Archive of SID

[DOI: 10.29252/sjimu.26.6.133]
Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir at 14:33 IRDT on Monday May 20th 2019

بررسی اثر سمیت سلولی و خواص آنتی اکسیدانی نانوذرات نقره سنتز شده به روش سبز از ریشه گیاه انجبار بر سلول های سرطانی کبد(HepG2)

ریحانه شالی[۱]، علی نعمتی[۱*]، پوران اردلان[۲]

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

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

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۹/۱۳ **تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۱/۶**

چکیده

مقدمه: استفاده نانوذرات نقره به عنوان یک مهارکننده بالقوه در درمان سرطان به تازگی توجه زیادی را به خود جلب نموده است. نانوذرات نقره اثرات سینرژیک و هم چنین یک اثر سیتوتوکسیک بر زنده بودن سلول ها داشته که نقش اصلی در اثرات ضـــد تومور و ضد ســـرطانی آن را توجیه می کند. هم چنین اثرات آنتی اکسیدانی نانوذرات نقره سنتز شده به روش سبز با استفاده از عصاره های گیاهی کاربرد این نانوذرات را در پزشکی وسعت بخشیده است. لذا در این بررسی اثر سمیت سلولی نانوذره نقره سنتز شده از ریشه انجبار بر سلول های سرطان کبد(HepG2) در مقایسه با سلول های نرمال پوست(HDF) مورد بررسی قرار گرفت و در ادامه توان مهار رادیکال های آزاد ABTS و DPPH توسط نانوذره با استفاده از تست های رنگ سنجی ارزیابی گردید.

مواد و روش ها: به منظور بررسی سمیت سلولی ابتدا سلول های سرطانی و نرمال به صورت جداگانه کشت داده شدند و سپس به پلیت های ۹۶ چاهکی منتقل گردیدند. در ادامه با غلظت های مختلف نانوذره تیمار شدند و نهایتاً با استفاده از تست MTT میزان بقا سلول ها ارزیابی گردید. توان آنتی اکسیدانی نانوذره نقره با توجه به میزان مهار رادیکال های آزاد ABTS و DPPH ارزیابی شد.

یافته های پژوهش: نتایج نشان داد که نانوذره سلول های سرطانی را با IC_{50} در حدود ۳ میکروگرم بر میلی لیتر مهار نموده حال آن که در این غلظت بر سلول های نرمال(IC_{50}:50µg/ml) بی اثر می باشد. مهار رادیکال های آزاد(IC_{50}:15µg/ml) ABTS و DPPH (IC_{50}:20µg/ml) اثرات آنتی اکسیدانی نانوذره را تایید نمود.

بحث و نتیجه گیری: پتانسیل بالای نانوذره سنتز شده بر علیه سلول های سرطانی در مقایسه با سلول های نرمال و هم چنین فعالیت قوی آنتی اکسیدانتی این نانوذره استفاده از آن را در درمان بسیاری از بیماری های ناشی از استرس اکسیداتیو و دیگر کاربردهای زیست پزشکی ارزشمنـــد می سازد.

واژه های کلیدی : نانوذره نقره، آنتی اکسیدانت، گیاه انجبار، سرطان

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

Email:neamati.ali@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.

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.29252/sjimu.26.6.133]

Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir at 14:33 IRDT on Monday May 20th 2019

مقدمه

سرطان یکی از علل اصلی مرگ و میر در جهان به شمار می آید(۱) و پیدایش آن با عدم تعادل بین تکثیر و مرگ سلولی مرتبط می باشد. از دیگر دلایل پیدایش سرطان می توان به استرس اکسیداتیو اشاره نمود که در اثر تولید و عدم مهار گونه های واکنش پذیر اکسیژن(ROS) رخ می دهد و می تواند سبب آسیب رساندن به ماکرومولکول ها و ایجاد اختلال متابولیکی و نهایتاً مرگ سلولی گردد(۲). اخیراً، استفاده از آنتی اکسیدان های طبیعی به عنوان مکمل های غذایی با توجه به اثرات مفید آن در سلامت مورد توجه بسیاری قرار گرفته است(۳).

روش های مختلفی برای درمان انواع سرطان وجود دارد. شیمی درمانی در ترکیب با عوامل سیتوتوکسیک، درمان معمولی برای کنترل انواع سرطان به شمار می آید(۴). با این وجود، این رویکردهای درمانی عوارض جانبی شدیدی را به دنبال دارند و به همین دلیل، موسسه ملی سرطان(ایالات متحده آمریکا) به تحقیقات در زمینه پتاسیل های ضد سرطانی عصاره های گیاه روی آورده است(۵).

