Journal of North Khorasan University of Medical Sciences
No 41, Volume 11, Issue 1

Research Article

Evaluation of some Biological Properties of Zinc Oxide (ZnO) Nanoparticles synthesized by Green Method using Aqueous Extract of *Rubia tinctrom*

Zahra shamasi [1], Ali Es'haghi [2,*], Masoud Homayouni Tabrizi [2]

[1] Graduate Student of Cellular and Molecular Biology, Department of Biology, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran

[2] Assistant Professor of Biochemistry, Department of Biology, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran

*** Corresponding author:** Ali Es'haghi, Assistant Professor of Biochemistry, Department of Biology, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran. E-mail: ashaghi@gmail.com; eshaghi5510@mshdiau.ac.ir

DOI: 10.21859/nkjmd-110110

How to Cite this Article:
Shamsi Z, Es'haghi A, Homayouni Tabrizi M. Evaluation of some Biological Properties of Zinc Oxide (ZnO) Nanoparticles synthesized by Green Method using Aqueous Extract of Rubia tinctrom. *J North Khorasan Univ Med Sci*. 2019; **11**(1):73-82. DOI: 10.21859/nkjmd-110110

Received: 11 Sep 2018
Accepted: 03 Feb 2019

Keywords:
Zinc Oxide Nanoparticles
Antioxidant
MCF7 Cells
Rubia tinctrom

Abstract

Introduction: Free radicals are molecules that have unpaired electrons in their last layer. The excessive production of free radicals causes oxidative stress. Oxidative stress thus adversely alters proteins, DNA and oxidation of the membrane phospholipids.

Methods: The cytotoxic effects of zinc oxide nanoparticle were evaluated using MTT (3- (4-5-dimethylthiazol-2-yl) -2,5-difenyltetrazolium bromide) assay against MCF7 cell line breast cancer cells. Also, the antioxidant properties of nanoparticles have been investigated using DPPH (1,1-diphenyl-2-picyryl-hydrazyl) and ABTS (2,2-Azino-bis (3- Ethyl benzothiazolin-6-sulfonic acid) procedure.

Results: The obtain results showed that synthetized zinc oxide nanoparticles had an effective antioxidant properties in the DPPH and ABTS assay, which means that by increasing the nanoparticle concentration, the antioxidant property increased and its IC50 values was 1000 and 125µg/ml respectively. The result of the MTT assay was indicated that by increasing nanoparticle concentrations, the viability of MCF7 cells was reduced and IC50 values was reported at 40µg/ml.

Conclusions: Our results shown that synthesized zinc oxide nanoparticles have antioxidant properties and in low concentrations have cytotoxicity effects on cancer cells in compare to the normal cells, which makes this nanoparticle a suitable candidate for use in inhibiting cancer cells.

مجله دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی
دوره ۱۱، شماره ۱، بهار ۱۳۹۸

مقاله پژوهشی

بررسی برخی خصوصیات زیستی نانو ذرات اکسید روی سنتز شده به روش سبز به وسیله عصاره آبی گیاه روناس

زهرا شماسی [۱]، علی اسحاقی [۲*]، مسعود همایونی‌تبریزی [۲]

[۱] دانش‌آموخته کارشناسی ارشد سلولی و ملکولی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران
[۲] استادیار بیوشیمی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران
[*] **نویسنده مسئول:** علی اسحاقی، استادیار بیوشیمی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران. ایمیل: ashaghi@gmail.com

DOI: 10.21859/nkjms-110110

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۶/۲۰
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۱/۱۴
واژگان کلیدی:
نانو ذرات اکسید روی
آنتی اکسیدان
سلول‌های پستان رده MCF7
گیاه روناس

چکیده

مقدمه: رادیکال آزاد مولکول‌هایی هستند که در لایه آخر خود دارای الکترون جفت نشده می‌باشند. تولید بیش از اندازه رادیکال‌های آزاد باعث ایجاد استرس اکسیداتیو می‌شوند. استرس اکسیداتیو می‌تواند باعث صدمه به پروتئین‌ها، DNA و اکسیداسیون فسفولیپیدهای غشاء شود.

روش کار: اثرات سیتوتوکسیک نانوذره با استفاده آزمون MTT (3-[4 و ۵- دیمتیل تیازول- ۲- ئیل]-۲-۵- دیفنیل تترازولیوم برومید) علیه سلولهای سرطان رده سلولی MCF7)) مورد سنجش قرار گرفت. همچنین خواص آنتی اکسیدانی نانوذره با فعالیت حذف رادیکال‌های DPPH (1، 1-دیفنیل-۲-پیکریل-هیدرازیل) و ABTS (2، 2-آزینو بیس (۳-اتیل بنزوتیازولین ۶-سولفونیک اسید) مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج حاصل نشان داد که نانو ذره اکسید روی سنتز شده، خاصیت آنتی اکسیدانی موثری طی تست‌های DPPH و ABTS دارد، به طوری که با افزایش غلظت نانوذره خاصیت آنتی اکسیدانی افزایش یافته و IC50 آن به ترتیب ۱۰۰۰ و ۱۲۵ میکروگرم بر میلی لیتر گزارش شد. همچنین نتیجه حاصل از تست MTT نشان داد که با افزایش غلظت نانو ذره میزان زیستایی سلول‌های سرطانی پستان (MCF7) کاهش می‌یابد و مقدار IC50 حدود ۴۰ میکروگرم بر میلی لیتر گزارش شد.

نتیجه‌گیری: نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که نانوذره اکسید روی سنتز شده دارای خاصیت آنتی اکسیدانی بوده و همچنین قادر است در غلظت پایین سلول سرطان را از بین ببرد و در غلظتی مشابه بر سلول نرمال اثر سمیت نداشته باشد که همین امر این نانوذره را کاندیدی مناسب جهت استفاده در مهار سلول‌های سرطانی می‌کند.

مقدمه

سرطان به دسته‌ای از بیماری‌هایی گفته می‌شود که در آن سلول‌ها توانایی تقسیم و رشد عادی خود را از دست داده و بطور غیرقابل کنترلی تکثیر می‌شوند و ممکن است در بقیه قسمتهای بدن پخش شوند که به این فرایند متاستاز گفته می‌شود. رشد غیرطبیعی این سلول‌ها در نهایت منجر به تشکیل توده‌های بزرگ (تومور) می‌گردد. تومورها به دو دسته تومورهای بدخیم و خوش خیم تقسیم شده، که تومورهای خوش خیم تهدید کننده حیات نمی‌باشند. احتمال بروز سرطان در همه سنین وجود دارد، ولی با افزایش سن زیادتر می‌شود[۱, ۲]. به کمک پیشرفت‌های تکنولوژی در بیوانفورماتیک و تکنیک‌های مولکولی، اطلاعات زیادی بدست آمده است که در شناخت زودرس بیماری سرطان کمک خواهد کرد و همچنین غربالگری به موقع برای بعضی از سرطان‌ها کمک موثری در تشخیص زودرس آن می‌نماید. پژوهشگران پیشرفت‌های قابل توجه ای در شناخت علل بیولوژیکی (ویروس‌ها و باکتری‌ها)، بیوشیمیایی (مواد شیمیایی)، بیوفیزیکی (اشعه‌های یونی و غیریونی) سرطان‌های انسان نموده‌اند[۳]. سرطان پستان، رشد بدخیم سلول‌های سرطانی در بافت پستان است. این سرطان یکی از سرطان‌های شایع در بین زنان می‌باشد که همچنین ممکن است در بین مردان نیز مشاهده شود[۴]. عوامل مختلفی در ایجاد سرطان پستان نقش دارند. از جمله این عوامل عبارتنداز: عوامل ژنتیکی، سابقه خانوادگی، اختلالات هورمونی، سبک زندگی، رژیم غذایی و سابقه قبلی سرطان پستان می‌باشد. انواع سرطان پستان شامل سرطان مجرایی، لوبولی، التهابی پستان، بیماری پاژه نوک پستان می‌باشد[۵]. علائم سرطان پستان شامل وجود برآمدگی و یا ضخیم شدن سینه و یا زیر بغل، تغییر اندازه و یا شکل سینه در فرد بالغ، ترشحات مایع از نوک سینه که شیر نیست، تغییر اندازه و شکل نوک پستان، تغییر رنگ و یا بافت نوک پستان و یا هاله اطراف نوک پستان، فرورفتگی، چروکیدگی

و یا جوش روی پوست سینه می‌باشد. تحقیقات اخیر مشخص شده است که استرس اکسیداتیو نقش عمده‌ای در ایجاد انواع مختلف سرطان دارد[۶].

