق اروپا، آفریقای شمالی و غرب آسیا است. محل کاشت آن در ایران، خوی، تبریز، نواحی مختلف البرز، قصر قجر، جلفای اصفهان، اراک، کرمانشاه، جنوب ایران، و مهارلو در شیراز است (۸). این گیاه به عنوان یک سبزی خوراکی به صورت خام یا پخته استفاده می شود. آنتی اکسیدان های موجود در مارچوبه ویتامین A، بتاکاروتن، ویتامین E، روی، منیزیم و سلنیوم می باشد. همچنین مواد شیمیایی فعال در مارچوبه به علت کاهش التهاب می توانند فعالیت متابولیکی سلول های سرطانی را تغییر دهند. مطالعات متعددی در رابطه با اثرات ضدسرطانی مارچوبه بر سرطان کبد صورت گرفته است و نشان داده شده که سرطان کبد به وسیله مواد آنتی اکسیدانی فعال موجود در مارچوبه متوقف گردیده است (۹). تاکنون از گیاهان مختلفی مانند پلومباگو زیلانسیا<sup>۲</sup>، آلبیزیا آدیانتیفولیا<sup>۳</sup>، کرایزانتوم ایندیکوم<sup>۴</sup>، اشیلا بیبرستینی<sup>۵</sup>، آکاسیا لئوسوفلیا<sup>۶</sup>، لانتانا کامارا<sup>۷</sup> جهت سنتز نانوذرات نقره استفاده کرده اند (۱۰). بهبودی و همکارانش در سال ۲۰۱۹ با استفاده از عصاره گیاه سیکوریوم اینتیبوس<sup>۸</sup> نانوذرات نقره سنتز کرده و اثرات ضدسرطانی آن را بر روی رده سلولی سرطان پستان (MCF-7) مورد مطالعه قرار دادند. نتایج این مطالعه نشان داد که سنتز نانوذرات نقره با استفاده از عصاره این گیاه آسان و ارزان می باشد و نانوذرات نقره دارای اثرات سمیت سلولی معناداری بر روی رده سلولی MCF-7 باشد (۱۱).

امروزه نانوذرات به دلیل کاربردهای فراوان در دارورسانی، جهت درمان بیماری های میکروبی و سرطان توجه محققان را به خود جلب کرده است. به دلیل سایز کوچک نانوذرات (۱ تا ۱۰۰ نانومتر)، این ساختارها دارای خصوصیات فیزیکی و شیمیایی و بیولوژیکی منحصر به فردی می باشند (۲-۱). در میان نانوذرات، نانوذرات فلزی دارای اهمیت ویژه ای هستند و توسط روش های فیزیکی و شیمیایی سنتز می شوند. در سنتز شیمیایی نانوذرات فلزی، عوامل احیا کننده شیمیایی مانند سدیم بروهیدرید و هیدرازین می توانند واکنش های احیا یون های فلزی را به نانوذرات فلزی احیا کنند (۳). با این حال مواد مورد استفاده در این روش سمی و خطرناک هستند و نانوذرات تولید شده فاقد سازگاری زیستی بوده و از نظر فیزیولوژیکی برای تست های آزمایشگاهی مناسب نیستند (۴). برای غلبه بر این مشکلات، امروزه از روش های سنتز سبز جهت سنتز نانوذرات استفاده می کنند که از نظر اقتصادی مقرون به صرفه بوده و دوستدار محیط زیست می باشد (۵). برای سنتز سبز نانوذرات فلزی، عصاره گیاهان به عنوان ماده احیا کننده بجای ترکیبات شیمیایی سمی استفاده می شود (۶). عصاره گیاهان، علاوه بر خاصیت احیا کنندگی به عنوان ماده پایدار کننده نیز عمل می کند. سنتز نانوذرات فلزی توسط عصاره گیاهان تک مرحله ای و سریع می باشد (۷). عصاره گیاهان دارای متابولیت های اولیه و ثانویه می باشند که می توانند خاصیت احیا کنندگی را ایجاد کنند. یکی از نانوذرات فلزی که امروزه توسط عصاره گیاهان سنتز می شود، نانوذرات نقره می باشد (۸). در این مطالعه از عصاره گیاه مارچوبه برای اولین بار جهت سنتز نانوذرات نقره استفاده شد که تاکنون مطالعه ای در این زمینه صورت نگرفته است. گیاه مارچوبه، گیاهی

<sup>۱</sup> *Asparagus khorasanensis*<sup>۲</sup> *Plumbago zeylanica*<sup>۳</sup> *Albizia adianthifolia*<sup>۴</sup> *Chrysanthemum indicum L*<sup>۵</sup> *Achillea biebersteinii*<sup>۶</sup> *Acacia leucophloea*<sup>۷</sup> *Lantana camara*<sup>۸</sup> *Cichorium intybus*



استفاده شد (۱۷). برای تهیه عصاره اتانولی، میزان ۴۰ گرم از گیاه را به ۱۰۰ میلی لیتر از اتانول (مرک، آلمان) اضافه نموده و به مدت ۱۵ دقیقه جوشانده شد. عصاره بدست آمده توسط کاغذ صافی فیلتر شد. جهت سنتز نانوذرات نقره، از روش رسوب گذاری با احیای یون های نقره توسط عصاره گیاه مارچوبه انجام گرفت. بدین صورت که نانوذرات نقره با افزودن ۲ میلی لیتر عصاره با غلظت ۰/۰۰۱ میلی مولار از نیترات نقره (مرک، آلمان) تحت شرایط دمایی ۶۰ درجه سانتی گراد و هم زدن سنتز شدند. احیای کامل یون های نقره به نانوذرات نقره با تغییر رنگ محیط مشخص می شود. پس از سپری شدن یک ساعت از زمان واکنش و تغییر رنگ محلول، سه مرتبه شستشوی رسوب با آب مقطر انجام می گیرد. تمامی مراحل شستشو با دور ۱۳۰۰۰ rpm به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ می گردد. در نهایت رسوب نهایی بعد از خشک شدن در شیشه ساعت جمع آوری می شود (۱۸).

### بررسی ساختار نانوذرات نقره سنتز شده

بعد از گذشت ۶۰ دقیقه از زمان واکنش رسوب گذاری، و تغییر رنگ واکنش، آنالیز طیف سنجی مرئی فرابنفش نانوذرات نقره با استفاده از دستگاه طیف سنجی UV-vis (schimadzu UV2550، ژاپن) بین ۲۰۰ تا ۷۰۰ نانومتر و طیف سنجی تبدیل فوریه مادون قرمز<sup>۱</sup> مورد ارزیابی قرار گرفت. تفرق اشعه ایکس امکان شناخت نوع ساختار کریستالوگرافی نانوذرات نقره را فراهم می کند. در این تحقیق آزمون اشعه ایکس توسط دستگاه XRD با تشعشع لامپ CuKα، در دامنه ۰ تا ۱۱۰ درجه انجام شد. به منظور بررسی ریخت شناسی و تایید اندازه نانوذرات نقره، یک قطره از نمونه سوسپانسیونی ذرات بر روی گرید فیلم کربنی قرار داده شد و پس از خشک شدن آن در دمای آزمایشگاه با