یکی از رویکردهای مهم که اخیراً مورد توجه بسیاری قرار گرفته است استفاده از گیاهان در سنتز نانوذرات می باشد(۶). نانوذرات فلزی به واسطه اندازه کوانتومی خود خواص فیزیکی و شیمیایی منحصر به فردی دارند که منجر به طیف گستردهای از کاربردهای زیست پزشکی جالب می گردد(۷). نقره دارای بالاترین هدایت الکتریکی و حرارتی می باشد و به علت ویژگی های فوق العاده ای مانند ثبات شیمیایی، هدایت، فعالیت کاتالیستی و فعالیت های بیولوژیکی مانند فعالیت های ضدباکتری، ضدقارچی، ضدویروسی و ضد انعقادی نقش مهمی را در زمینه فناوری نانو ایفا می کنند. در حال حاضر، بسیاری از محققان بر روی نانوذرات سبز سنتز شده از گیاهان دارویی تمرکز کرده و به بررسی اثرات بیولوژیکی مختلف مانند ضدمیکروبی(۸)، ضدسرطان(۹)، ضددردی(۱۰) و ضدباکتری می پردازند(۱۱).

سنتز سبز روشی ایمن، ساده، غیر سمی و کارا می باشد و در این روش بیوملکول های موجود در عصاره های گیاهی در یک روش تک مرحله ای برای احیاء یون های فلزی به نانوذرات در دمای اتاق مورد استفاده قرار می گیرند(۱۲). گیاهان به عنوان داروها یا واسطه های دارویی منبع اصلی محصولات جدید طبیعی به شمار می آیند و طبق گزارشات سازمان بهداشت جهانی، بیش از ۸۰ درصد جمعیت جهان در کشورهای در حال توسعه بیشتر به داروهای گیاهی مبتنی بر نیازهای بهداشتی اولیه نیاز دارند.

Polygonum bistorta Linn گیاهی است وابسته به خانواده polygonacae که شامل ۳۰۰ گونه است که به طور گسترده در سراسر جهان گسترش می یابد. این گیاه در ادبیات یونان به خاطر خواص ضد خونریزی آن به عنوان انجبار شناخته شده است و برای کنترل خونریزی از هر بخش از بدن استفاده می شود(۱۳) ریشه انجبار در پزشکی سنتی چینی برای درمان بسیاری بیماری ها به کار رفته است و ترکیباتی هم چون اسید پلی گونیک، تانیک اسید، اسید گالیک، نشاسته، اگزالات کلسیم و انواع تانن ها در آن شناسایی شده است(۱۴). بررسی ها نشان می دهد عصاره ریشه گیاه انجبار دارای اثرات ضد سرطانی(۱۵) ضد التهابی(۱۶)، ضدمیکروبی(۱۷)، و... می باشد.

از آن جا که کشف مواد دارویی با کارایی بالا و اثرات جانبی پایین در درمان سرطان هدف عمده تحقیقات می باشد و از آن جا که القا سمیت سلولی و اختلال در زنجیره تنفسی از جمله مکانیسم های موثر نانوذرات نقره به شمار می آید، هدف از انجام این پژوهش بررسی اثر سمیت سلولی نانوذرات نقره سنتز شده از ریشه انجبار بر روی سلول های سرطان کبد و تعیین دوز کشنده و زیر حد کشنده این نانوذره در سلول های سرطانی و هم چنین پتانسیل آنتی اکسیدانی نانوذره می باشد.

مواد و روش ها

تمام واکنشگرها برای سنتز نانوذره از شرکت سیگما-الدریچ تهیه شده اند. دو رده سلول های HepG2 و سلول های نرمال HDF از انستیتو پاستور تهران خریداری شدند. محیط کشت DMEM و تمامی

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.29252/sjimu.26.6.133]
Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir at 14:33 IRDT on Monday May 20th 2019

محلول های مورد نیاز کشت سلولی شامل تریپسین، بافر شستشو، سرم جنین گاوی و آنتی بیوتیک از شرکت In Vitrogene خریداری شد.

روش استخراج عصاره آبی انجبار: به منظور تهیه عصاره آبی ابتدا ۱۰ گرم از پودر ریشه اجبار تهیه گردید و در ادامه با ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر دیونیزه ترکیب شد. سپس به مدت ۲ ساعت در درجه حرارت ۶۰ درجه سانتی گراد نگهداری شد و در ادامه با استفاده از کاغذ صافی واتمن صاف گردید.

روش سنتز نانوذره انجبار: Bi/Ag-NPs با استفاده از روش قربانی و همکاران(۱۸) با اندکی تغییر تهیه گردید. برای تهیه نانوذره ابتدا ۵۰۰ میلی لیتر محلول $AgNO_3$ یک میلی مولار با یک میلی لیتر از عصاره آبی انجبار با غلظت ۱۰۰ میلی مولار مخلوط گردید سپس در دمای اتاق قرار داده شد و تغییر رنگ مربوط به تشکیل نانوذره بررسی گردید.

بررسی اثر سمیت سلولی نانوذره سنتز شده بر سلول های سرطانی و نرمال: اثر سیتوتوکسیک Bi/Ag-NPs بر علیه سلول MCF7 با استفاده از روش MTT مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور، از سلول های در حال رشد موجود در فاز لگاریتمی استفاده شد ابتدا سلول ها به پلیت کشت ۹۶ خانه ای منتقل شدند و پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون و اطمینان از زنده بودن سلول ها و چسبیدن آن ها به کف چاهک ها، تیمار سلول ها با غلظت های مختلف نانوذره انجام شد. پس از تیمار سلول ها برای مدت زمان ۲۴ ساعت انکوبه شدند و پس از طی زمان لازم سلول ها با استفاده از اضافه کردن محلول MTT و انکوباسیون به مدت ۴ ساعت در تاریکی مورد بررسی قرار گرفتند. پس از طی انکوباسیون محلول MTT تخلیه و با ۱۰۰ میکرولیتر DMSO جایگزین گردید در نهایت جذب در ۵۷۰ نانومتر اندازه گیری شد(۱۹).