استرس اکسیداتیو ممکن به دلیل پایین بودن سطح آنتی‌اکسیدان‌ها و یا افزایش بیش از اندازه تولید رادیکال‌های آزاد در بدن صورت پذیرند. ترکیبات شیمیایی و واکنش‌هایی که قادر به تولید گونه‌های فعال اکسیژن می‌باشند پرواکسیدان نامیده می‌شوند. از سوی دیگر ترکیبات و واکنش‌هایی که این گونه‌ها را حذف و یا تولید آنها را سرکوب می‌کنند آنتی اکسیدان نامیده می‌شوند. در یک سلول سالم نسبت متعادلی از پرواکسیدان ها و آنتی اکسیدان ها وجود دارد. این تعادل می‌تواند به دلیل کاهش مقدار آنتی اکسیدان ها و یا تولید بیش از حد پرواکسیدان ها در پی ورود مواد شیمیایی خاص و یا داروها به هم بخورد. به این وضعیت تنش اکسیداتیو گفته می‌شود. تنش‌های اکسیداتیو معمولاً به عنوان اختلال در تعادل بین اکسیدان ها و پیش‌سازهای آن‌ها تعریف می‌شود که منجر به آسیب لیپیدها، پروتئین‌ها و نوکلئیک اسیدها می‌گردد[۷, ۸]. امروزه فناوری نانو کمک شایانی به تشخیص و درمان سرطان کرده است و راهکارهای مناسب و موثری را ارائه می‌نماید[۹]. استفاده از فناوری نانو در مطالعه و درمان سرطان یک زمینه جدید از مطالعات بین رشته‌ای را ایجاد نموده است که علوم مختلفی همچون بیولوژی، شیمی، و پزشکی را در بر می‌گیرد. این تحقیقات سبب بهبود روش‌های تشخیص و درمان سرطان شده‌اند[۱۰]. علم نانوتکنولوژی از طریق به کارگیری نانوذرات و توسعه روش‌های دارورسانی هدفمند به کمک تشخیص و درمان بیماری‌ها آمده است. نانو ذرات پتانسیل بالینی در زمینه تشخیص و درمان بیماری‌ها به ویژه سرطان دارند. استفاده از این نانوذرات به عنوان عوامل افزایش دهنده کنتراست در روش مرسوم تصویربرداری تشدید مغناطیسی و همچنین به عنوان نانوحامل در سیستم‌های نوین دارو رسانی مورد توجه محققین در چند سال اخیر بوده است[۱۱]. امروزه با استفاده از فناوری نانو بهره برداری از ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و زیستی مواد در این مقیاس اندازه‌های کمتر از ۱۰۰ نانومتر در علوم و صنایع مختلف می‌باشد. یافته‌های اخیر نشان داده است اگر ذرات یک ماده خاص در حد چند نانومتر کوچک شوند، این ذرات ویژگی‌های متفاوتی با ذرات اولیه خواهند داشت. بسیاری از مطالعات مشخص کرده‌اند که غلظت‌های پایینی از نانومواد شامل نانوذرات اکسید فلزی قادر به نابودسازی سلول‌های سرطانی هستند[۱۲]. یکی از مهمترین و پرکاربردترین نانو ذرات اکسید روی می‌باشد که دارای خاصیت آنتی اکسیدانی و سلول کشی فراوانی بر روی سرطان‌هایی نظیر گلیوما، پستان و استخوان می‌باشد[۱۳]. نانوذرات اکسید روی (ZnO) در زمینه‌های متعددی از جمله در صنعت و علوم پزشکی و دارویی به عنوان یکی از پرکاربردترین نانوذرات برای مقابله با عفونتهای بیمارستانی ناشی از باکتریهای گرم مثبت و گرم منفی استفاده می‌شوند[۱۴]. برای ساخت نانوذرات از روشهای شیمیایی مختلف استفاده می‌شود که به دلیل تولید آلاینده‌های سمی توصیه نمی‌شود[۱۵]. روش سبز بهترین روش شناخته شده برای سنتز نانوذرات می‌باشد. در این روش از ساختارهای زیستی از جمله گیاهان، جلبک‌ها و میکروارگانیسم‌هایی از قبیل باکتری‌ها، کپک‌های رشته‌ای و مخمرها به منظور تهیه نانوذرات مورد استفاده می‌شود. مزیت این روش استفاده از بیو واکنشگر زیستی و سبز و حذف مواد و حلال‌های سمی و آلاینده می‌باشد[۱۶].

گیاه روناس با نام علمی *Rubia tinctorum* نام یک گونه از سرده روناس است. گیاهی است که به حالت خودرو در مناطق مدیترانه، در شمال آفریقا و بعضی مناطق آسیا می‌روید. ساقه این گیاه پوشیده از خارهای ریز می‌باشد و ارتفاع آن تا حدود دو متر می‌رسد. روناس با استفاده از خارهای ریزی که دارد به دیوار و درختان می‌چسبد و بالا می‌رود. برگهای آن بیضی، نوک تیز و دراز بوده که به صورت گروهی و به شکل چتر از کنار ساقه بیرون می‌آید. گلهای روناس کوچک و به رنگ زرد مایل به سبز می‌باشد. میوه آن گوشتی و به رنگ تیره‌است. ریشه آن به نام روناس معروف است به رنگ قرمز تیره و به صورت دراز، باریک و استوانه‌ای می‌باشد. در گذشته از ریشه آن در رنگرزی پارچه استفاده می‌شده است. ریشه این گیاه از نظر پزشکی قسمت مهم آن به شمار می‌آید. گیاه روناس به دلیل وجود تانن دارای خاصیت قابض بوده، ملین، مسهل و ضد نقرس می‌باشد، از دیگر ویژگی‌های درمانی آن شامل: باز کنندگی گرفتگی‌های بدن است، ادرار آور، اشتها آور، در درمان حساسیت‌های پوستی است[۱۷].

در این مطالعه هدف بررسی اثر آنتی اکسیدانی نانوذره اکسید روی سنتز شده به روش سبز از عصاره آبی گیاه روناس با استفاده از آزمون DPPH، ABTS و خاصیت سلول کشی آن به کمک تست MTT در غلظت‌های مختلف بر روی رده سلولی سرطانی MCF7 می‌باشد.

روش کار

مواد: لاین سلولی سرطان پستان MCF7 از انستیتوپاستور خریداری شد. تریپسین-EDTA، محیط کشت RPMI164، آنتی بیوتیک پنی سیلین استرپتومایسین، سرم جنینی گاو FBS از کمپانی GIBCO خریداری شدند. رنگ MTT و DPPH،ABTS ، BHA احیا شده از شرکت Sigma-Aldrich تهیه شدند.