بطور کلی نانوذرات نقره دارای کاربردهای فراوان در علم پزشکی می باشد. امروزه از نانوذرات نقره در باندهای پزشکی، البسه، سواب و سوندها استفاده می شود (۱۲). یکی از مهمترین خواص زیستی نانوذرات نقره، خاصیت ضد میکروبی و ضد سرطانی آن می باشد، بطوریکه مطالعات نشان می دهد نانوذرات نقره دارای اثرات معناداری علیه باکتری های گرم مثبت و منفی می باشند (۱۳). هم چنین محققین نشان داده اند که نانوذرات نقره دارای اثرات ضد میکروبی علیه باکتری های مقاوم به دارو می باشند، بطوریکه فاکتورهایی مانند اندازه، شکل و غلظت نانوذره در این میان حایز اهمیت است (۱۴). کاربرد دیگر نانوذرات نقره، خاصیت ضد سرطانی می باشد و می توانند با استفاده از فرایند آپوپتوز که ناشی از ایجاد رادیکال های سمی اکسیژن می باشد، باعث از بین آنها شوند (۱۵). رادیکال های سمی اکسیژن در سلول افزایش می یابد و بطور همزمان سطح گلوتاتیون کاهش می یابد و غشای میتوکندری تغییر می یابد و منجر به آپوپتوز می شود (۱۶). بنا به کاربردهای وسیع نانوذرات نقره، هدف از این مطالعه سنتز نانوذرات نقره با استفاده از عصاره گیاه مارچوبه و بررسی مقایسه ای اثرات ضد میکروبی، سیتوتوکسیک و آپوپتوتیک نانوذرات نقره سنتز شده با نانوذرات نقره تجاری با استفاده از روش های میکرو دایلوژن، MTT و فلوسیتومتری می باشد.

### مواد و روش ها

#### عصاره گیری و سنتز نانوذرات نقره

گیاه مارچوبه از بانک گیاهی مرکز ذخایر زیستی با شماره هرباریومی ۱۳۲۲ خریداری شد. اندام هوایی گیاه ابتدا در جریان هوا قرار داده و سپس در سایه کاملاً خشک شدند. برگ ها توسط دستگاه آسیاب برقی کاملاً پودر گردیده و درون ظرف های شیشه ای نگهداری شدند. از پودر تهیه شده برای عصاره گیری اتانولی با استفاده از روش ماسراسیون

<sup>۱</sup> Fourier-Transform Infrared Spectroscopy (FTIR)

<sup>۲</sup> X-Ray Diffraction (XRD)

استفاده از دستگاه میکروسکوپ الکترونی گذاره (TEM) (XL30 فیلیپس، ژاپن)، با ولتاژ شتاب دهنده 120 Kv تصویر برداری شد. بررسی ریخت شناسی و اندازه نانوذرات نقره با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی<sup>۱</sup> (JSM 6400، ژاپن) بررسی شد. تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی و مطالعه نقطه به نقطه، جهت بررسی اندازه و مورفولوژی نانوذرات پس از پوشش دهی با طلا در ولتاژ زیر 30 KV و تحت فشار خلاء (10-5 Torr) با استفاده از میکروسکوپ الکترونی مورد مطالعه قرار گرفت. نانوذرات در مقداری آب حل شده و سوسپانسیون حاصل روی گرید طلا مورد تصویربرداری SEM قرار گرفت. بدین منظور از دستگاه لایه نشانی طلا استفاده شد. هم چنین طیف پراکندگی عنصری اشعه ایکس<sup>۲</sup> (Siemens، آلمان) به منظور بررسی میزان تولید نانوذره نقره مورد استفاده قرار گرفت.

بررسی اثرات ضد میکروبی نانوذرات نقره سنتز شده و تجاری

### بررسی اثرات سیتوتوکسیک نانوذرات نقره سنتز شده

#### و تجاری

در این مطالعه، از نانوذرات نقره سنتز شده و نانو ذرات نقره تجاری (سیگماآلدريج، آلمان) با کد 730777 جهت مطالعه اثرات ضد میکروبی استفاده گردید. اندازه نانوذرات نقره تجاری 100 نانومتر (توسط میکروسکوپ TEM)، دارای غلظت 0/02 میلی گرم/ میلی لیتر و دانسیته 0/9978 سانتی متر مکعب/ گرم بود. در این تست از باکتری های استاندارد/ استافیلوکوکوس/ اورئوس<sup>۳</sup> (ATCC 6538)، باسیلوس سرئوس<sup>۴</sup> (ATCC 14579)، اشرشیا کلی<sup>۵</sup> (ATCC 25922) و سودوموناس آئروژینوزا<sup>۶</sup>

به منظور بررسی اثرات سیتوتوکسیک نانوذرات نقره سنتز شده و تجاری

به منظور بررسی اثرات سیتوتوکسیک نانوذرات نقره در رده سلولی سرطان پستان (MCF-7) از روش MTT<sup>۷</sup> (سیگما، آلمان) استفاده گردید. برای انجام این تست، ابتدا تعداد 10<sup>۴</sup> × 5 عدد سلول در پلیت 96 خانه ای کشت داده شدند. سپس سلول ها تحت تیمار غلظت های 3/125 تا 100 میکروگرم در میلی لیتر از نانوذرات نقره سنتز شده و تجاری قرار گرفتند و به مدت 24 ساعت انکوبه شدند. پس از این مدت زمان، 20 میکرولیتر از رنگ MTT با غلظت 5 میلی گرم در میلی لیتر به چاهک ها اضافه گردید و به مدت 3 ساعت در انکوباتور قرار گرفت. سپس به هر چاهک 100

<sup>۱</sup> Scanning Electronic Microscope (SEM)

<sup>۲</sup> Energy-dispersive X-ray spectroscopy (EDX)

<sup>۳</sup> *Staphylococcus aureus*

<sup>۴</sup> *Bacillus cereus*

<sup>۵</sup> *Escherichia coli*

<sup>۶</sup> *Pseudomonas aeruginosa*

<sup>۷</sup> 3-[4,5-dimethylthiazole-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT)



