

بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی و ضد سرطانی نانوذرات اگزالی پالادیم سنتز شده با عصاره آبی گیاه خارمریم

فهیمة آزادی منش^۱ | عادلہ دیوسالار^{۲*} | علی اکبر صبوری^۳

۱- کارشناسی ارشد بیوفیزیک، گروه زیست شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی تهران، ایران.

۲- دانشیار بیوفیزیک گروه علوم سلولی و مولکولی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی تهران، ایران.

۳- استاد بیوفیزیک، مرکز تحقیقات بیوشیمی فیزیک، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

چکیده: سرطان یکی از مهمترین مسائل مرتبط با سلامت عمومی در سرتاسر جهان است و علی‌رغم پیشرفت‌های سریع و عظیم تحقیقاتی در زمینه‌های بیوپزشکی، همچنان یکی از عوامل اصلی مرگ و میر بشمار می‌رود. هدف از این پژوهش سنتز، شناسایی و بررسی ویژگی ضدسرطانی نانوذرات اگزالی پالادیوم سنتز شده با استفاده از عصاره‌ی آبی دانه‌ی گیاه خارمریم است. کاهش یون‌های پالادیم پس از انکوباسیون و واکنش عصاره‌ی گیاه با محلول اگزالی پالادیم در شرایط دمایی ۵۰ درجه‌ی سانتی‌گراد بررسی شد. همچنین، خصوصیات فیزیکوشیمیایی نانوذرات اگزالی پالادیوم سنتز شده با روش شیمی سبز با استفاده از تکنیک‌های طیف سنجی مرئی فرابنفش و پراکندگی دینامیکی نور (DLS) و میکروسکوپ الکترونی روبشی مورد بررسی قرار گرفت. در نهایت، سمیت سلولی و خواص ضد تکثیر نانوذرات سنتز شده در برابر رده‌ی سلولی HTC116 سرطان روده‌ی بزرگ انسان مطالعه شد. نتایج طیف سنجی مرئی فرابنفش و DLS بیانگر تشکیل نانوذرات پایدار اگزالی پالادیم در دمای ۵۰ درجه‌ی سانتی‌گراد با ابعاد حدود ۶۰ نانومتر بودند. همچنین، بر اساس نتایج بدست آمده از SEM نانوذرات اگزالی پالادیم دارای ساختمان کروی و سالم بودند. نتایج حاصل از بررسی سمیت سلولی نشان داد که نانوذرات اگزالی پالادیوم تولید شده در یک الگوی وابسته به دوز و زمان موجب القا مرگ سلولی در رده‌ی سلول سرطانی کولون می‌شوند. سنتز نانوذرات اگزالی پالادیوم با استفاده از روش شیمی سبز به وسیله‌ی عصاره‌ی دانه‌ی گیاه خارمریم، مسیری زیست‌سازگار و مقرون به صرفه برای تولید نانوذرات دارویی با ویژگی ویژه است.

واژه‌های کلیدی: اگزالی پالادیوم، شیمی سبز، عصاره خارمریم، ضدسرطان

* divsalar@khu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۱/۱۲

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۰/۱۵

بهار ۱۴۰۰ | شماره ۱ | سال هشتم

زمینه نانو فناوری یکی از فعال ترین بخش های پژوهشی در علوم جدید و زمینه ای رو به رشد و تاثیر گذار در تمام حوزه های زندگی بشر است، کاربردهای جدید نانوذرات و نانومواد به سرعت در حال ظهور است [۳-۱]. با وجود پیشرفت ها و تحقیقات گسترده در شیوه های درمانی سرطان، درمان های فعلی هنوز محدود به جراحی، پرتودرمانی، شیمی درمانی و ایمونوتراپی می شود. شیمی درمانی های متعارف توزیع غیراختصاصی در بدن دارند به طوری که هم بر سلول های سرطانی و هم بر سلول های سالم و طبیعی اثر می گذارند [۴]. بنابراین، توسعه روش های پیشرفته برای درمان سرطان نیازی فوری و ضروری است، از جمله می توان به توسعه نانومواد و نانوحامل ها برای بهبود انتقال دارو در درمان سرطان اشاره کرد [۵].