گیاه روناس از اطراف مشهد جمع آوری شد و سپس در قسمت هرباریوم دانشکده علوم پایه دانشگاه آزاد مشهد شناسایی شد. برای تهیه نانوذره ابتدا ۱۰ گرم از ریشه گیاه روناس آسیاب شد. سپس با ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر به مدت ۱ ساعت در دمای ۴۰ درجه سیلسیوس بر روی هات پلیت استیرر گذاشته شد و از کاغذ صافی عبور داده شد و بدین ترتیب عصاره آبی گیاه روناس تهیه شد. سپس ۱۰ میلی لیتر عصاره گیاه را با ۱۰۰ میلی لیتر استات روی (۹ گرم استات روی با ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر) مخلوط و به مدت ۳ ساعت بر روی هات پلیت استیرر در دمای ۴۰ درجه سیلیسیوس قرار دادیم. رسوب شیری رنگ اکسید روی تشکیل شده را در کوره خشک شد. برای کشت سلولهای MCF7 از محیط کشت RPMI 10% استفاده شد. برای آماده سازی محیط کشت کامل RPMI 10% به ۹۰ سی سی محیط کشت آماده RPMI به میزان ۱۰ میلی لیترسرم جنینی گاو (FBS) و ۱ میلی لیتر پنی سیلین/ استرپتومایسین اضافه می‌شد. ویال حاوی سلول‌های MCF7 از انکوباتور خارج و سپس به بن ماری منتقل گردید. سپس محتویات ویال با حدود ۵ سی سی محیط کشت موجود در فالکون مخلوط شد و محتویات فالکون با دور ۲۷۰۰ به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ انجام گرفت. پس از آن مایع رویی حذف و ۱ میلی لیتر از محیط کشت به پلیت سلولی اضافه گردید. در مرحله بعدی سلول‌ها به فلاسک حاوی ۵ سی

سی محیط کشت منتقل شدند و فلاسک ها در انکوباتور CO_2 با رطوبت و دمای مناسب قرار داده شدند. در فواصل زمانی معین سلول‌ها پاساژ داده می‌شد و به محیط کشت‌های تازه منتقل می‌شدند. برای تخمین میزان سلول‌های زنده و بررسی هر نوع آلودگی از میکروسکوپ معکوس استفاده شد. سپس محلول مایع موجود در فلاسک ها خارج گردید. پس از آن کف فلاسک با بافر فسفات سالین (PBS) دو بار شستشو داده شد. برای جدا کردن سلول‌ها از کف پلیت آنزیم تریپسین اضافه شد. سلول‌ها به کمک رنگ تریپان بلو شمارش شدند و در نهایت سلول‌ها به پلیت ۹۶ خانه جهت انجام تست MTT منتقل شدند و در انکوباتور قرار داده شدند[۱۸]. اساس کار به این صورت است که سلول‌های زنده در غشای میتوکندری خود دارای آنزیم سوکسینات دهیدروژناز می‌باشند، که در واکنش با تترازولیوم و احیا آن کریستال‌های بنفش ایجاد می‌کند و سلولهای مرده چون این آنزیم را ندارند، فورمازان تشکیل نشده و بی رنگ می‌مانند. روش کار به این صورت است که سلولهای MCF7 که از بانک سلولی تهیه شده در پلیت ۹۶ تایی در محیط کشت RPMI کشت داده و پس از ۲۴ ساعت تیمار با نانوذره اکسید روی سنتز شده با عصاره گیاه روناس در غلظت‌های مختلف ۱۰،۲۰،۴۰،۸۰ ,۱۶۰ میکروگرم بر میلی لیتر انجام شد. آزمایش به صورت سه بار تکرار برای هر غلظت از نانوذره و هر زمان انکوباسیون انجام شد. پس از طی دوره‌های انکوباسیون و خارج نمودن پلیت ها از انکوباتور و تخلیه محیط رویی به هریک از چاهک‌ها ۲۰ میکرو لیتر محلول MTT افزوده شد و پلیت ها حدود ۴ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده شدند. پس از آن محیط رویی و MTT تخلیه شد و ۱۰۰ میکرولیتر DMSO که حلال فورمازان می‌باشد، اضافه گردید. میزان رنگ تولیدی به کمک دستگاه الایزا پلیت ریدر در طول موج ۵۷۰ نانومتر مورد ارزیابی قرار گرفت. درصد زیستایی سلول‌ها از فرمول زیر محاسبه گردید.

$$\text{درصد زیستایی} = \frac{\text{میانگین جذب نوری خانه مربوط‌های به هر غلظت}}{\text{میانگین جذب نوری خانه کنترل‌های}} \times ۱۰۰$$

بررسی میزان خاصیت آنتی اکسیدانی نانو ذره اکسید روی سنتز شده با استفاده از تست DPPH و ABTS صورت گرفت. برای انجام تست DPPH از پودر DPPH که بنفش رنگ استفاده شد، که ابتدا آن را به صورت رادیکال آزاد در می‌آوریم. این پودر در اتانول به فرم رادیکالی خود در آمده و در طول موج ۵۱۷ نانومتر دارای ماکزیمم مقدار جذب است. DPPH قادر است با دریافت یک الکترون یا اتم هیدروژن به فرم پایدار خود برسد. زمانی که این رادیکال در معرض یک ماده آنتی اکسیدانت قرار گیرد، طی واکنش با آن حذف می‌گردد و سپس جذب آن در طول موج ۵۱۷ نانومتر کاهش می‌یابد. برای انجام آزمایش ۱ میلی گرم DPPH را در ۱۶/۹ میلی لیتر اتانول ۹۶٪ مخلوط شد. محلول حاصل شده به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی و دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده شد، سپس غلظت‌های ۶۲/۵، ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر نانوذره با محلول DPPH تیمار شدند. مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی گذاشته و سپس جذب را با دستگاه اسپکتوفتومتری خوانش شد. از ترکیب استاندارد، بوتیل هیدروکسی آنیزول (BHA)به عنوان یک آنتی اکسیدان استاندارد استفاده شد. درصد مهار از فرمول زیر محاسبه شد:

$$\text{درصد مهار رادیکال DPPH} = \frac{A_C - A_S}{A_S} \times 100$$

در این رابطه A_C: نشان دهنده جذب محلول شاهد است که حاوی ۰/۵ میلی لیتر محلول DPPH میلی مولار و ۰/۵ میلی لیتر آب مقطر می‌باشد و A_S نشان دهنده جذب محلول حاوی نمونه نانوذره اکسید روی سنتز شده به طریق سبز از گیاه روناس و محلول DPPH می‌باشد[۱۹].

مولکول ABTS به عنوان ماده‌ای معرفی می‌شود که در سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی مواد در صنایع غذایی و در تحقیقات کشاورزی کاربرد زیادی دارد. این ترکیب دارای وزن مولکولی ۵۱/۶۲ گرم بر مول است. این روش هم برای ترکیبات هیدروفیل و هم برای ترکیبات لیپوفیل قابل استفاده است. این ماده همچنین در تعیین سنتیک واکنش‌های شیمیایی کاربرد دارد و نیز در تشخیص اتصالات مولکولی و آنزیمی به خصوص تکنیک الایزا استفاده می‌شود. در این مطالعه فعالیت نانوذره اکسید روی در حذف رادیکال ABTS ارزیابی شد.

اساس این روش به صورتی است که در مرحله اول باید رادیکال‌های ABTS (حالت کاتیونی) تولید شده و پس از آن در یک دوره زمانی، کاهش جذب محلول با اضافه کردن نمونه حاوی نانوذره ثبت می‌شود. برای انجام این آزمایش از روش ری و همکاران استفاده شد.

در این روش ابتدا باید ABTS را به صورت رادیکال آزاد تبدیل شود. برای تبدیل ABTS به صورت رادیکال از پتاسیم پرسولفات استفاده شد. محلول ABTS آن را با ۹ گرم پتاسیم پرسولفات و ۱۰۰ میلی لیتر آب ترکیب شد.