زمان واکنش، به قهوه‌ای تیره تغییر یافت. تغییر رنگ نشان دهنده احیای نیترات نقره و تشکیل نانوذرات نقره در محلول است (شکل ۱A) و وجود پیک در طول موج ۴۳۸ نانومتر برای نانوذرات نقره با دستگاه طیف سنجی UV-vis طی زمان‌های مختلف واکنش تایید شد (شکل ۱B). تصاویر میکروگراف میکروسکوپ الکترونی گذاره نشان می‌دهد که نانوذرات سنتز شده کروی شکل و دارای میانگین اندازه ۱۲/۹۶ نانومتر می‌باشد (شکل A۲). اندازه و ریخت شناسی نانوذرات نقره زیستی از طریق میکروگراف SEM، با ولتاژ زیر ۳۰ کیلو ولت و با بزرگنمایی‌های مختلف، تحت فشار خلاء (۵-۱۰ Torr) مورد ارزیابی قرار گرفت و نتایج نشان داد که نانوذرات سنتز شده کروی شکل می‌باشد (شکل B ۲ و C۲). آنالیز طیف FT-IR نانوذره نقره بکار رفته وجود بیومولکول‌ها را ثابت می‌کند. وجود پیک پهن و قوی در  $3411\text{ cm}^{-1}$  به ارتعاشات کششی گروه‌های O-H الکلی و فنولی موجود در ترکیبات عصاره گیاهی با نانو ذرات نقره مربوط است. پیک موجود در  $1619\text{ cm}^{-1}$  مربوط به  $\text{C}=\text{C}$  است (شکل a ۳ و b ۳). به منظور تعیین ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی نانو ذرات نقره از پرش اشعه ایکس (XRD) استفاده شد. اندازه کریستال‌های نانو ذرات نقره در ۴ پیک مجزا در ۴ زاویه مشخص شد که در پیک‌های ۱۱۱ و ۲۰۰ و ۲۲۰ و ۳۱۱ زوایای ۷۷ و ۶۴ و ۴۴ و ۳۸ درجه می‌باشد (شکل ۴). سنتز نانوذرات نقره با روش زیستی با استفاده از روش EDX مورد بررسی قرار گرفت که نتایج آنالیز EDX نشان داد که در واکنش سنتزی میزان ۹۰/۵ درصد نقره وجود دارد که نشان دهنده تایید سنتز نانوذره نقره می‌باشد (شکل ۵).

میکرولیتر DMSO ۰/۵ درصد (مرک، آلمان) اضافه شد. در نهایت پس از ۱۵ دقیقه انکوباسیون در دمای اتاق، میزان جذب نوری پلیت توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۵۷۰ نانومتر قرائت شد و میزان کشندگی سلول توسط فرمول زیر محاسبه شد (۲۰):

میزان بقای سلولی = (جذب نوری سلول‌های کنترل بر جذب نوری سلول‌های تیمار شده)  $\times 100$

### بررسی میزان القای آپوپتوز

به منظور بررسی میزان القای آپوپتوز در سلول‌های MCF-7 تیمار شده با نانوذرات نقره از روش فلوسیتومتری استفاده گردید. در ابتدا تعداد ۱۰۰۰۰۰ سلول با غلظت IC50 نانوذره نقره تیمار شده و سلول‌های تیمار نشده به عنوان کنترل مورد استفاده قرار گرفتند. در نهایت میزان آپوپتوز توسط روش Annexin V/propidium iodide (PI) بر طبق دستورالعمل کیت مربوطه انجام گرفت و در نهایت نتایج توسط دستگاه فلوسیتومتری خوانش گردید (۲۱).

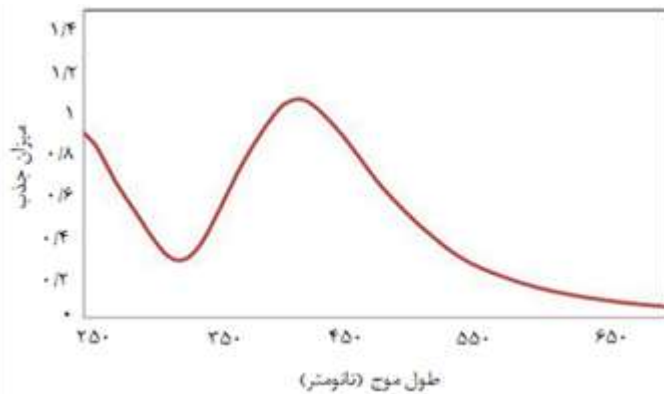
### تجزیه و تحلیل آماری

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۲۰ و آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه تجزیه و تحلیل شدند. اطلاعات به صورت  $\text{mean} \pm \text{standard deviation}$  (SD) نمایش داده شده و  $P < 0/05$  معنی‌دار در نظر گرفته شد.

### یافته‌ها

#### سنتز نانوذرات نقره و تست های تاییدی

بیوسنتز نانوذرات نقره با تغییر رنگ محلول طی یک ساعت از زمان واکنش صورت گرفت. رنگ محلول با افزودن عصاره گیاهی مارچوبه به محلول نیترات نقره از بی رنگ به رنگ مایل به قرمز طی ۳۰ دقیقه و به تدریج در طی ۶۰ دقیقه از

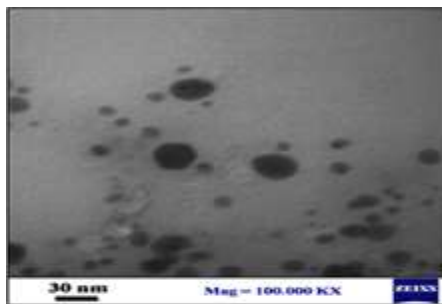


B

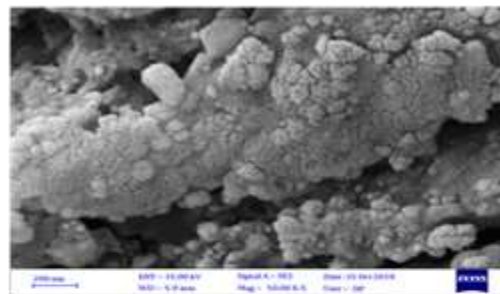


A

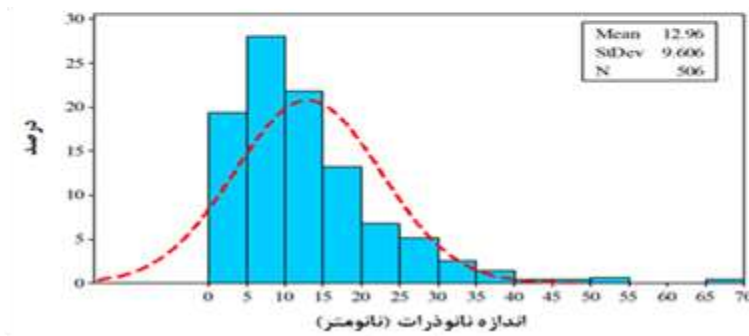
شکل ۱- سنتز نانوذرات نقره. A: همانطور که ملاحظه می شود پس از افزودن عصاره گیاه به نیترات نقره بی رنگ، رنگ آن به قهوه ای تیره تغییر رنگ می دهد. B: نانوذرات نقره سنتز شده دارای بیشینه جذب در طول موج ۴۳۸ نانومتر می باشد.



A

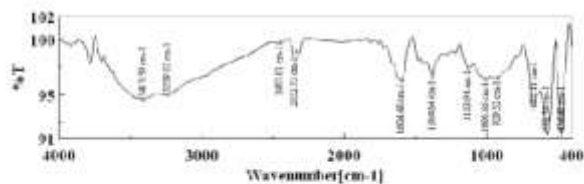


B

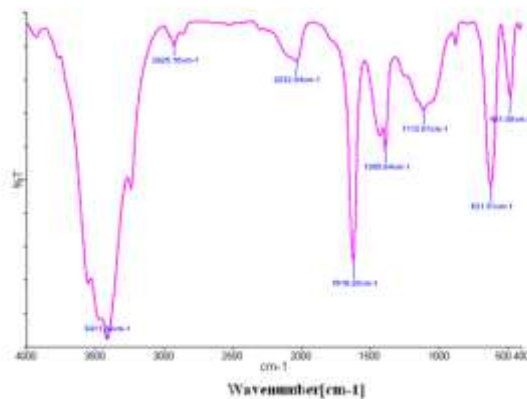


C

شکل ۲- A: نتایج میکروسکوپ الکترونی گذاره (TEM). B: نگاره (SEM). C: میانگین سایز نانوذرات. همانطور که مشاهده می شود نانوذرات سنتز شده دارای ساختاری کروی و دارای میانگین اندازه ۱۲/۹۶ نانومتر می باشد.