اندازه گیری ظرفیت مهار رادیکال های آزاد توسط آزمون ABTS: فعالیت مهاری نانوذره بر رادیکال های آزاد ABTS با استفاده از روش LI و همکاران(۲۰) با اندکی تغییر مورد ارزیابی قرار گرفت. به طور خلاصه، محلول اولیه حاوی رادیکال های آزاد ABTS با مخلوط کردن ABTS ۷ میلی مولار با پتاسیم پر سولفات ۲/۴ میلی مولار و انکوباسیون در دمای اتاق برای ۱۶-۱۲ ساعت آماده شد. در ادامه تا رسیدن به جذب ۰/۷ در طول موج ۷۳۴ نانومتر به این محلول آب مقطر اضافه گردید. سپس به منظور تهیه محلول واکنشگر حجم های برابری از محلول حاوی رادیکال های آزاد با غلظت های مختلف نانوذره ترکیب گردید و طول موج آن ها در ۷۳۴ نانومتر اندازه گیری شد.

اندازه گیری ظرفیت مهار رادیکال های آزاد توسط آزمون DPPH: فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد Bi/Ag-NPs با استفاده از توانایی آن برای مهار رادیکال های آزاد DPPH مورد ارزیابی قرار گرفت. برای این منظور، محلول واکنشگر DPPH با استفاده از حل نمودن ۱ میلی گرم پودر DPPH در ۱۶/۹ میلی لیتر از اتانل تهیه گردید. سپس غلظت های مختلف نانوذره با استفاده از حل نمودن نانوذره در آب مقطر تهیه گردید. در نهایت محلول واکنش از ترکیب ۵۰۰ میکرولیتر محلول واکنش DPPH با ۵۰۰ میکرولیتر از غلظت های مختلف نانوذره آماده سازی شد و به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار گرفت و جذب حاصل در ۵۱۷ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتری اندازه گیری شد(۲۱).

آنالیز آماری: تمامی تست ها به صورت سه تکرار انجام شد سپس نتایج با استفاده از آزمون one-way ANOVA و با تست LSD مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته های پژوهش

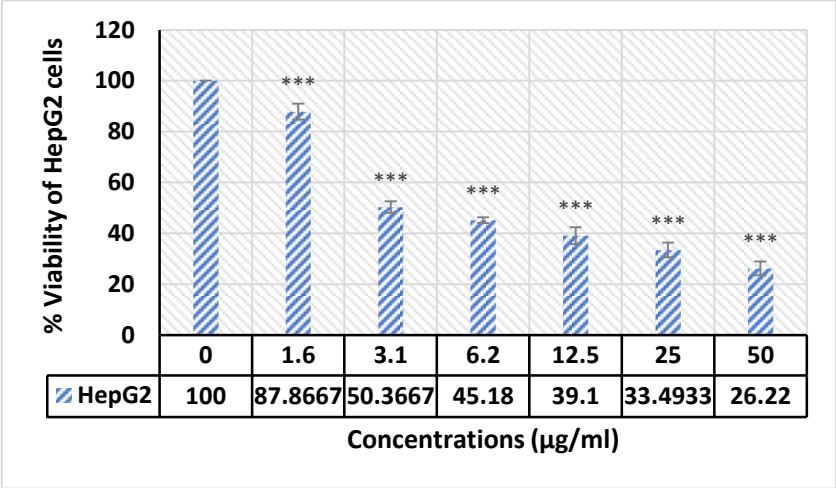
بررسی اثر سمیت سلولی نانوذره سنتز شده بر سلول های سرطانی در مقایسه با سلول های نرمال: میزان سمیت نانوذره بر دو رده سلول های سرطانی در مقایسه با سلول های نرمال مورد ارزیابی قرار گرفت. بررسی ها نشان داد که نانوذره قادر است سلول های سرطانی را با IC_{50} در حدود ۳/۱ درصد مهار کند. نمودار شماره ۱ نشان می دهد که میزان مهار سلول ها وابسته به غلظت می باشد به طوری که در غلظت ۱/۶ میکروگرم بر میلی لیتر درصد بقا سلول ها در حدود ۸۷/۸۶ درصد می باشد حال آن که با افزایش غلظت میزان سمیت افزایش پیدا کرده و در مقابل میزان بقا سلول ها کاهش و در غلظت ۵۰ میکروگرم بر