سپس به مدت ۱۶ ساعت در تاریکی قرار داده شد، تا مایع سبز آبی که فرم رادیکال آزاد ABTS است تشکیل شود. این محلول در طول موج ۷۳۴ نانومتر جذب دارد. در این مطالعه از ABTS ۷ مولار استفاده شد. سپس محلول رقیق شده رادیکال ABTS به نسبت ۱:۱ با غلظت‌های ۶۲/۵، ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر نانوذره تیمار شدند. پس از انکوباسیون به مدت ۱ ساعت در ۳۷ درجه سانتی گراد جذب محلول در طول موج ۷۳۴ نانومتر سنجش شد. در این آزمایش از ترکیب بوتیل هیدروکسی آنیزول (BHA)به عنوان استاندارد استفاده شد. درصد حذف رادیکال آزاد نانوذره از رابطه ذیل به دست آمد:

$$\text{درصد مهار رادیکال ABTS} = \frac{A_C - A_S}{A_S} \times 100$$

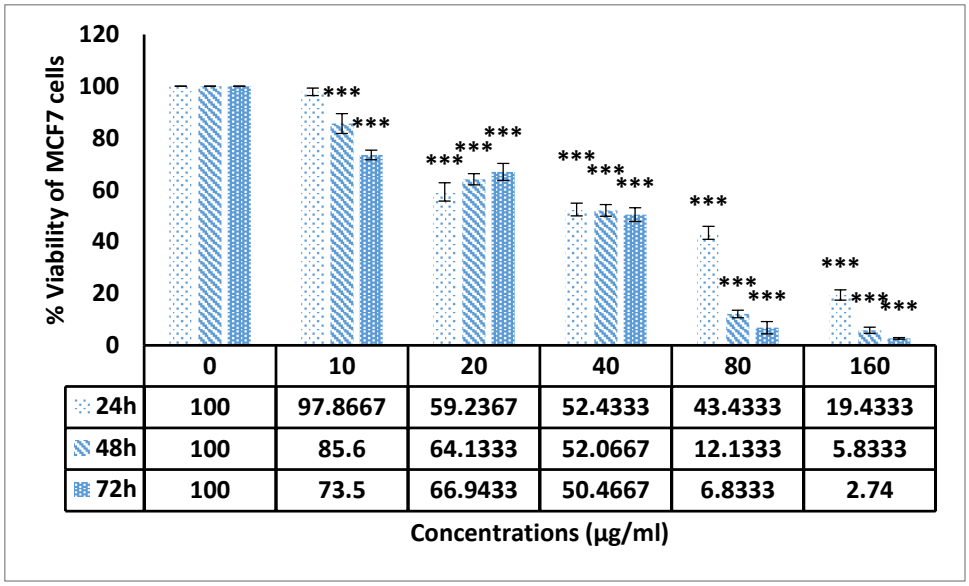
در این رابطه A_C: بیانگر جذب محلول شاهد که حاوی محلول ABTS و آب مقطر و A_S نشان دهنده جذب محلول حاوی نانوذره است[۲۰].

برای تجزیه و تحلیل آماری داده از نرم افزار SPSS استفاده شد. جهت بررسی میزان فعالیت سیتوتوکسیک و آنتی اکسیدانی نانوذره و مقایسه آن با نمونه استاندارد ابتدا تمامی جذب‌های به دست آمده از دستگاه اسپکتروسکوپی به فرمول‌های خاص خود منتقل و اعداد حاصل به نرم افزار SPSS منتقل گردید و از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (one way ANOVA) استفاده شد.

سپس قیاس میانگین‌ها با روش حداقل تفاوت معنی دار (LSD: Least Significant Differences) صورت گرفت. مقدار Error bar بر روی نمودارها میانگین انحراف معیار و سطح اطمینان ۵٪ برای محاسبات در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

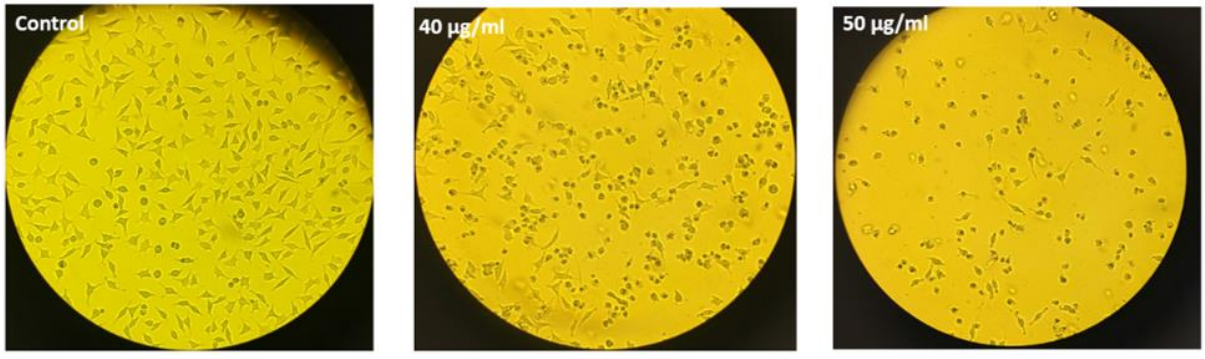
برای بررسی اثر سمیت نانوذرات اکسید روی سنتز شده به روش سبز با استفاده از عصاره گیاه روناس ابتدا سلول‌های MCF7 کشت داده شده و سپس با غلظت‌های مختلف از نانوذرات تیمار شدند. سپس بعد از گذشت زمان‌های مشخص از تیمار سلول‌ها با نانو ذره میزان زیستایی سلول‌ها با استفاده از آزمون MTT مورد سنجش قرار گرفت. همانطور که در شکل ۱ نشان داده شده است، نتایج حاصل از آزمون MTT نشان داد که زیستایی سلول‌ها بسته به هر دو عامل غلظت و زمان تغییر می‌کند. در زمان‌ها و غلظت‌های ابتدایی سلول‌های از توان حیاتی بیشتری برخوردارند و با افزایش غلظت نانو ذره از میزان زیستایی سلول‌ها کاسته می‌شود. در سه زمان ۲۴ و ۴۸ و ۷۲ میزان بیشتری از سلول‌های تیمار شده دچار مرگ شدند. طبق نمودار شکل ۱ مقدار IC_{50}برای هر سه زمان حدود ۴۰ میکروگرم بر میلی لیتر محاسبه شد.



	0	10	20	40	80	160
24h	100	97.8667	59.2367	52.4333	43.4333	19.4333
48h	100	85.6	64.1333	52.0667	12.1333	5.8333
72h	100	73.5	66.9433	50.4667	6.8333	2.74

تصویر ۱: نمودار حاصل از بررسی سمیت نانو ذره اکسید روی سنتز شده توسط عصاره آبی گیاه روناس در سلول‌های MCF7. محور عمودی درصد زیستایی سلول‌ها نشان داده شده است و محور افقی غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسید روی که با سلول‌ها تیمار شده‌اند. در جدول زیر نمودار درصد زیستایی سلول‌ها بعد از مدت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت برای هر غلظت گزارش شده است. هر آزمایش سه بار تکرار شده است و داده‌ها بر اساس ±میانگین انحراف معیار گزارش شده است. بر این اساس *** بیانگر معنی‌داری داده‌ها در سطح $P< ۰/۰۰۱$ می‌باشد.

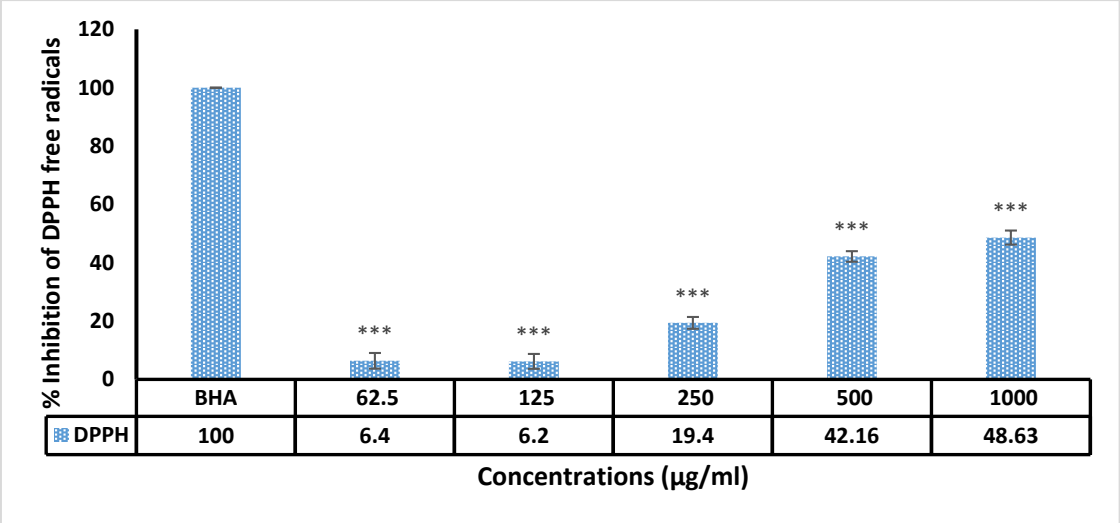
همچنین بررسی‌های مورفولوژی حاصل از اعمال اثر سمیت نانو ذره اکسید روی تولید شده از عصاره آبی گیاه روناس بر روی سلول‌های MCF7 نشان داده که اندازه و تعداد سلول‌های تحت تیمار با نانو ذره در غلظت‌های ۴۰ و ۵۰ در مقایسه با کنترل کاهش یافته است، که این نشان دهنده اثر سیتوتوکسیک نانوذره اکسید روی می‌باشد. همانطور که در شکل ۲ مشاهده می‌شود اندازه و تعداد سلول‌های تحت تیمار با نانوذره کاهش یافته و تغییراتی در ظاهر آنها مانند کاهش سیتوپلاسم، جوانه زدن و پیگمانتاسیون هسته مشاهده می‌شود. با افزایش غلظت نانوذره تعداد سلول‌ها به میزان بیشتری کاهش پیدا کردند و متلاشی شدند که نشان دهنده اثرات سیتوتوکسیک وابسته به غلظت نانوذره اکسید روی می‌باشد.