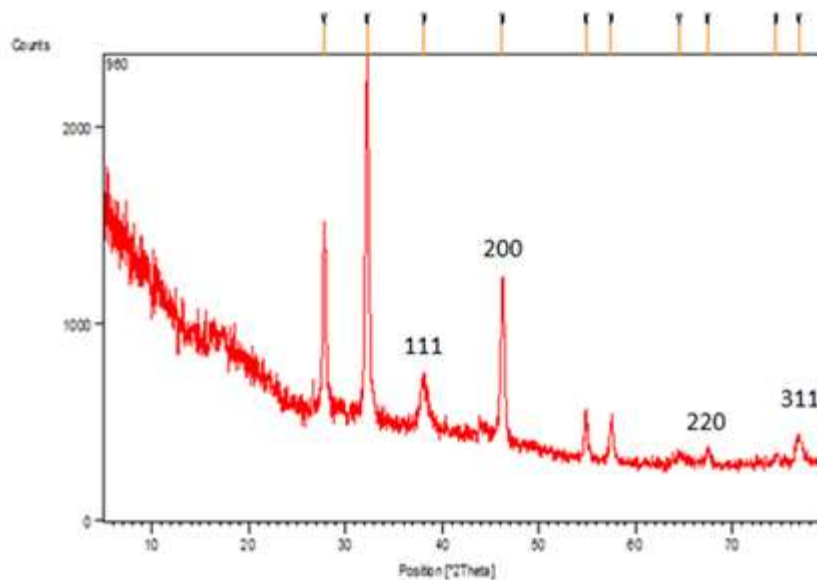


A

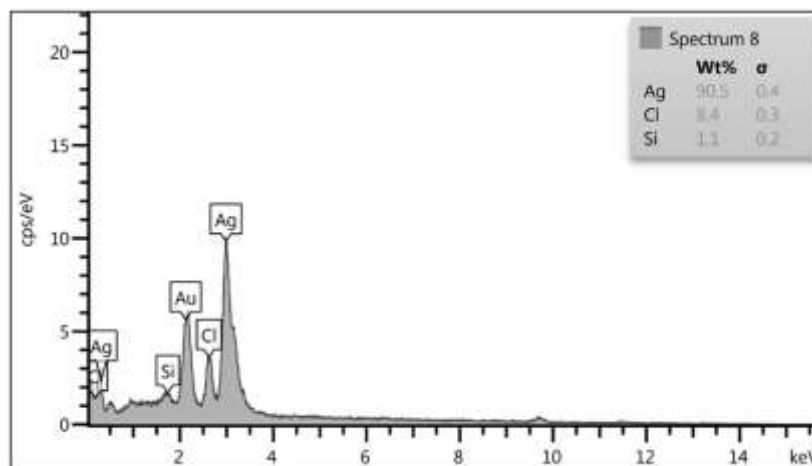


B

شکل ۳- نتایج FTIR. A: عصاره مارچوبه B: نانوذره نقره سنتز شده. وجود پیک پهن و قوی در  $3411 \text{ cm}^{-1}$  به ارتعاشات کششی گروه‌های O-H الکی و فنولی موجود در ترکیبات عصاره گیاهی با نانو ذرات نقره مربوط است. پیک موجود در  $1619 \text{ cm}^{-1}$  مربوط به C=C است.



شکل ۴- الگوی XRD نانوذرات نقره سنتز شده. الگوی پیک‌های XRD مربوط به ساختار face-centered cubic (fcc) در نواحی ۱۱۱، ۲۰۰، ۲۲۰ و ۳۱۱ می‌باشد. محور افقی زاویه برخورد پرتوی ایکس به نمونه به صورت  $2\theta$  و محور عمودی شدت پرتوی ایکس بازگشتی را نشان می‌دهد.



شکل ۵- نتایج EDX نانوذرات نقره سنتز شده: همانطور که ملاحظه می شود میزان بازدهی تولید نانوذرات نقره ۹۰/۵ درصد می باشد.

میلی لیتر از نانوذرات نقره قرار گرفتند. نتایج نشان داد که هر دو نوع نانوذره نقره روی باکتری های گرم منفی بیشترین تاثیر را داشتند، بطوریکه میزان اثربخشی نانوذرات نقره سنتز شده معنادارتر بوده و دارای غلظت کشندگی کمتری نسبت به نانوذره نقره تجاری بودند (جدول ۱).

#### بررسی اثرات ضد میکروبی

در این مطالعه، به منظور تعیین اثرات ضدباکتریایی نانوذرات نقره سنتز شده و تجاری (مرک، آلمان) از روش میکروداپلوشن استفاده شد. در این روش سوپه های باکتریایی تحت غلظت های ۱/۹۵ تا ۵۰۰ میکروگرم در

جدول ۱- نتایج میزان MIC نانوذرات نقره سنتز شده و تجاری

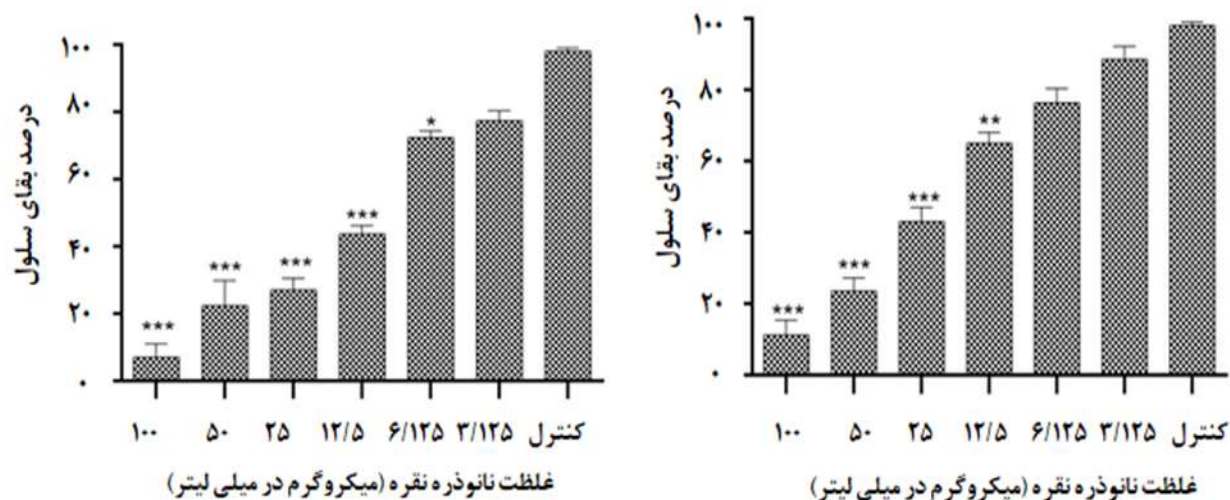
نام باکتری	MIC نانوذره نقره سنتزی (میکروگرم در میلی لیتر)	MIC نانوذره تجاری (میکروگرم در میلی لیتر)
اشرشیا کلی	۳۱/۲۵	۱۲۵
سودوموناس اتروژینوزا	۳۱/۲۵	۶۲/۵
استافیلوکوکوس اورئوس	۶۲/۵	۲۵۰
باسیلوس سرئوس	۶۲/۵	۲۵۰

در مدت ۲۴ ساعت نشان داد که سمیت سلولی هر دو نوع نانوذره نقره سنتز شده وابسته به دوز می باشد و در غلظت های یکسان نانوذرات نقره سنتز شده دارای اثرات سیتوتوکسیک معنادارتری نسبت به نانوذرات نقره تجاری نسبت به گروه کنترل بودند (شکل ۶).