www.SID.ir

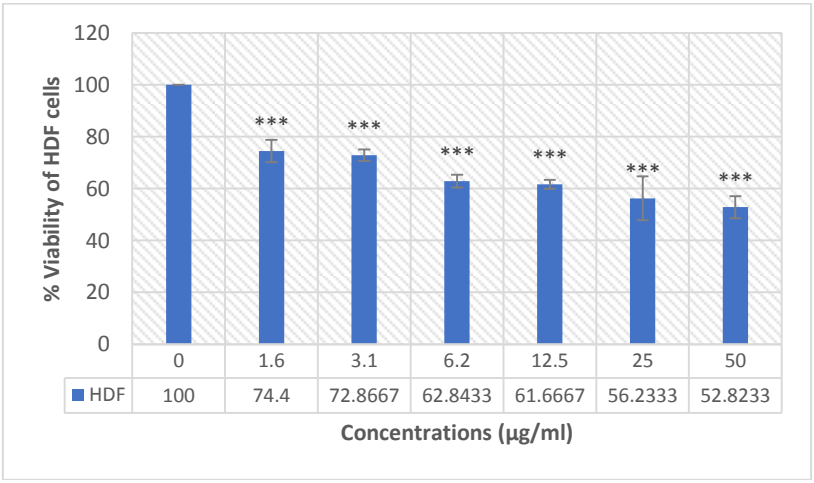
Archive of SID

[DOI: 10.29252/sjimu.26.6.133]
Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir at 14:33 IRDT on Monday May 20th 2019

میلی لیتر به حدود ۲۶/۲۲ درصد رسیده است. مقایسه اثر مهاری نانوذره بر سلول های سرطان کبد در مقایسه با سلول های نرمال با IC_{50} حدود ۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر نشان می دهد که در غلظت ۳/۱ در سلول های نرمال حدود ۷۶ درصد سلول ها در زنده بوده و تحت تاثیر سمیت نانوذره قرار نگرفته اند. بنا بر این می توان در کاربرد بالینی این نانوذره از غلظت هایی استفاده نمود که بر سلول های نرمال اثر مهاری و سیمت نداشته باشند ولی در عین حال سلول های سرطانی را مهار کنند(نمودار شماره ۲).



نمودار شماره ۱. بررسی میزان بقا سلول های سرطان کبد انسانی HepG2 تیمار شده با نانوذره نقره سنتز شده از ریشه انجبار با سطح معنی داری(P<0.001)



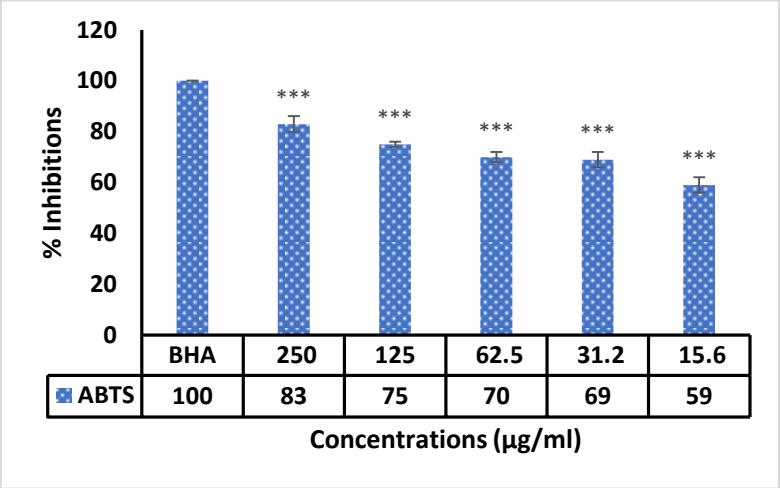
نمودار شماره ۲. بررسی میزان بقا سلول های نرمال(فیبروبلاست انسانی) تیمار شده با نانوذره نقره سنتز شده از ریشه انجبار(P<0.001)

توان مهار رادیکال های آزاد ABTS توسط Bi/Ag-NPs: در این بررسی اثر مهار رادیکال های آزاد ABTS توسط نانوذره سنتز شده در مقایسه با BHA به عنوان آنتی اکسیدان صنعتی و کنترل مثبت و آب به عنوان کنترل منفی مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نمودار شماره ۳ نشان می دهد که با افزایش غلظت نانوذره میزان مهار رادیکال های آزاد افزایش می یابد به طوری که از غلظت ۱۵ تا ۲۵۰ این میزان از ۵۹ درصد به ۸۳ درصد افزایش می یابد. میزان IC_{50} برای مهار رادیکال های آزاد کمتر از ۱۵ میکروگرم بر میلی لیتر می باشد.

www.SID.ir

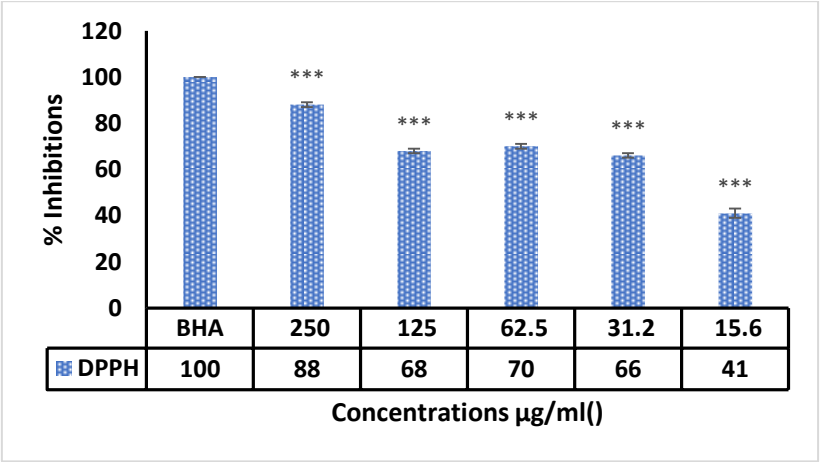
Archive of SID

[DOI: 10.29252/sjimu.26.6.133]
Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir at 14:33 IRDT on Monday May 20th 2019



نمودار شماره ۳. فعالیت مهار رادیکال های آزاد ABTS تحت تاثیر نانوذره نقره در مقایسه با شاهد(BHA) به طور معنی داری(P<0.001) متفاوت است.