تصویر ۲: بررسی مورفولوژی اعمال اثر سمیت نانو ذره اکسید روی: سلول‌های MCF7 با غلظت ۴۰ و ۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر نانوذره تیمار شدند بعد از مدت ۲۴ ساعت زیر میکروسکوپ مشاهده شدند. همانطور که در شکل مشخص است با افزایش غلظت نانوذره از تعداد سلول‌ها کاسته شده و مورفولوژی آنها در مقایسه با کنترل متفاوت می‌باشد.

به منظور بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی نانو ذره اکسید روی سنتز شده به روش سبز از عصاره آبی گیاه روناس از آزمون DPPH و ABTS استفاده شد. نشان داد طبق نمودارهای شکل ۳ و ۴ با افزایش غلظت خاصیت آنتی اکسیدانی این نانو ذره افزایش یافت به طوری که به ترتیب در غلظت حدود ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر و حدود ۱۲۵ میکروگرم بر میلی لیتر توانست ۵۰٪ رادیکال آزاد DPPH و ABTS را مهار کند. در این سنجش از BHA به عنوان آنتی اکسیدان استاندارد استفاده شد که توانسته در کمترین غلظت ۱۰۰٪ رادیکال‌های آزاد را از بین ببرد. همانطور که در نمودار شکل ۳ تأثیر غلظت‌های متفاوت نانوذره اکسیدروی سنتز شده به روش سبز از گیاه روناس بر روی رادیکال آزاد DPPH در غلظت‌های ۱۰۰۰ µg/ml، ۵۰۰،۲۵۰،۱۲۵ و ۶۲/۵ از نانوذره و آنتی اکسیدان BHA مورد آزمایش قرار گرفته است.

در غلظت ۱۰۰۰ µg/ml اثر مهار رادیکال آزاد DPPH توسط نانوذره اکسید روی حدود ۴۸ درصد می‌باشد. در غلظت ۵۰۰ µg/ml اثر مهار رادیکال آزاد DPPH توسط نانوذره اکسید روی ۴۲/۱۶ درصد می‌باشد. این نتایج از نظر p value به لحاظ آماری معنی دار می‌باشد. با توجه به نتایج به دست آمده IC_{50}:۱۰۰۰ µg/ml در تست DPPH می‌باشد.



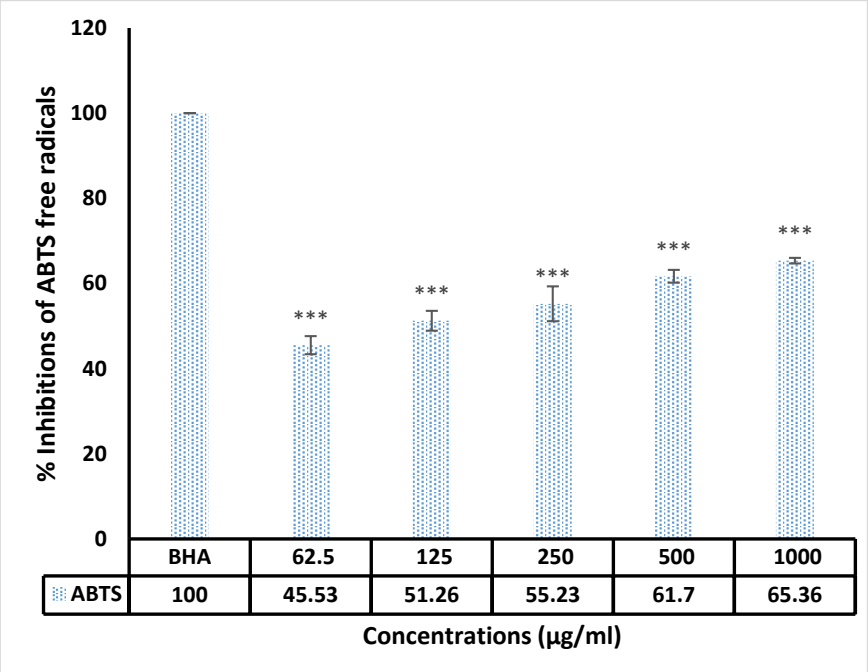
تصویر ۳: نمودار بررسی میزان مهار رادیکال DPPH در غلظت‌های مختلف نانوذره اکسیدروی سنتز شده توسط گیاه روناس. در محور عمودی درصد مهار رادیکال DPPH و در محور افقی غلظت‌های مختلف نانوذره را نشان داده شده است. در این آزمایش از BHA به عنوان آنتی اکسیدان استاندارد استفاده شده است و مقدار مهار به وسیله BHA را ۱۰۰ درصد در نظر گرفته شده است و مهار به وسیله نانوذره با BHA مورد مقایسه قرار گرفته است. هر آزمایش سه بار تکرار شده است. داده‌ها بر اساس ± میانگین انحراف معیار گزارش شده است. بر این اساس *** بیانگر معنی‌داری داده‌ها در سطح P< ۰/۰۰۱ است.

در تصویر ۴ تاثیرغلظت های متفاوت نانوذره اکسید روی سنتز شده به روش سبز از گیاه روناس بر روی رادیکال آزاد ABTS و همچنین در مقایسه اثر آنتی اکسیدانی آنتی اکسیدان صنعتی BHA بر روی رادیکال آزاد ABTS نیز نشان داده شده است. همانطور که در شکل ۴ مشخص می‌باشد غلظت‌های ۱۰۰۰ µg/ml، ۵۰۰،۲۵۰،۱۲۵ و ۶۲،۵ از نانوذره اکسید روی و آنتی اکسیدان صنعتی BHA مورد آزمایش قرار گرفته است. در غلظت ۱۰۰۰ µg/ml اثر مهار رادیکال آزاد ABTS توسط نانوذره اکسید روی حدود ۶۵ درصد می‌باشد. در غلظت ۱۲۵ µg/ml اثر مهار رادیکال آزاد ABTS توسط نانوذره اکسید روی ۵۱/۲۶ درصد گزارش شده است. این نتایج در سطح p<۰/۰۰۱ معنی دار می‌باشند. با توجه به نتایج به دست آمده IC_{50}:۱۲۵ µg/ml در تست ABTS می‌باشد.

بحث

در مطالعه حاضر اثرات سیتوتوکسیک و ضد سرطانی نانوذره اکسید روی سنتز شده به روش سبز از گیاه روناس مورد بررسی قرار گرفته است. این نانوذره توانایی بالایی در القای سمیت سلولی و مهار رشد سلول‌های سرطان پستان (MCF7) نشان داد. مطالعات بسیاری بیانگر اثر سیتوتوکسیک نانوذرات مختلف فلزی از جمله نانو ذره اکسید روی بر سلول‌های سرطانی می‌باشند، که در ذیل به برخی از آن‌ها پرداخته شده است. در مطالعه‌ای بر روی خاصییت سیتوتوکسیک نانو ذره اکسید روی بر روی سلولهای سرطان لوسمی توسط تست MTT انجام گرفته است. نتایج حاصل از این تحقیق نشان می‌دهد که نانو ذرات اکسید روی در غلظت‌های مختلف دارای خاصیت سلول کشی خوبی علیه سلولهای سرطانی لوسمی می‌باشند [۲۱].