#### نتایج سیتوتوکسیک نانوذرات نقره

اثرات سیتوتوکسیک نانوذرات نقره سنتز شده و تجاری بر روی سلول سرطانی MCF-7 با روش MTT انجام گرفت و درصد زنده بودن سلول ها پس از ۲۴ ساعت اندازه گیری شد. تیمار سلول های رده سرطان MCF-7 با غلظت های مختلف



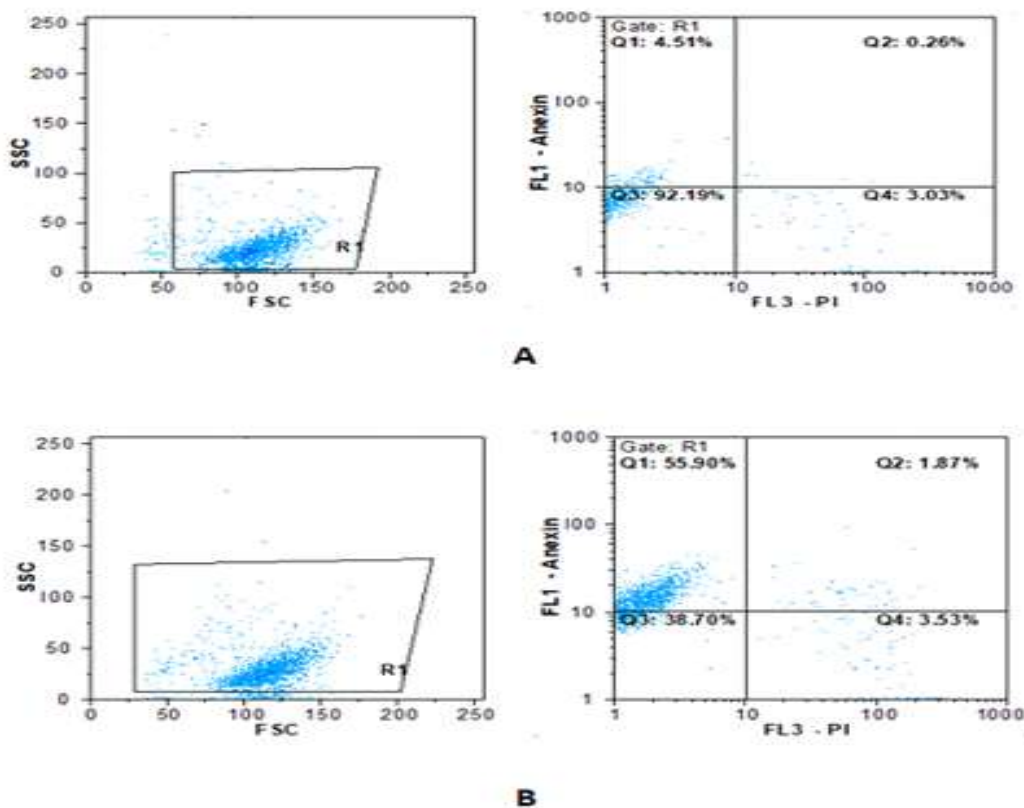


شکل ۶- درصد بقای سلول های MCF-7 در برابر غلظت های مختلف نانوذره نقره سنتزی (A) و تجاری (B) در مدت زمان ۲۴ ساعت؛ نتایج به صورت درصد بقا در مقایسه با نمونه های کنترل گزارش شده است (\*:  $P < 0.05$ ، \*\*:  $P < 0.01$ ، \*\*\*:  $P < 0.001$ ، n=۳).

فلوسایتومتری در شکل ۷ نشان نشان داده شده است. مربع سمت چپ پایین (Q3) میزان سلول های زنده، مربع سمت چپ بالا (Q1) میزان آپوپتوز تاخیری، مربع سمت راست بالا (Q2) میزان آپوپتوز اولیه و مربع سمت راست پایین (Q4) میزان نکروز سلولی می باشد. همانطور که ملاحظه می شود میزان آپوپتوز سلول های تیمار شده با نانوذرات نقره سنتزی و تجاری به ترتیب ۵۷ درصد و ۲۵ درصد می باشد.

#### بررسی میزان آپوپتوز

به منظور تعیین میزان آپوپتوز القا شده در سلول های MCF-7 تیمار شده با نانوذرات نقره سنتز شده و تجاری، این سلول ها با FITC Annexin V/PI رنگ آمیزی شده و توسط دستگاه فلوسایتومتری مطالعه شدند. در طی فاز اولیه آپوپتوز، فسفاتیدیل سرین به خارج از غشا سلولی منتقل به هسته سلول در PI رنگ می شود و رنگ Annexin V شده و توسط زمان نکروز متصل می شود. نتایج



شکل ۷- میزان القای آپوپتوز در سلول‌های MCF-7 تیمار شده با نانوذرات نقره سنتزی و تجاری.

A: سلول‌های MCF-7 تیمار نشده، B: سلول‌های MCF-7 تیمار شده با نانوذرات سنتزی و C: سلول‌های MCF-7 تیمار شده با نانوذره تجاری. مربع سمت چپ پایین (Q3) میزان سلول‌های زنده، مربع سمت چپ بالا (Q1) میزان آپوپتوز تاخیری، مربع سمت راست بالا (Q2) میزان آپوپتوز اولیه و مربع سمت راست پایین (Q4) میزان نکروز سلولی می‌باشد. در محور عمودی (FL1-Anexin) رنگ آنکسین و در محور افقی (FL3-PI) رنگ PI می‌باشد.