توان مهار رادیکال های آزاد DPPH توسط Bi/Ag-NPs: ارزیابی میزان مهار رادیکال های آزاد DPPH نیز مهار وابسته به غلظت را نشان می دهد. در غلظت ۱۵/۶ میزان مهار رادیکال های آزاد در حدود ۴۱ درصد می باشد و با افزایش غلظت به ۲۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر این میزان به حدود ۸۸ درصد افزایش می یابد. نتایج نشان می دهد که این نانوذره با غلظت در حدود ۲۰ میکروگرم بر میلی لیتر قادر به مهار ۵۰ درصد رادیکال های آزاد DPPH می باشد که این در مقایسه با ABTS نشان می دهد که نانوذره قادر است رادیکال های آزاد ABTS را با قدرت بیشتری نسبت به DPPH مهار کند(نمودار شماره ۴).



نمودار شماره ٤. فعالیت مهار رادیکال های آزاد DPPH تحت تاثیر نانوذره نقره در مقایسه با شاهد(BHA) به طور معنی داری(P<0.001) متفاوت است.

بحث و نتیجه گیری

با توجه به پتانسیل بالای نانوذرات نقره و انتشار یون های Ag، اثرات بیولوژیکی و ایمنی آن ها توجه بسیاری از دانشمندان را به خود جلب کرده است. نانوذرات و یون های نقره می توانند ROS تولید کنند و باعث ایجاد استرس اکسیداتیو در سلول ها و در سطوح مولکول ها، اندام ها و کل سلول شوند. عوامل متعددی مانند دوز، زمان تیمار، اندازه، شکل، شیمی سطح و

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.29252/sjimu.26.6.133]

Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir at 14:33 IRDT on Monday May 20th 2019

انواع سلول نقش مهمی در اثر نانوذرات بر سلول ها ایفا می کنند(۲۲). گیاهان حاوی یک شبکه پیچیده از متابولیت های آنتی اکسیدان و آنزیم هایی هستند که برای جلوگیری از آسیب های اکسیداتیو سلول ها عمل می کنند(۲۳).

برخی از گیاهان دارای توانایی بالقوه برای احیاء زیستی یون های +Ag به Ag0 را دارا بوده و سبب تولید نانوذراتی با خاصیت آنتی اکسیدانتی می گردند(۲۴).

از آن جایی که فلاونوئیدها و سایر بیوملکول های گیاهی به عنوان عوامل پوشش دهنده زیست سازگار و غیر سمی هستند، آن ها می توانند به عنوان عوامل طبیعی و سازگار با محیط زیست در سنتز نانوذرات مورد استفاده قرار بگیرند. در واقع، فعالیت آنتی اکسیدانی این مواد پوشش دهنده، نقش مهمی در پیشگیری از سرطان در سلول های نرمال دارد و هم زمان دارای سمیت خاصی در سلول های سرطانی است(۲۵).

تست های رنگ سنجی نانوذرات نقره ای که از عصاره ریشه گیاه انجبار سنتز شده بودند، جهت تأیید حضور ترکیبات آنتی اکسیدانی که روی NP ها وجود دارد و هم چنین اثر سمیت این نانوذره بر دودمان های مختلف سلول سرطانی و نرمال، انجام شد. فعالیت آنتی اکسیدان ها با استفاده از آزمون های DPPH، ABTS و اثر سمیت با استفاده از روش MTT مورد آزمایش قرار گرفت و که تمامی نتایج با افزایش غلظت نانوذرات افزایش نشان داد. در این بررسی حداکثر فعالیت آنتی اکسیدان در مقدار ۲۵۰ میکروگرم در میلی لیتر و بالای ۸۰ درصد نشان داده شد. نتایج حاصل از بررسی آنتی اکسیدان در نمودارهای شماره ۳ و ۴ نشان داده شده است.