در تحقیقی دیگر القا سمیت نانوذرات اکسید روی بر سلول‌های مخاط بینی با آزمون‌های MTT و تریپان بلو مورد بررسی قرار گرفت. این بررسی نشان داده نانوذرات اکسید روی سمیت سلولی را در غلظت ۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر (P > ۰/۰۱) بر این سلول‌ها اعمال کردند، در حالی که نانو ذره اکسید روی سنتز شده از عصاره آبی گیاه روناس با غلظت ۴۰ میکرو گرم بر میلی لیتر دارای ۵۰٪ خاصیت سلول کشی است که اثر بهتری را نشان داد[۲۲]. در مطالعه دیگری خاصیت سلول کشی نانو ذره اکسید روی علیه سلول‌های تومور مغزی U87 مورد بررسی قرار گرفته است. نتایج نشان داده است که نانو ذره در غلظت‌های بالاتر از ۱۵/۶ میکروگرم بر میلی لیتر دارای خاصیت سیتوتوکسیک بسیاری می‌باشد[۲۳].



تصویر ۴: نمودار بررسی میزان مهار رادیکال ABTS در غلظت‌های مختلف نانوذره اکسیدروی سنتز شده توسط گیاه روناس. در محور عمودی درصد مهار رادیکال ABTS و در محور افقی غلظت‌های مختلف نانوذره را نشان داده شده است. در این آزمایش از BHA به عنوان آنتی اکسیدان استاندارد استفاده شده است و مقدار مهار به وسیله BHA را ۱۰۰ درصد در نظر گرفته شده است و مهار به وسیله نانوذره با BHA مورد مقایسه قرار گرفته است. هر آزمایش سه بار تکرار شده است. داده‌ها بر اساس ±میانگین انحراف معیار گزارش شده است. بر این اساس *** بیانگر معنی‌داری داده‌ها در سطح P< ۰/۰۰۱ است.

در تحقیق دیگری سمیت القا شده توسط نانوذرات اکسید روی سنتز شده با استفاده از عصاره آبی جلبک دریایی قهوه‌ای (*Sargassum muticum*) علیه سلول‌های سرطانی موش مورد بررسی قرار گرفت. در این پژوهش اثرات نانوذره روی بر روی رده‌های سلولی سرطانی (CT-26, WEHI-3, 4T1, and CRL-1451)بررسی شده است و از سلول 3T3 به عنوان سلول نرمال استفاده شده است. تیمارسلول های سرطانی با نانوذرات اکسید روی به مدت ۷۲ ساعت و محاسبه IC_{50} درجات مختلفی از سمیت سلولی را نشان داد. بر این اساس IC_{50} نانوذرات اکسید روی طی روش MTT به شرح زیر گزارش شده است. ۱,۳ ± ۲۱,۷ میکروگرم / میلی لیتر (4T1)، ۱,۱ ±۱۷,۴۵میکروگرم/ میلی لیتر (CRL-1451)، و ۰,۸ ± ۱۱,۷۵ میکروگرم / میلی لیتر (CT-26) و ۰,۵۵ ± ۵,۶ میکروگرم/ میلی لیتر (WEHI-3B) بود. از طرف دیگر، این نانوذرات اکسید روی علیه رده سلولی نرمال فیبروبلاست موش (3T3) سمیتی اعمال نکردند[۲۴]. در مطالعه دیگری به بررسی میزان اثر نانو ذره اکسید روی در آلقای آپوپتوز بر سلول‌های سرطان کبد (HEPG2) پرداخته شده است. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داده که نانوذره اکسید روی در غلظتهای ۱۴-۲۰ میکرو گرم بر میلی لیتر طی ۱۲ ساعت میزان زیستایی سلول‌ها را کاهش داده است [۲۵]. در مطالعه‌ای به بررسی اثر نانوذره اکسید روی بر استرس اکسیداتیو و القای آپوپتوز در سلول‌های کارسینوما روده انسان پرداخته شده است. میزان سمیت نانوذره توسط تست MTT مورد سنجش قرار گرفت. نتایج حاصل نشان داده پس از تیمار سلول‌ها توسط نانو ذره اکسید روی در غلظت ۱۱/۵میکروگرم بر میلی لیتر طی ۲۴ ساعت زیستایی سلول‌ها کاهش یافته و این نانو ذره باعث القای آپوپتوز شده در نتیجه ۹۸٪ سلول‌ها دچار مرگ سلولی شده‌اند[۲۶] که این نانو ذره در مقایسه با نانو ذره اکسید روی سنتز شده از گیاه روناس کهIC_{50} طی ۲۴ ساعت زیستایی سلول‌ها را در غلظت حدود ۴۰ میکروگرم بر میلی لیتر کاهش داد اثر بهتری در از بین بردن سلول‌های سرطانی از خود نشان داده است. در پژوهشی دیگر که به بررسی اثر نانوذره اکسید روی بر تخریب DNA و استرس اکسیداتیو و القای آپوپتوز بر سلول‌های بدخیم ملانوما پوست انسان(A375) پرداخته شده است. در این مطالعه میزان سمیت نانو ذره اکسید روی توسط تست MTT مورد بررسی قرار گرفته که نتایج نشان داده این نانو ذره در غلظت ۲۰ میکرو گرم بر میلی لیتر دارای خاصیت سلول کشی طی آزمون MTT از خود نشان داده در حالی که نانو ذره اکسید روی بر روی سلولهای سرطان پستان با غلظت حدود ۴۰ میکروگرم بر میلی لیتر خاصیت سیتوتوکسیک داشته که حاکی از آن است این نانوذره اثر کمتری روی سرطان پستان داشت. همچنین این نانو ذره در القای آپوپتوز و تخریب DNA سلول‌های ملانوما و هم سلول‌های سرطان پستان مؤثر می‌باشد[۲۷]. در مطالعه دیگری استفاده از نانو ذره اکسید روی به منظور درمان از طریق افزایش آپوپتوز و استرس اکسیداتیو در سلول‌های آدنو کاسینوما LTEP-a-2 ریه انسان مورد بررسی قرار گرفته است. در این پژوهش برای بررسی میزان سمیت نانو ذره از تست MTT استفاده شد و تغییرات مورفولوژیکی سلول‌ها با رنگ آمیزی گیمسا و میکروسکوپ نور انجام شد. آپوپتوز با استفاده از میکروسکوپ فلورسنت و آزمون فعالیت کاسپاز ۳ تشخیص داده شد [۲۸]. در مطالعه دیگری که صورت گرفت استفاده از نانو ذره اکسید روی برای تخریب انتخابی سلولهای سرطانی و پتانسیل کاربرد آن به همراه دارو مورد