مارچوبه جهت سنتز نانوذرات نقره استفاده شد و مطالعات نشان می‌دهد که ترکیبات فیتوشیمیایی عصاره گیاه قادر به احیای یون‌های نقره به نانوذرات نقره هستند. محققان نشان داده‌اند که ترکیبات دارای گروه‌های هیدروکسیل در عصاره گیاهان مسئول احیای یون‌های نقره هستند. هم‌چنین در میان ترکیبات ثانویه عصاره گیاه، پلی‌فنل‌ها دارای نقش کلیدی در سنتز نانوذرات هستند (۲۳). در این مطالعه پس از ۳۰ دقیقه از افزودن عصاره گیاه مارچوبه یون‌های نقره احیا شده و تغییر رنگ حاصل شد که نشان دهنده سنتز

### بحث

امروزه از عصاره گیاهان جهت سنتز سبز نانوذرات نقره استفاده می‌کنند و این روش در مقایسه با سایر روش‌ها از نظر ذخیره انرژی اولویت دارد، بطوریکه دمای واکنش ۳۷ درجه سانتی‌گراد است در حالیکه سایر روش‌ها به دما و فشار بالا نیاز دارند (۲۲). در مقایسه با سایر روش‌های سنتز نانوذرات نقره، سنتز نانوذرات نقره توسط عصاره گیاهان سریع، مقرون به صرفه، ساده و دوستدار محیط زیست می‌باشد (۲۱). در این مطالعه برای اولین بار از عصاره گیاه



سلول‌های باکتریایی شده و بر روی DNA اثر بگذارند (۲۶). یکی دیگر از فعالیت‌های بیولوژیک مورد مطالعه بررسی اثرات سیتوتوکسیک و آپوپتوز نانوذرات نقره در رده سلولی سرطان پستان بود. نتایج نشان داد که اثرات سیتوتوکسیک نانوذرات نقره سنتز شده و تجاری وابسته به دوز می‌باشد اما نانوذرات نقره سنتز شده دارای اثرات سمیت سلولی معنادارتری می‌باشد. جذب نانوذرات نقره توسط سلول‌ها می‌تواند از طریق اندوسیتوز، فاگوسیتوز و فرایند دیفیوژن باشد و مطالعات نشان می‌دهد میزان جذب نانوذرات نقره توسط سلول‌ها وابسته به اندازه و نوع سلول می‌باشد اما مطالعات دقیق تر و جزئی تری جهت بررسی دقیق مکانیسم جذب سلولی نانوذرات نقره می‌باشد (۲۷). تاکنون مطالعات زیادی در زمینه سنتز نانوذرات نقره با استفاده از عصاره گیاهان و بررسی اثرات بیولوژیک آن شده است. آیروملو<sup>۱</sup> و همکارانش در سال ۲۰۱۹، از عصاره گیاه شنگ اسبی پلوری جهت سنتز نانوذرات نقره استفاده کردند و نتایج این مطالعه نشان داد که نانوذرات نقره سنتز شده دارای اندازه ۲۵/۲۸ نانومتر بوده و نانوذرات نقره سنتز شده دارای اثرات ضد میکروبی و ضد سرطانی معناداری علیه رده سلولی سرطانی سرطان ریه (A549) بود (۲۸). نفیسی فرد و همکارانش در سال ۲۰۱۸، نانوذرات نقره را با استفاده از عصاره گیاه درمنه آسنتر کردند. نتایج این مطالعه نشان داد که نانوذرات نقره سنتز شده دارای اثرات آنتی اکسیدانی، ضد میکروبی و ضد سرطانی معناداری بودند و نانوذرات نقره سنتز شده می‌توانند فرایند آپوپتوز را در سلولی‌های سرطانی سرطان ریه القا کنند (۲۹).

نانوذرات نقره بود. نتایج میکروسکوپ الکترونی TEM و SEM نشان داد که نانوذره نقره سنتز شده دارای اندازه ۱۲/۹۶ نانومتر بوده و کروی می‌باشد که نسبت به نانوذرات نقره تجاری دارای اندازه ای کوچکتری باشد و مطالعات نشان می‌دهد که ارتباط مستقیمی بین سایز نانوذرات و سمیت سلولی وجود دارد (۲۴). در این مطالعه دو فعالیت بیولوژیک اثرات ضد میکروبی، سیتوتوکسیته و آپوپتوزیس نانوذرات نقره سنتز شده مورد مطالعه قرار گرفت و با نانوذرات نقره تجاری مقایسه گردید. نتایج تست اثرات ضد میکروبی نشان داد که نانوذرات نقره بر روی باکتری‌های گرم منفی اثرات ضد میکروبی معناداری دارد. مطالعات نشان داده است که یون‌های نقره به دلیل داشتن بار مثبت به غشای خارجی باکتری‌های گرم منفی که دارای بار منفی می‌باشد راحت تر متصل شده و وارد سلول می‌شود و به همین دلیل نانوذرات نقره سنتز شده و تجاری بر روی باکتری‌های گرم منفی تاثیر بیشتری دارد بطوریکه نانوذرات نقره سنتز شده دارای اثرات ضد میکروبی معنادارتری می‌باشند. تاکنون مکانیسم دقیقی برای خاصیت ضد میکروبی نانوذرات نقره پیشنهاد نشده است اما گزارشات نشان می‌دهد که تغییر مورفولوژی غشای باکتریایی باعث افزایش نفوذپذیری نانوذرات نقره می‌شود و نفوذ غیرقابل کنترل نانوذرات نقره به درون سلول اتفاق می‌افتد و منجر به مرگ سلول می‌گردد (۲۵). هم چنین یکی دیگر از دلایل اثرات ضد میکروبی نانوذرات نقره می‌تواند آزادسازی یون‌های نقره از نانوذرات نقره باشد که به اکسیژن، گوگرد و نیتروژن بیومولکول‌های عملکردی در سلول می‌شود که منجر به مرگ سلول‌های باکتریایی می‌شود. هم چنین نانوذرات نقره می‌توانند باعث تولید رادیکال‌های سمی اکسیژن در

<sup>۱</sup> Ayromlou A

<sup>۲</sup> *Scorzonera calyculata*

<sup>۳</sup> *Artemisia oliveriana*

آن آغاز می‌شود. علاوه بر این اثرات نانوذرات نقره در افزایش بیان ژن پروتئاز کاسپاز ۳ در سلول‌های سرطانی و القاء مرگ برنامه ریزی شده سلولی در مطالعات مختلف نشان داده شده است (۳۳). به طور کلی القاء مرگ برنامه ریزی شده سلولی یکی از رویکردهای جذاب در درمان سرطان به شمار می‌رود که به نظر می‌رسد نانوذرات نقره می‌توانند جایگزین مناسب برای درمان باشند (۳۴).

### نتیجه‌گیری

بطور کلی نتایج این مطالعه نشان داد که سنتز نانوذره نقره توسط عصاره گیاه مارچوبه ساده، سریع و مقرون به صرفه اقتصادی می‌باشد و هم چنین با توجه به اثرات ضد میکروبی، سیتوتوکسیک و آپوپتوزی نانوذره نقره سنتز شده می‌توان در آینده با مطالعات بیشتر از این نانوذره به عنوان کاندید دارو جهت اهداف درمانی سرطان و عفونت‌های میکروبی استفاده نمود.

### تشکر و قدردانی

پشتیبانی مالی این تحقیق توسط دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی صورت پذیرفت و بدین ترتیب از تمام کسانی که در انجام این پروژه همکاری کرده اند، تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

### تعارض منافع

هیچ گونه تعارض منافع بین نویسندگان برای چاپ مقاله وجود ندارد.