نانوذرات درمانی، ذرات تشکیل شده از واحدهای درمانی از قبیل مولکول های دارویی کوچک، لیپیدها، پروتئین ها و نوکلئیک اسیدها به همراه اجزائی که با آنها جمع می شوند از قبیل لیپیدها و بسپارها برای تشکیل نانوذرات درمانی هستند [۶]. به منظور بهبود توزیع زیستی داروهای سرطان، نانوذرات با دارا بودن ویژگی های سطحی مطلوب برای افزایش مدت زمان عمل آنها طراحی شدند. آنها داروهای فعال بارگذاری شده را به سلول های سرطانی به صورت انتخابی و با استفاده از ویژگی های پاتوفیزیولوژی منحصربه فرد تومورها از قبیل نفوذپذیری افزایش می دهند [۷].

در این میان نانوذرات فلزی با استفاده از روش های فیزیکی و شیمیایی سال های سال تولید شده اند، به طور کلی بهره برداری از عوامل کاهنده ی قابل قبول ممکن است منجر به جذب مواد شیمیایی خطرناک بر روی سطح نانوذرات شوند و سپس، منجر به سمیتی ناخواسته شوند. بنابراین، توسعه ی فرایندهای شیمیایی سبز برای تولید نانوذرات زیستی بسیار مهم و حیاتی است [۸].

در سال های اخیر، گیاهان دارویی بسیاری به عنوان عوامل شیمیایی چند منظوره ی سبز که قادر به تسهیل فرایندهای مصنوعی هستند مورد آزمایش قرار گرفتند. به دلیل زیست-سازگاری، مقرون به صرفه بودن و عدم استفاده از هرگونه مواد شیمیایی سمی برای سنتز، روش های زیستی (شیمی سبز) برای تولید نانوذرات اهمیت زیادی دارند. منطق استفاده از گیاهان

برای سنتز نانوذرات تنها متکی بر ساده، سریع و آسان بودن تولید آنها نیست، بلکه ذرات سنتز شده باثبات و قابل اعتمادتر نسبت به روش های مرسوم دیگر هستند [۹].

گروه های متفاوتی با استفاده از عصاره های موادزیستی متنوع مبتنی بر گیاه [۱۰-۱۳] در سنتز نانوذرات فلزی پایدار (اغلب Au، Ag، آلیاژ چندفلزی و تا حدودی نانوذرات پالادیم و پلاتین) به این هدف دست یافته اند. این عصاره های طبیعی غنی از بیومولکول های طبیعی مانند پلی فنول محلول در آب هستند که دارای ویژگی کاهشی قوی و تمایل بالا به جذب به سطح نانوذرات فلزی دارند و پایداری و پراکندگی خود را ارتقا می دهند شیمی سبز در واقع یک روش سنتزی بسیار افزایش یافته برای تولید نانوذرات فلزی است و مانند گونه های شیمیایی می تواند نقش ترکیبی از عوامل کاهنده و عوامل تثبیت کننده را برای گستره وسیعی از نانوذرات فلزی بازی کند [۱۴-۱۶].

داروهای پلاتینی نقش کلیدی را بین عوامل ضدسرطان بر پایه ی فلز بازی می کنند به طوریکه اولین نسل از این داروها سیس پلاتین بود. از آنجاییکه داروهای پلاتینی دارای عوارض جانبی فراوانی هستند برای حل مشکل فوق، کمپلکس های پالادیم توسط گروه زیادی از پژوهشگران در سراسر جهان سنتز و آزمایش می شوند تا با اثرات جانبی کمتر جایگزین کمپلکس های معمول پلاتین شوند [۸].

پس در پژوهش حاضر، سنتز نانوذرات اگزالی پالادیم با روش شیمی سبز و با استفاده از عصاره ی گیاه خارمریم (*Silybum marianum*) انجام شده و ویژگی فیزیکی و شیمیایی نانوذرات سنتز شده مورد بررسی و نهایتا اثر ضد سرطانی سامانه ی دارورسانی در مقیاس نانو برای درمان هدفمند سرطان روده ی بزرگ بررسی شد.

ترکیبات اصلی تشکیل دهنده ی گیاه خار مریم شامل سیلیبین آ، سیلیبین ب، ایزوسیلیبین آ، ایزوسیلیبین ب، سیلیکریستین آ، سیلیکریستین ب و سیلیدیانین هستند. از جمله سایر ترکیبات این گیاه می توان به سیلیبینم، سیلاندرین، دزوکسی سیلیدیانین، دزوکسی سیلیکریستین، دهیدروسیلیبین، سیلیپهرمین و نئوسیلیمرم اشاره کرد. ویژگی مشترک این ترکیبات ساختار فلاونولیکان با وزن مولکولی ۴۸۲ است. در واقع هسته های فلاونولیکان شامل دی هیدرو فلاوانول

حاصله را برای آزمایشات بعدی و به منظور حفاظت از ترکیبات موثر گیاه و عدم تغییر ساختار شیمیایی در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌شود [۱۷].

۲-۲- سنتز نانوذره‌ی اگزالی‌پالادیم

یک میلیلیتر از محلول اگزالی‌پالادیم با غلظت ۲ میلی‌مولار را به عصاره‌ی حاصله از دانه‌ی گیاه خارمریم افزوده کرده (نسبت ۱ به ۵) و محلول را در دمای ۵۰ درجه‌ی سانتی‌گراد در دستگاه شیکرانکوباتور قرار داده می‌شود. سپس، محلول را در دستگاه اولتراسونیک قرار داده و پس از آن گریزان می‌شود. رسوب حاصله را در آب مقطر حل کرده و برای خشک شدن در دستگاه فریزدرایر به مدت ۲۴ ساعت قرار داده می‌شود. سرانجام پودر خشک شده‌ی نانوذرات اگزالی‌پالادیم برای بررسی تشخیص سنتز نانوذرات، شکل و ابعاد ذرات با روش‌های طیف سنجی مرئی-فرابنفش، میکروسکوپ الکترونی روبشی و پراکندگی دینامیکی نور بررسی می‌شود.

۲-۳- تعیین ویژگی‌های نانوذره‌ی اگزالی‌پالادیم

مطالعات طیف‌سنجی مرئی-فرابنفش

با استفاده از طیف سنجی مرئی-فرابنفش مدل CONE-300 ساخت کشور آمریکا تشخیص و شناسایی نانوذرات اگزالی‌پالادیم انجام شد، در واقع روند احیاء فرایند و تشکیل نانوذرات با اندازه-گیری مرئی-فرابنفش مورد بررسی قرار گرفت در پی مشاهدات انجام شده، احیاء یون‌های پالادیم به نانوذرات اگزالی‌پالادیم هنگامی که در معرض عصاره‌ی دانه‌ی گیاه خارمریم قرار گرفت با تغییرات تدریجی در رنگ محلول واکنش از زرد روشن به زرد مایل به قهوه‌ای انجام شد.

مطالعات پراکندگی دینامیکی نور

سپس با استفاده از دستگاه پراکندگی دینامیکی نور (DLS) مدل Brookhaven Instruments Corporation ساخت کشور آمریکا اندازه‌ی نانوذرات اگزالی‌پالادیم سنتز شده مورد بررسی قرار گرفت.

تاکسیفولین متصل به شبه الکل کونیفریل از طریق حلقه اکسران مسئول فعالیت زیستی خار مریم هستند. باز شدن این حلقه سبب از دست دادن فعالیت می‌شود. ساختار شیمیایی سیلی‌بین در سال ۱۹۷۵ با استفاده از روش‌های تجزیه مشخص شد [۱۷].

از میان سرطان‌ها، سرطان روده‌ی بزرگ دومین علت شایع مرگ و میر مرتبط با سرطان هاست که هنوز توسط روش‌های درمانی فعلی ریشه کن نشده است. درمان‌های حال حاضر برای درمان سرطان از قبیل جراحی، رادیوتراپی و شیمی درمانی اغلب در برابر مراحل پیشرفته‌ی سرطان ناموفق هستند و همچنین دارای اثرات جانبی شدیدی هستند. در این زمینه استفاده‌ی روز افزون از مواد شیمیایی گیاهی برای سنتز و تثبیت نانو ذرات فلزی غیرسمی در طراحی داروهای ضدسرطان به طور فزاینده‌ای در حال افزایش است. در این پژوهش، ضمن معرفی کمپلکس فلزی جدید علیه سرطان روده‌ی بزرگ با عوارض جانبی کمتر، حاملی طراحی شده است که زیست‌تجزیه‌پذیر و زیست‌سازگار بوده و نیم‌عمر دارو را افزایش داده و غلظت داروی مصرفی را کاهش می‌دهد.

در این پژوهش، طراحی و ساخت سامانه‌ی جدید انتقال داروی اگزالی‌پالادیمی در پوششی گیاهی در مقیاس نانو مورد بررسی قرار می‌گیرد، که در واقع قرار دادن داروی جدید ضد سرطان اگزالی‌پالادیم در پوششی از گیاه خارمریم که دارای ویژگی آنتی‌اکسیدانی است. از آنجایی که این تحقیق به دنبال ساخت نانوکپسول گیاهی است به دلیل زیست سازگاری، زیست‌تجزیه‌پذیری، آنتی‌اکسیدانی، مقرون به صرفه بودن و عدم استفاده از هر گونه مواد شیمیایی سمی برای سنتز ضمن اهمیت زیاد، جایگاه ویژه‌ای را در عرصه‌ی دارودرمانی نوین به خود اختصاص داده است.