تحلیل و بررسی قرار گرفته است. در این بررسی، کاربردهای زیست پزشکی نانومواد فلزات و اکسیدروی ZnO در حال توسعه در سطوح آزمایشگاهی، دفاعی و بالینی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفته است. بحث در مورد مزایا، رویکردها و محدودیت‌های استفاده از نانوذرات اکسید فلزی برای کاربردهای سرطانی و تحویل دارو ارائه شده است. محدوده این مقاله بر روی ZnO و دیگر سیستم‌های نانومواد فلزات اکسید و مکانیسم‌های پیشنهادی آنها در مورد اثر سیتوتوکسیک و همچنین رویکردهای جاری برای بهبود هدف گیری و سمیت سلولی در برابر سلول‌های سرطانی متمرکز شده است[۲۹]. نتیجه حاصل از این تحقیق نشان داد که نانو ذره اکسید روی سنتز شده از عصاره آبی گیاه روناس بر روی سلولهای سرطان پستان رده MCF7 دارای سمیت سلولی می‌باشد، که با افزایش غلظت سمیت افزایش یافت و در غلظت حدود ۴۰ میکروگرم بر میلی لیتر توانسته ۵۰٪ سلول‌ها را از بین ببرد. در روش سبز از برخی گیاهان یا میکروارگانیسم‌ها برای سنتز نانوذره فلزی استفاده می‌شود که قادر به احیا زیستی یون‌های فلزی و تولید نانوسیستم های آنتی اکسیدان می‌باشند[۳۰]. سال‌هاست که توانایی فلز روی در تعدیل استرس اکسیداتیو شناخته شده است. در این مطالعه خصوصیات آنتی اکسیدانتی نانوذره اکسید روی سنتز شده به طریق سبز از گیاه روناس بررسی شد و این نانوذرات در جذب رادیکال DPPH , ABTSفعالیت آنتی اکسیدانی مناسبی را نشان دادند. به طوری که خاصیت مهاری در جذب رادیکال‌های ABTS نسبت DPPHبیشتر بوده است. تاکنون مطالعات بسیاری در رابطه با بررسی خواص آنتی اکسیدانتی نانو ذرات فلزی مختلف تولید شده به روش سبز انجام شده است. همچنین میزان فعالیت آنتی اکسیدانی از طریق جذب رادیکال‌های آزاد ABTS,DPPH مورد بررسی قرار گرفت، که نشان داده این نانو ذره دارای خاصیت آنتی اکسیدانی خوبی می‌باشد. در پژوهشی که به وسیله نامور و همکاران در سال ۲۰۱۵ صورت گرفت سمیت القا شده توسط نانوذره اکسید روی سنتز شده توسط عصاره آبی جلبک دریایی *Sargassum muticum* علیه سلول‌های سرطانی موش بررسی شد، که نشان داد تیمار سلول‌های سرطانی با نانو ذره مورد نظر طی ۷۲ ساعت در غلظت ۲۱/۷ میکروگرم بر میلی لیتر توانسته ۵۰٪ سلول‌ها را از بین ببرد. در این پژوهش اثرات نانوذره روی بر روی رده‌های سلولی سرطانی (CT-26, WEHI-3, 4T1, and CRL-1451) و از سلول 3t3 به عنوان سلول نرمال استفاده شده است و همه سلول‌ها بجز رده سلولی CRL1451 در محیط RPMI کشت داده شده‌اند. رده سلولی CRL1451 در محیط DMEM کشت داده شده‌اند [۲۴]. در مطالعه‌ای دیگر که به وسیله وهاب و همکاران در سال ۲۰۱۱ انجام گرفت خاصیت سلول کشی نانو ذره اکسید روی علیه سلولهای توموری صورت گرفت که نشان داد در غلظت‌های بالاتر از ۱۵/۶ میکروگرم بر میلی لیتر این نانوذره دارای خاصیت سیتوتوکسیک می‌باشد. در این پژوهش بر روی سلولهای توموری مغز U87 و سلولهای سرطان دهانه رحم اثرات نانوذره روی بررسی شده است و از سلولهای HEK به عنوان سلولهای نرمال (کنترل) استفاده شده است [۲۳]. نتایج حاصل از دو تحقیق بالا نشان داد که نانو ذره اکسید روی سنتز شده از عصاره آبی گیاه روناس در غلظت بالاتر از این نانو ذرات حدود ۴۰ میکروگرم بر میلی لیتر دارای سمیت سلولی می‌باشد. همچنین در مطالعه دیگری که توسط سایاما و همکاران در سال ۲۰۱۳ صورت گرفت بر روی میزان سمیت سلولی نانو ذره اکسید روی بر روی سلول‌های سرطانی کبد موش (لاین سلولی L929) صورت گرفت نتایج حاکی از آن بود، که در غلظت ۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر می‌تواند ۵۰ ٪ سلول‌ها را از بین ببرد، در حالی که نانوذره اکسید روی سنتز شده از عصاره آبی گیاه روناس در علظت ۴۰ میکروگرم بر میلی لیتر توانست ۵۰ ٪ سلول‌های سرطانی پستان را نابود کند، که اثر بهتری در سمیت سلولی سلول‌های سرطانی نشان داده است [۳۱]. در تحقیقی دیگر که به وسیله دانتهال و همکاران در سال ۲۰۱۳ صورت گرفت، فعالیت آنتی اکسیدانی نانو ذرات نقره سنتز شده با استفاده از عصاره زرد آلو از طریق تست DPPH,ABTS مورد سنجش قرار گرفته و مشخص شده که به ترتیب در غلظت‌های ۷/۱۲ و ۱۶/۱۷میکرو گرم بر میلی لیتر قادر به مهار ۵۰٪ از رادیکال‌های آزاد شدند [۳۲]. همچنین در پژوهشی دیگر خاصیت آنتی اکسیدانی نانو ذره اکسید روی تولید شده از ریشه گیاه *Polygala tenuifolia* توسط تست DPPH , ABTS که در غلظت‌های حدود ۱ میلی گرم بر میلی لیتر دارای مهار ۵۰٪ رادیکال‌های آزاد می‌باشد[۳۳]. در مقایسه با نانو ذره اکسید روی سنتز شده از گیاه روناس DPPH که IC_{50} در حدود غلظت ۱۰۰۰ میکرو گرم بر میلی لیتر و ABTS در حدود ۱۲۵ میکروگرم بر میلی لیتر قادر به مهار رادیکال‌های آزاد می‌باشد. در مطالعه دیگری به بررسی پتانسیل آنتی اکسیدانی نانوذرات اکسید روی تولید شده به روش زیستی از باکتری سودوموناس آئروژینوزا از طریق سنجش جذب رادیکال‌های DPPH ، و آنیون سوپراکسید پرداخته است. نتایج نشان داده است که این نانوذرات در غلظت ۲۰۰ میکرو گرم بر میلی لیتر قادر به مهار ۵۰ ٪ رادیکال‌های آزاد DPPH بودند، که دارای اثرات آنتی اکسیدانی خوبی می‌باشند، که در مقایسه با نانو ذره اکسید روی سنتز شده از عصاره آبی گیاه روناس که در غلظت حدود ۱۰۰۰میکرو گرم بر میلی لیتر رادیکال را مهار می‌کند[۳۴]. در تحقیقی تأثیر نانوذرات اکسید روی بر وضعیت اکسیداتیو و خصوصیات اسپرم‌های بافت بیضه موش دیابتی بررسی شد. تعداد چهل موش مورد مطالعه قرار گرفت. از بین آنها۱۰ عدد به عنوان کنترل در نظر گرفته شد. در این پژوهش به ۳۰ موش صحرایی دیگر دوز یکسانی از استرپتوزوتوسین (۱۰۰ میلی گرم / کیلوگرم) به صورت داخل صفاقی تزریق شد و دچار دیابت شدند. پس از آن موش‌های دیابتی با دوز ۱۰میکرو گرم / میلی لیتر نانوذرات اکسید روی تیمار شدند و مورد بررسی قرار گرفتند. تعداد اسپرم‌ها و تحرک آن‌ها مورد بررسی قرار گرفت. فعالیت آنتی اکسیدانی نانو ذره با بررسی میزان بیان ژن کاتالاز (CAT) در بافت بیضه سنجش شد[۳۵].

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که نانو ذره اکسید روی سنتز شده توسط عصاره آبی گیاه روناس دارای قابلیت القای مرگ سلولی از طریق سنجش تست MTT می‌باشد، که نشان داد با افزایش غلظت خاصیت سلول کشی افزایش یافته و در غلظت حدود ۴۰ میکروگرم بر میلی لیتر قادر به کشتن ۵۰٪ سلول‌های سرطانی MCF7 است. همچنین نتایج حاصل از بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی از طریق مهار رادیکال‌های آزاد DPPH,ABTS نشان داد، که این نانو ذره به ترتیب در غلظت‌های ۱۲۵ و ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر قادر به مهار ۵۰٪ این رادیکال‌های آزاد است.

سپاسگزاری

مقاله حاضر بخشی از نتایج پایان نامه کارشناسی ارشد به شماره پایان نامه ۱۶۲۱۱ می‌باشد. این کار توسط آزمایشگاه بیوشیمی دانشگاه آزاد اسلامی مشهد حمایت گردید. بدین وسیله از کلیه کارشناسان آزمایشگاه که در انجام این پژوهش همکاری نموده‌اند، تشکر و قدردانی می‌گردد.