اثر سیتوتوکسیک Bi/Ag-NPs با افزایش غلظت (۳/۱-۵۰ میکروگرم/میلی لیتر) در سلول های سرطان کبد(HepG2) و سلول های نرمال پوست(HDF) با استفاده از آزمون MTT ارزیابی شد. همان طور که در نمودارهای شماره ۱ و ۲ نشان داده شده است Bi/Ag-NPs سلول های سرطانی را به صورت وابسته به غلظت مهار نمود. زیستایی سلول ها از حدود ۸۷ درصد(در غلظت ۳/۱ میکروگرم بر میلی لیتر) به ۲۶ درصد(در غلظت ۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر) کاهش نشان داد. و این میزان در غلظت مشابه برای سلول های نرمال از حدود ۷۴ درصد به ۵۲ درصد گزارش گردید. سمیت نانوذره در غلظت های موثر بر سلول های سرطانی در مقایسه با سلول های نرمال نشان می دهد که نانوذره قادر است سلول های سرطانی را با پتانسیل بالاتری مهار نماید. به طور قطع، AgNP های تولید شده بیولوژیک اثر خود را عمدتاً بر سلول های تومور، اما نه بر روی سلول های میزبان می گذارد. اثر سیتوتوکسیک AgNP در سلول های DL (Dalton lymphoma) نشان می دهد که AgNP ها می توانند نقش مهمی در توسعه نانومواد بالقوه و مفید در برابر انواع مختلف سرطان داشته باشند. از طرفی اثر آنتی اکسیدان نانوذره نقره سنتز شده از میوه S.cumini بر مهار رادیکال های آزاد نشان داد این نانوذره قادر است رادیکال های آزاد DPPH و ABTS را با IC_{50} در حدود ۲۲/۱۹ و ۶۶/۳۸ میکروگرم بر میلی لیتر مهار کند که در مقایسه با نانوذره سنتز شده در مطالعه حاضر اثر آنتی اکسیدانی ضعیف تری را نشان می دهد(۲۵).

در مطالعه دیگر اثر آنتی اکسیدانی نانوذرات نقره سنتز شده به روش سبز با تکیه بر مهار رادیکال های آزاد DPPH و ABTS مورد بررسی قرار گرفت در این بررسی نشان داده شد که نانوذرات سنتز شده از عصاره های مختلف گیاهی اثرات آنتی اکسیدان قوی بر مهار رادیکال های آزاد DPPH داشته که بالاترین این اثر(IC_{50}: 1.6µg/ml) مربوط به عصاره میوه و برگ گیاه R. communis می باشد. در این بررسی اثر سمیت نانوذرات سنتز شده بر سلول های سرطان کلیه(vero cells) ارزیابی شد و نتایج نشان داد نانوذرات اثرات سمی بر سلول های سرطانی ندارند(۲۶).

بررسی اثر سمیت نانوذره نقره بر سلول های سرطان پستان انسانی مقاوم به درمان(T47D) نشان داد که نانوذره قادر به مهار ۷۵ درصد از سلول ها در غلظت ۱۵ میکروگرم بر میلی لیتر می باشد(۲۷).

بررسی اثر سمیت نانوذره نقره سنتز شده از برگ گیاه Erythrina suberosa (Roxb.) علیه

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.29252/sjimu.26.6.133]
Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir at 14:33 IRDT on Monday May 20th 2019

سلول های سرطان استخوان A-431 نشان داد که این نانوذره قادراست با IC_{50} در حدود ۷۴/۰۲ میکروگرم بر میلی لیتر سلول های سرطانی را مهار کند. در این بررسی در ادامه توان آنتی اکسیدانی نانوذره بر مهار رادیکال های آزاد ارزیابی شد و نتایج نشان داد نانوذره سنتز شده رادیکال های آزاد DPPH را با IC_{50} حدود ۳۰/۰۴ میکروگرم بر میلی لیتر مهار می کند که قابل مقایسه با بررسی حاضر می باشد(۲۸).

در بررسی انجام شده بر روی اثرات آنتی اکسیدانی نانوذره نقره سنتز شده از سماق نشان داده شد که این نانوذره قادر به مهار رادیکال های آزاد ABTS (IC_{50}:30µM) و DPPH (IC_{50}:170µM) می باشد که نشان دهنده پتاسیل بالای نانوذره سنتز شده در مهار رادیکال های آزاد است. مقایسه نتایج این بررسی با مطالعه حاضر اثر آنتی اکسیدانی ناذرات نقره سنتز شده به روش سبز را تایید می کند(۱۹).

بررسی ویژگی های آنتی اکسیدان و سمیت سلولی عصاره ریشه انجبار نشان داده که این عصاره دارای ویژگی آنتی اکسیدان بالا و سمیت سلولی متوسط می باشد(۱۷) که در مقایسه با بررسی حاضر می توان نتیجه گرفت که نانوذرات نقره سنتز شده از این گیاه مانند عصاره این گیاه اثرات انتی اکسیدانی بالا داشته اما نانوذرات نقره در مقایسه با عصاره گیاه توان بالاتری برای مهار سلول های سرطانی را دارا می باشد و این امر اهمیت سنتز نانوذرات به روش سبز را نشان می دهد.

مطالعات دیگری نیز در ارتباط با ارزیابی توان مهار رادیکال های آزاد توسط نانوذرات نقره انجام شده است که نشان دهنده اثر وابسته به غلظت نانوذره مورد بررسی می باشد و از این جهت قابل مقایسه با بررسی حاضر می باشد(۲۹،۳۰).