خرمی و همکارانش در سال ۲۰۱۸ با استفاده از عصاره پوست سبز گردو نانوذرات نقره را سنتز کردند و اثرات ضد میکروبی، ضد سرطانی و آنتی اکسیدانی آن را بررسی کردند. نتایج این مطالعه نشان داد که نانوذرات نقره سنتز شده دارای اندازه میانگین ۳۱/۴ نانومتر بودند و هم چنین دارای اثرات ضد میکروبی معناداری علیه پاتوژن‌های بیمارستانی هستند و هم چنین این نانوذره بر روی رده سلولی سرطان پستان (MCF-7) دارای اثرات سیتوتوکسیک بود (۳۰). المیک<sup>۱</sup> و همکارانش در سال ۲۰۱۷، با استفاده از عصاره برگ گیاه کاستوس آفر نانوذرات نقره سنتز کردند و اثرات ضد میکروبی آن را مورد مطالعه قرار دادند. نتایج این مطالعه نشان داد که نانوذرات نقره سنتز شده دارای اندازه ۲۰ نانومتر بوده و دارای اثرات ضد میکروبی معنادار بروی باکتری‌های گرم منفی بود (۳۱). نقطه نظر مشابه تمامی این مطالعات و مطالعه ما سنتز آسان و سریع نانوذره نقره و هم چنین اثرات معنادار نانوذرات بر روی باکتری‌های گرم منفی و سلول‌های سرطانی می‌باشد و ارتباط مستقیمی به سایز نانوذره نقره و دوز آن و سمیت سلولی می‌باشد (۳۲). تفاوت تمامی مطالعات با مطالعه ما سایز نانوذره سنتز شده می‌باشد بطوریکه عصاره گیاهان مختلف باعث سنتز نانوذرات با اندازه‌های مختلف می‌شوند.

هم چنین نتایج این مطالعه نشان داد که نانوذرات نقره سنتز شده دارای اثرات آپوپتوز بیشتری نسبت به نانوذرات نقره تجاری بودند. مطالعات نشان داده است که اکثر محققان به دنبال یافتن ترکیبات ضد سرطانی که اثرات خود را از طریق آپوپتوز نشان می‌دهند، می‌باشند. مسیر مرگ سلولی می‌تواند شامل فعال‌سازی رویدادهای پروآپوپتوتیک اندامک میتوکندری در سلول باشد که با آزاد سازی سیتوکروم c از

<sup>۱</sup> Elemike EE

<sup>۲</sup> Costus afer



## References

1. Jeevanandam J, Barhoum A, Chan YS, Dufresne A, Danquah MK. Review on nanoparticles and nanostructured materials: history, sources, toxicity and regulations. *Beilstein J Nanotechnol* 2018; 9:1050-74.
2. Bakand S, Hayes A. Toxicological considerations, toxicity assessment, and risk management of inhaled nanoparticles. *Int J Mol Sci* 2016;17(6). pii: E929.
3. Mody VV, Siwale R, Singh A, Mody HR. Introduction to metallic nanoparticles. *J Pharm Bioallied Sci* 2010; 2(4):282-9.
4. Karunakaran S, Ramanujam S, Gurunathan B. Green synthesised iron and iron-based nanoparticle in environmental and biomedical application: - a review. *IET Nanobiotechnol* 2018; 12(8):1003-1008.
5. Siddiqi KS, Husen A, Rao RAK. A review on biosynthesis of silver nanoparticles and their biocidal properties. *J Nanobiotechnology* 2018; 16(1):14.
6. Siritapetawee J, Limphirat W, Nantapong N, Songthamwat D. Fabrication of silver chloride nanoparticles using a plant serine protease in combination with photoactivation and investigation of their biological activities. *Biotechnol Appl Biochem* 2018; 65(4):572-9.
7. Jorge de Souza TA, Rosa Souza LR, Franchi LP. Silver nanoparticles: An integrated view of green synthesis methods, transformation in the environment, and toxicity. *Ecotoxicol Environ Saf* 2019; 171:691-700.
8. Negi JS1, Singh P, Joshi GP, Rawat MS, Bisht VK. Chemical constituents of Asparagus. *Pharmacogn Rev.* 2010; 4(8):215-20.
9. Brunning P. Asparagus – Liliaceae–Asparagaceae. *The International Wine & Food Society* 2010; 103:6. [http://www.iwfs.org/assets/upload/regions/europe-africa/Food\\_and\\_Wine/Food\\_Wine\\_June\\_2010\\_1.pdf](http://www.iwfs.org/assets/upload/regions/europe-africa/Food_and_Wine/Food_Wine_June_2010_1.pdf)
10. Baharara J, Namvar F, Ramezani T, Hosseini N, Mohamad R. Green synthesis of silver nanoparticles using *Achillea biebersteinii* flower extract and its anti-angiogenic properties in the rat aortic ring model. *Molecules* 2014;19(4):4624-34.
11. Behboodi S, Baghbani-Arani F, Abdalan S, Sadat Shandiz SA. Green engineered biomolecule-capped silver nanoparticles fabricated from *Cichorium intybus* extract: in vitro assessment on apoptosis properties toward human breast cancer (MCF-7) cells. *Biol Trace Elem Res* 2019.187(2):392-402.
12. Cheon JY, Kim SJ, Rhee YH, Kwon OH, Park WH. Shape-dependent antimicrobial activities of silver nanoparticles. *Int J Nanomedicine* 2019; 14:2773-80.
13. Salari S, Esmaeilzadeh Bahabadi S, Samzadeh-Kermani A, Yosefzadei F. In-vitro evaluation of antioxidant and antibacterial potential of green synthesized silver nanoparticles using *Prosopis farcta* fruit extract. *IJ PR* 2019; 18(1):430-55.
14. Rashid MMO, Akhter KN, Chowdhury JA, Hossen F, Hussain MS, Hossain MT. Characterization of phytoconstituents and evaluation of antimicrobial activity of silver-extract nanoparticles synthesized from *Momordica charantia* fruit extract. *BMC Complement Altern Med* 2017; 17(1):336.
15. Chen Z, Ye X, Qingkui G, Wenliang Q, Wen Z, Ning W, *et al.* Anticancer activity of green synthesised AgNPs from *Cymbopogon citratus* (LG) against lung carcinoma cell line A549. *IET Nanobiotechnol* 2019; 13(2):178-82.
16. Tripathi D, Modi A, Narayan G, Rai SP. Green and cost effective synthesis of silver nanoparticles from endangered medicinal plant *Withania coagulans* and their potential biomedical properties. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl* 2019; 100:152-64.
17. Pei J, Fu B, Jiang L, Sun T. Biosynthesis, characterization, and anticancer effect of plant-mediated silver nanoparticles using *Coptis chinensis*. *Int J Nanomedicine* 2019; 15:1969-78.
18. Salehi S, Shandiz SA, Ghanbar F, Darvish MR, Ardestani MS, Mirzaie A, *et al.* Phytosynthesis of silver nanoparticles using *Artemisia marschalliana* Sprengel aerial part extract and assessment of their antioxidant, anticancer, and antibacterial properties. *Int J Nanomedicine* 2016;11:1835-46.

19. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Approved standard M2-A9. 2013. [http://reflab.yums.ac.ir/uploads/clsi\\_m100-s23-2013.pdf](http://reflab.yums.ac.ir/uploads/clsi_m100-s23-2013.pdf)
20. Alfuraydi AA, Devanesan S, Al-Ansari M, AlSalhi MS, Ranjitsingh AJ. Eco-friendly green synthesis of silver nanoparticles from the sesame oil cake and its potential anticancer and antimicrobial activities. J Photochem Photobiol B 2019; 192:83-9.
21. Nindawat S, Agrawal V. Fabrication of silver nanoparticles using *Arnebia hispidissima* (Lehm.) A. DC. root extract and unravelling their potential biomedical applications. Artif Cells Nanomed Biotechnol 2019; 47(1):166-80.
22. Ahn EY, Jin H, Park Y. Assessing the antioxidant, cytotoxic, apoptotic and wound healing properties of silver nanoparticles green-synthesized by plant extracts. Mater Sci Eng C 2019; 101:204-16.
23. Masum MMI, Siddiqua MM, Ali KA, Zhang Y, Abdallah Y, Ibrahim E, et al. Biogenic synthesis of silver nanoparticles using *Phyllanthus emblica* fruit extract and its inhibitory action against the pathogen *Acidovorax oryzae* strain RS-2 of rice bacterial brown stripe. Front Microbiol 2019;10:820.
24. Khan I, Bahuguna A, Krishnan M, Shukla S, Lee H, Min SH, et al. The effect of biogenic manufactured silver nanoparticles on human endothelial cells and zebrafish model. Sci Total Environ 2019; 679:365-77.
25. Song L, Zeng W, Wu A, Picard K, Lampugnani ER, Cheetamun R, Beahan C, et al. Asparagus Spears as a model to study heteroxylan biosynthesis during secondary wall development. PLoS One 2015;10(4):e0123878.
26. Tang J, Lu X, Chen B, Cai E, Liu W, Jiang J, et al. Mechanisms of silver nanoparticles-induced cytotoxicity and apoptosis in rat tracheal epithelial cells. J Toxicol Sci 2019;44(3):155-65.
27. Rashid S, Azeem M, Khan SA, Shah MM1, Ahmad R. Characterization and synergistic antibacterial potential of green synthesized silver nanoparticles using aqueous root extracts of important medicinal plants of Pakistan. Colloids Surf B Biointerfaces 2019; 179:317-25.
28. Ayromlou A, Masoudi S, Mirzaie A. *Scorzonera calyculata* Aerial part extract mediated synthesis of silver nanoparticles: evaluation of their antibacterial, antioxidant and anticancer activities. J Clust Sci 2019; 30(4):1037-50.
29. Fard NN, Noorbazargan H, Mirzaie A, Hedayati Ch M, Moghimiyan Z, Rahimi A. Biogenic synthesis of AgNPs using *Artemisia oliveriana* extract and their biological activities for an effective treatment of lung cancer. Artif Cells Nanomed Biotechnol 2018;46(sup3):S1047-58.
30. Khorrani S, Zarrabi A, Khaleghi M, Danaei M, Mozafari MR. Selective cytotoxicity of green synthesized silver nanoparticles against the MCF-7 tumor cell line and their enhanced antioxidant and antimicrobial properties. Int J Nanomedicine 2018;13:8013-24.
31. Elemike EE, Fayemi OE, Ekennia AC, Onwudiwe DC, Ebenso EE. Silver nanoparticles mediated by *Costus afer* leaf extract: synthesis, antibacterial, antioxidant and electrochemical properties. Molecules 2017;22(5). pii: E701.
32. Ivask A, Kurvet I, Kasemets K, Blinova I, Aruoja V, Suppi S, et al. Size-dependent toxicity of silver nanoparticles to bacteria, yeast, algae, crustaceans and mammalian cells in vitro. PLoS One 2014;9(7):e102108.
33. Katifelis H, Lyberopoulou A, Mukha I, Vityuk N, Grodzyuk G, Theodoropoulos GE, et al. Ag/Au bimetallic nanoparticles induce apoptosis in human cancer cell lines via P53, CASPASE-3 and BAX/BCL-2 pathways. Artif Cells Nanomed Biotechnol 2018;46(sup3):S389-S398.
34. Padinjarathil H, Joseph MM, Unnikrishnan BS, Preethi GU, Shiji R, Archana MG. Galactomannan endowed biogenic silver nanoparticles exposed enhanced cancer cytotoxicity with excellent biocompatibility. Int J Biol Macromol 2018; 118(Pt A):1174-82.



## antibacterial, cytotoxic and apoptotic effects of synthesized silver nanoparticles using *Asparagus khorasanesis* extract and commercial silver nanoparticles

Rojan Rajabi<sup>1</sup>, Seyed Mohammad Mahdi Hamdi<sup>\*1</sup>, Amir Mirzaie<sup>2</sup>

1- Department of Biology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

2- Department of Biology, Roudehen Branch, Islamic Azad University, Roudehen, Iran

### Original Article

**Received:** 25 May, 2019

**Accepted:** 08 Jul, 2019

**\*Corresponding Author:**

Seyed Mohammad Mahdi Hamdi, Department of Biology, Central Tehran Branch, Tehran, Iran  
**TEL:** 021-44600182  
**Email:** m.hamdi@iauctb.ac.ir

### ABSTRACT

#### Introduction

Recently, metal nanoparticles, especially silver nanoparticles (AgNPs), are important in the medical and therapeutic applications. The purpose of this study was to the synthesis of silver nanoparticle using *Asparagus khorasanesis* extract and comparative evaluation of antimicrobial, cytotoxic and apoptotic effects of synthesized and commercial silver nanoparticles.

#### Materials and Methods

In this descriptive study, AgNPs were synthesized using *Asparagus khorasanesis* extract. Its physical-chemical properties were investigated by UV-vis spectroscopy, transmission electron microscopy (TEM), scanning electron microscopy (SEM), X-Ray Diffraction (XRD), Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) and energy-dispersive X-ray spectroscopy (EDX) techniques. The antimicrobial activity of synthesized and commercial AgNPs were evaluated by microdilution method. In addition, their cytotoxic and apoptotic effects on breast cancer cell line (MCF-7) was performed using MTT and flow cytometric methods, respectively at concentrations of 3.125 to 100 µg/mL.

#### Results

The synthesized AgNPs showed an absorbance peak of 438 nm in UV-vis. The results of SEM, TEM, FTIR, XRD, and EDX showed that the synthesized AgNPs had a spherical structure with a mean size of 12.96 nm and with 90.5% purity. The microdilution results showed that synthesized AgNPs had more significant antimicrobial effects in comparison of commercial AgNPs. Moreover, the MTT and flow cytometric results showed that synthesized AgNPs in 50 and 100 µg/ml concentration exhibited more cytotoxic and apoptotic properties than commercial silver nanoparticles.

#### Conclusion

The results of this study showed that the synthesized AgNPs have significantly biological effects more than commercial AgNPs, and therefore these nanoparticles can be considered as drug candidates.

#### Keywords

Silver nanoparticles, *Asparagus khorasanesis*, Antimicrobial effects, Cytotoxicity, Commercial silver nanoparticle

► **Please cite this article as:** Rajabi R, Hamdi SMM, Mirzaie A. Comparative study of antibacterial, cytotoxic and apoptotic effects of synthesized silver nanoparticles using *Asparagus khorasanesis* extract and commercial silver nanoparticles. J Neyshabur Univ Med Sci 2019;7(3):89-103.