References

1. Niknamian S, Hosseini Djenab V, Niknamian S, Nazari Kamal M. The Prime Cause, Prevention and Treatment of Cancer. Int Sci Investig J. 2016;5(5):102-24.
2. Chambers AF, Groom AC, MacDonald IC. Dissemination and growth of cancer cells in metastatic sites. Nat Rev Cancer. 2002;2(8):563-72. doi: 10.1038/nrc865 pmid: 12154349
3. Bouvard V, Baan R, Straif K, Grosse Y, Secretan B, El Ghissassi F, et al. A review of human carcinogens--Part B: biological agents. Lancet Oncol. 2009;10(4):321-2. pmid: 19350698
4. Zadeh GRS, Hosseini M, Kermani T, Ataiee M, Akhbari S. Breast cancer and the related factors: A case control study. J Birjand Univ Med Sci. 2011;18(3):191-9.
5. Al-Hajj M, Wicha MS, Benito-Hernandez A, Morrison SJ, Clarke MF. Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells. Proc Natl Acad Sci U S A. 2003;100(7):3983-8. doi: 10.1073/pnas.0530291100 pmid: 12629218
6. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. Chem Biol Interact. 2006;160(1):1-40. doi: 10.1016/j.cbi.2005.12.009 pmid: 16430879
7. Sies H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. Exp Physiol. 1997;82(2):291-5. pmid: 9129943
8. Kohen R, Nyska A. Invited review: Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. Toxicol Pathol. 2002;30(6):620-50.
9. Grodzinski P, Silver M, Molnar LK. Nanotechnology for cancer diagnostics: promises and challenges. Expert Rev Mol Diagn. 2006;6(3):307-18. doi: 10.1586/14737159.6.3.307 pmid: 16706735
10. Schmid G. Nanoparticles: Wiley VCH; 2005.
11. Hilger I. In vivo applications of magnetic nanoparticle hyperthermia. Int J Hyperthermia. 2013;29(8):828-34. doi: 10.3109/02656736.2013.832815 pmid: 24219800
12. Sanguansri P, Augustin MA. Nanoscale materials development–a food industry perspective. Trends Food Sci Technol. 2006;17(10):547-56.
13. Yang H, Liu C, Yang D, Zhang H, Xi Z. Comparative study of cytotoxicity, oxidative stress and genotoxicity induced by four typical nanomaterials: the role of particle size, shape and composition. J Appl Toxicol. 2009;29(1):69-78. doi: 10.1002/jat.1385 pmid: 18756589
14. Shokuhfar T, Vaezi M, Sadrnezhad S, Shokuhfar A. Synthesis of zinc oxide nanopowder and nanolayer via chemical processing. Int J Nanomanufact. 2008;2(1):149-62.
15. Iravani S, Korbekandi H, Mirmohammadi SV, Zolfaghari B. Synthesis of silver nanoparticles: chemical, physical and biological methods. Res Pharm Sci. 2014;9(6):385-406. pmid: 26339255
16. Okada T, Suehiro J. Synthesis of nano-structured materials by laser-ablation and their application to sensors. Appl Surf Sci. 2007;253(19):7840-7.
17. Derksen GC, Van Beek TA. Rubia tinctorum L. Studies in natural products chemistry. 26: Elsevier; 2002. p. 629-84.
18. Morgan DM. Tetrazolium (MTT) assay for cellular viability and activity. Polyamine protocols: Springer; 1998. p. 179-84.
19. Brand-Williams W, Cuvelier M-E, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Lwt-Food Sci Technol. 1995;28(1):25-30.
20. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radic Biol Med. 1999;26(9-10):1231-7. pmid: 10381194
21. Guo D, Wu C, Jiang H, Li Q, Wang X, Chen B. Synergistic cytotoxic effect of different sized ZnO nanoparticles and daunorubicin against leukemia cancer cells under UV irradiation. J Photochem Photobiol B. 2008;93(3):119-26. doi: 10.1016/j.jphotobiol.2008.07.009 pmid: 18774727
22. Hackenberg S, Scherzed A, Technau A, Kessler M, Froelich K, Ginzkey C, et al. Cytotoxic, genotoxic and pro-inflammatory effects of zinc oxide nanoparticles in human nasal mucosa cells in vitro. Toxicol In Vitro. 2011;25(3):657-63. doi: 10.1016/j.tiv.2011.01.003 pmid: 21232592
23. Wahab R, Kaushik NK, Verma AK, Mishra A, Hwang IH, Yang YB, et al. Fabrication and growth mechanism of ZnO nanostructures and their cytotoxic effect on human brain tumor U87, cervical cancer HeLa, and normal HEK cells. J Biol Inorg Chem. 2011;16(3):431-42. doi: 10.1007/s00775-010-0740-0 pmid: 21140179
24. Namvar F, Rahman HS, Mohamad R, Azizi S, Tahir PM, Chartrand MS, et al. Cytotoxic effects of biosynthesized zinc oxide nanoparticles on murine cell lines. Evid Based Complement Alternat Med. 2015;2015:593014. doi: 10.1155/2015/593014 pmid: 25784947
25. Sharma V, Anderson D, Dhawan A. Zinc oxide nanoparticles induce oxidative DNA damage and ROS-triggered mitochondria mediated apoptosis in human liver cells (HepG2). Apoptosis. 2012;17(8):852-70. doi: 10.1007/s10495-012-0705-6 pmid: 22395444
26. De Berardis B, Civitelli G, Condello M, Lista P, Pozzi R, Arancia G, et al. Exposure to ZnO nanoparticles induces oxidative stress and cytotoxicity in human colon carcinoma cells. Toxicol Appl Pharmacol. 2010;246(3):116-27. doi: 10.1016/j.taap.2010.04.012 pmid: 20434478
27. Alarifi S, Ali D, Alkahtani S, Verma A, Ahamed M, Ahmed M, et al. Induction of oxidative stress, DNA damage, and apoptosis in a malignant human skin melanoma cell line after exposure to zinc oxide nanoparticles. Int J Nanomedicine. 2013;8:983-93. doi: 10.2147/IJN.S42028 pmid: 23493450
28. Wang C, Hu X, Gao Y, Ji Y. ZnO Nanoparticles Treatment Induces Apoptosis by Increasing Intracellular ROS Levels in LTEP-a-2 Cells. Biomed Res Int. 2015;2015:423287. doi: 10.1155/2015/423287 pmid: 26339612
29. Rasmussen JW, Martinez E, Louka P, Wingett DG. Zinc oxide nanoparticles for selective destruction of tumor cells and potential for drug delivery applications. Expert Opin Drug Deliv. 2010;7(9):1063-77. doi: 10.1517/17425247.2010.502560 pmid: 20716019
30. Bunghez I, Barbinta Patrascu M, Badea N, Doncea S, Popescu A, Ion R. Antioxidant silver nanoparticles green synthesized using ornamental plants. J Optoelectron Adv Mater. 2012;14(11):1016.
31. Syama S, Reshma S, Sreekanth P, Varma H, Mohanan P. Effect of zinc oxide nanoparticles on cellular oxidative stress and antioxidant defense mechanisms in mouse liver. Toxicol Environ Chem. 2013;95(3):495-503.
32. Dauthal P, Mukhopadhyay M. In-vitro free radical scavenging activity of biosynthesized gold and silver nanoparticles using Prunus armeniaca (apricot) fruit extract. J Nanopart Res. 2013;15(1):1366.

33. Nagajyothi PC, Cha SJ, Yang IJ, Sreekanth TV, Kim KJ, Shin HM. Antioxidant and anti-inflammatory activities of zinc oxide nanoparticles synthesized using Polygala tenuifolia root extract. J Photochem Photobiol B. 2015;146:10-7. doi: 10.1016/j.jphotobiol.2015.02.008 pmid: 25777265
34. Singh BN, Rawat AK, Khan W, Naqvi AH, Singh BR. Biosynthesis of stable antioxidant ZnO nanoparticles by Pseudomonas aeruginosa rhamnolipids. PLoS One. 2014;9(9):e106937. doi: 10.1371/journal.pone.0106937 pmid: 25187953
35. Afifi M, Almaghrabi OA, Kadasa NM. Ameliorative Effect of Zinc Oxide Nanoparticles on Antioxidants and Sperm Characteristics in Streptozotocin-Induced Diabetic Rat Testes. Biomed Res Int. 2015;2015:153573. doi: 10.1155/2015/153573 pmid: 26581756