بررسی مطالعات بالا نشان می دهد که نانوذرات سنتز شده به روش سبز با استفاده از عصاره های مختلف گیاهی دارای اثرات سمیت سلولی و آنتی اکسیدانتی در سطوح مختلف می باشند که حتی در برخی موارد این نانوذرات اثرات سمیت بالایی بر سلول های سرطانی در مقایسه با سلول های نرمال داشته و پتانسیل بالای آنتی اکسیدانتی شبیه و یا نزدیک به آنتی اکسیدان های صنعتی را دارا می باشند. مشابه با نتایج مطالعات بالا، مطالعه حاضر نشان می دهد که نانوذره نقره سنتز شده از ریشه انجبار پتانسیل بالایی برای مهار سلول های سرطانی در مقایسه با سلول های نرمال داشته و دارای توان آنتی اکسیدانی بالایی نیز می باشد.

این مطالعه نشان می دهد که نانوذرات نقره سنتز شده با استفاده از ریشه انجبار دارای فعالیت مهار رادیکال های آزاد DPPH و ABTS می باشد بنا بر این می توان از این نانوذرات در پیشگیری از بیماری های مرتبط با رادیکال آزاد استفاده نمود. هم چنین اثر سمیت این نانوذره بر سلول های سرطان کبد و سمی نبودن آن بر سلول های نرمال، این نانوذره را به عنوان کاندیدی مناسب در جهت درمان و مهار سلول های سرطانی معرفی می کند. لذا بررسی های بیشتر در جهت شناسایی مکانیسم مهار این نانوذره بر سلول های سرطانی پیشنهاد می شود.

References

1.Rao PV. Phytochemicals and biogenic metallic nanoparticles as anticancer agents. Ox Medicine Cell Longe 20162:23-08. doi:101155/2016/3685671

2.Goodarzi V. Evaluation of antioxidant potential and reduction capacity of some plant extracts in silver nanoparticle synthesis. Mole Biol Res Com 2014; 3: 165-74.

3.Fernandes RPP. Evaluation of antioxidant capacity of 13 plant extracts by three different methods cluster analyses applied for selection of the natural extracts with higher antioxidant capacity to replace synthetic antioxidant in lamb burgers. J Food Sci Technol2016; 53: 451-60. doi:10.1007/s13197-015-1994-x

4.Wong HL. A mechanistic study of enhanced doxorubicin uptake and retention in multidrug resistant breast cancer cells using a polymer lipid hybrid nanoparticle system. J Pharmacol Exp Therap2006; 317: 1372-81.

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.29252/sjimu.26.6.133]
Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir at 14:33 IRDT on Monday May 20th 2019

5.Cai Y. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. Life Sci 2004; 74: 2157-84.doi:10.1016/j.lfs.2003.09.047

6.Kim PS, Djazayeri S, Zeineldin R. Novel nanotechnology approaches to diagnosis and therapy of ovarian cancer. Gynecol Oncol 2011;120: 393-403. doi: 10.1016/j.ygyno.2010.11.029.

7.Manju S, Sreenivasan K. Gold nanoparticles generated and stabilized by water soluble curcumin polymer conjugate blood compatibility evaluation and targeted drug delivery onto cancer cells. J Coll Int Sci2012;368: 144-51. doi:10.1016/j.jcis.2011.11.024

8.Pasupuleti VR. Biogenic silver nanoparticles using Rhinacanthus nasutus leaf extract: synthesis, spectral analysis, and antimicrobial studies. Int J Nanomed 2013; 8: 3355. doi:10.2147/IJN.S49000

9.Sukirtha R. Cytotoxic effect of Green synthesized silver nanoparticles using Melia azedarach against in vitro HeLa cell lines and lymphoma mice model. Proce Biochem 2012; 47: 273-09. doi:10.1016/j.procbio.2011.11.003

10.Daisy P, Saipriya K. Biochemical analysis of Cassia fistula aqueous extract and phytochemically synthesized gold nanoparticles as hypoglycemic treatment for diabetes mellitus. Int J Nanomed 2012;7: 1189. doi: 10.2147/IJN.S26650

11.Santhoshkumar T. Synthesis of silver nanoparticles using Nelumbo nucifera leaf extract and its larvicidal activity against malaria and filariasis vectors. Parasitol Res 2011;108: 693-702. doi:10.1007/s00436-010-2115-4

12.Salam HA. Plants green route for nanoparticle synthesis. Int Res J Biol Sci 2012; 1: 85-90.

13.Narasimhulu G, Reddy KK, Mohamed J. The genus Polygonum Polygonaceae an ethnopharmacological and phytochemical perspectives. Int J Pharm Pharmaceut Sci2014; 6: 21-45.

14.Jahan D, Begum W, Roqaiya M. Review on beekhe anjbar (root of Polygonum bistorta L. Un Pres Mod Pharmacol 2015;3:123-08.

15.Mittal DK, Jena AK, Joshi D. Ameliorative effects of Polygonum bistorta and Zingiber roseum on carbon tetrachloride treated Rats. World J Pharm Pharmaceut Sci 2013; 2: 3522-31.

16.Liu X. An NMR study of a phenyl propanoid substituted catechin from Polygonum bistorta. J Pharm Edu Res 2006; 1: 73-05.

17.Khalid A. Antibacterial activity analysis of extracts of various plants against gram positive and-negative bacteria. Af J Pharm pharmacol 2011;5: 887-93.

18.Ghorbani P. Sumac silver novel biodegradable nano composite for bio medical application. Antibacter Activ Mole2015; 20: 12946-58.

19.Soltani M. Putative mechanism for apoptosis inducing properties of crude saponin isolated from sea cucumber Holothuria leucospilota as an antioxidant compound. Iranian J Bas Med Sci 2015; 18: 180.

20.Li P. Free radical scavenging capacity, antioxidant activity and phenolic content of Pouzolzia zeylanica. J Serbian Chem Soc 2011; 76: 709-07. doi: 10.2298/JSC100818063L

21.Rajamanikandan S. Radical scavenging and antioxidant activity of ethanolic extract of Mollugo nudicaulis by invitro assays. Indian J Pharm Edu Res 2011; 45: 310-06.

22.Zhang T. Cytotoxic potential of silver nanoparticles.Yonsei Med J2014; 55: 283-91.

23.Ahmad N, Sharma S. Green synthesis of silver nanoparticles using extracts of Ananas comosus. Green Sus Chem 2012;2: 141. doi: 10.4236/gsc.2012.24020

24.Bunghez I. Antioxidant silver nanoparticles green synthesized using ornamental plants. J Opt Adv Mate 2012; 14: 1016. doi: 10.18638/scieconf.2016.4.1.386.

25.Mittal AK. Biosynthesis of silver nanoparticles elucidation of prospective mechanism and therapeutic potential. J Coll Int Sci 2014;2: 39-47.

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.29252/sjimu.26.6.133]
Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir at 14:33 IRDT on Monday May 20th 2019

26.Salem ANB. Cytotoxic effect of nanoparticles synthesized from Salvia officinalis L. and Ricinus communis aqueous extracts against vero cell line and evaluation of their antioxidant activities. Af J Biotechnol 2012; 11: 11530-34. doi: 10.5897/AJB12.344

27.Ostad SN. Cytotoxic activities of silver nanoparticles and silver ions in parent and tamoxifen resistant T47D human breast cancer cells and their combination effects with tamoxifen against resistant cells. Av J Med Biotechnol 2010; 2: 187.

28.Mohanta YK. Antimicrobial antioxidant and cytotoxic activity of silver nanoparticles synthesized by leaf extract of Erythrina suberosa Roxb. Front Mole Biosci 2017. 4. doi: 10.3389/fmolb.2017.00014

29.Goodarzi V. Evaluation of antioxidant potential and reduction capacity of some plant extracts in silver nanoparticles synthesis. Mole Biol Res Com 2014; 3: 165.

30.Johnsona A, Obota I, Ukponga U. Green synthesis of silver nanoparticles using Artemisia annua and Sida acuta leaves extract and their antimicrobial antioxidant and corrosion inhibition potentials. J Mate Environ Sci 2014;5: 899-906. doi: 10.1007/s00436-013-3598-6.

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.29252/sjimu.26.6.133]

Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir at 14:33 IRDT on Monday May 20th 2019

Investigating the Cytotoxic Effect and Antioxidant Properties of Green Synthesized Silver Nanoparticles from the Root of Persicaria Bistorta on Human Liver Cancer Cell Line (Hep G2)

Shali R[1], Neamati A [1], Ardalan P[2]*

(Received: December 4, 2017 Accepted: January 26, 2018)

Abstract

Introduction: The use of nanoparticles to inhibit the growth and proliferation of cancer cells is one of the achievements of the nanotechnology science. Studies have shown that silver nanoparticles have cytotoxic effects on the growth of cancerous cells. On the other hand, the antioxidant properties of this nanoparticle have been proven in many studies. Therefore, in this investigation, antioxidant capacity and cytotoxicity effects of silver nanoparticles synthesized from Root of Persicaria bistorta L (Bi/Ag-NPs) on liver cancer cells (HepG2) compared with normal skin cells (HDF) were studied. In addition, ABTS and DPPH free radical scavenging capacity of Bi/Ag-NPs was evaluated using colorimetric tests.

Materials & Methods: In order to evaluate the cytotoxicity effects, first the cancerous and normal cells were cultured and treated with various concentrations of Bi/Ag-NPs and finally, the cell survival rate was estimated using the MTT assay. The antioxidant activity of Bi/Ag-NPs was evaluated according to the amount of ABTS and DPPH free radicals inhibition.

Findings: The results showed that Bi/Ag-NPs inhibited cancer cells with an IC_{50} value of about 3 µg/ml, while at this concentration they were ineffective on normal cells (IC_{50}: 50 µg/ml). The scavenging of ABTS (IC_{50}: 15 µg / ml) and DPPH (IC_{50}: 20 µg/ml) free radicals confirmed the antioxidant properties of Bi/Ag-NPs.

Discussion & Conclusions: The cytotoxic and antioxidant results show that Bi/Ag-NPs can be used as auxiliary agents for treating many diseases that are caused by oxidative stress and other biomedical applications.

Keywords: Antioxidant, Silver nanoparticles, Persicaria bistorta, Cancer

1. Dept of Biology, Faculty of Science, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran
2. Dept of Chemistry, Faculty of Science, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran
** Corresponding author Email: neamati.ali@gmail. com*

www.SID.ir