۲- بخش تجربی

۲-۱- تهیه‌ی عصاره‌ی آبی گیاه

۳ گرم از پودر تهیه شده از دانه‌ی گیاه خارمریم (*Silybum marianum*) جمع‌آوری شده از استان البرز شهر کرج، را با ۵۰ سی‌سی آب دیونیزه مخلوط کرده و جوشانده می‌شود و بعد از سرد شدن محلول، آن را از کاغذ واتمن عبور داده و عصاره‌ی

مطالعات میکروسکوپ الکترونی روبشی

همچنین، ویژگی‌های ریخت‌شناسی نانوذرات اگزالی‌پالادیم با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی مدل Hitachi SE-4160 ساخت کشور جمهوری چک مورد بررسی قرار گرفت.

آنالیز طیف‌سنجی فروسرخ-تبدیل فوریه (FTIR)

برای بررسی گروه‌های عاملی فعال و تغییر در موقعیت این گروه‌ها در طیف جذبی مادون قرمز-تبدیل فوریه موجود در نانوذرات سنتز شده و عصاره گیاه خار مریم، از دستگاه Thermo Nicolet مدل NEXUS ۸۷۰ استفاده شد.

۴-۲- بررسی اثرات ضد سرطانی نانوذرات اگزالی‌پالادیم

رده‌ی سلولی HTC116 سرطان کلون از انیستیتو پاستور ایران خریداری شد. در محیط کشت DMEM حاوی سرم جنین گاوی ۱۰ درصد، ۱۰۰ یونیت بر میلی‌لیتر آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین و ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین (شرکت گیکو) کشت داده و در شرایط دمایی ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد و ۵ درصد دی‌اکسیدکربن انکوبه شدند. سلول‌ها با غلظت $4 \times 10^3 \text{ cell/cm}^2$ در فلاسک‌های ۲۵ سانتی‌متر مربع کشت داده شدند. محیط آنها هر یک یا دو روز تعویض شد و هنگامی که سلول‌ها ۸۰ درصد سطح فلاسک را پر نمودند، پاساژ داده شدند. نهایتاً به بررسی سمیت سلولی داروی کپسوله شده بر روی سلول‌های سرطانی روده رده HCT116 و مقایسه آن با فعالیت دارو به شکل آزاد پرداخته شد. به منظور بررسی مقدار بقا سلولی، تاثیرات سیستم نانوکپسول طراحی شده حامل دارو و مقایسه‌ی آن با حالت بدون کپسول (داروی آزاد) بر روی رشد و تکثیر سلول‌های سرطان کولون رده‌ی HTC115، سلول‌های بالا به مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت در غیاب و در حضور غلظت‌های متفاوت از دارو (اگزالی-پالادیم) کپسوله و آزاد انکوبه شدند. در نهایت، آزمون MTT انجام و مقدار بقا سلولی محاسبه شد. اساس این روش بر پایه‌ی تبدیل محلول زرد رنگ [۳-۴،۵) دی‌متیل تiazول-۲-ایل]-۲،۵-دی فنیل تترازولیوم برومید] به بلورهای نامحلول و بنفش رنگ فورمازان با آنزیم‌های دهیدروژناز میتوکندریایی استوار است. بر این اساس، سلول‌های زنده‌ای که میتوکنری فعال دارند، قادر به انجام این واکنش هستند و سلول‌های مرده

توانایی انجام این واکنش را ندارند [۱۸]. پس از پایان انکوباسیون، جهت نورسنجی به هر کدام از چاهک‌ها ۱ میلی‌لیتر دی‌متیل سولفوکسید افزوده شد. نگاه دانسیته نوری محلول درون هر چاهک با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتری با طول موج ۵۷۰ نانومتر سنجیده شد و نهایتاً مقادیر CC_{50} یا غلظتی از ترکیبات بالا که ایجاد ۵۰٪ مرگ و میر در سلول‌ها می‌کنند محاسبه شد.

داده‌ها با آزمون آنوای یک طرفه و نرم افزار InStat-3 تحلیل آماری شدند. همه آزمایش‌ها با $P < 0/05$ معنی دار تلقی گردید و هر آزمایش حداقل ۳ مرتبه تکرار شد.

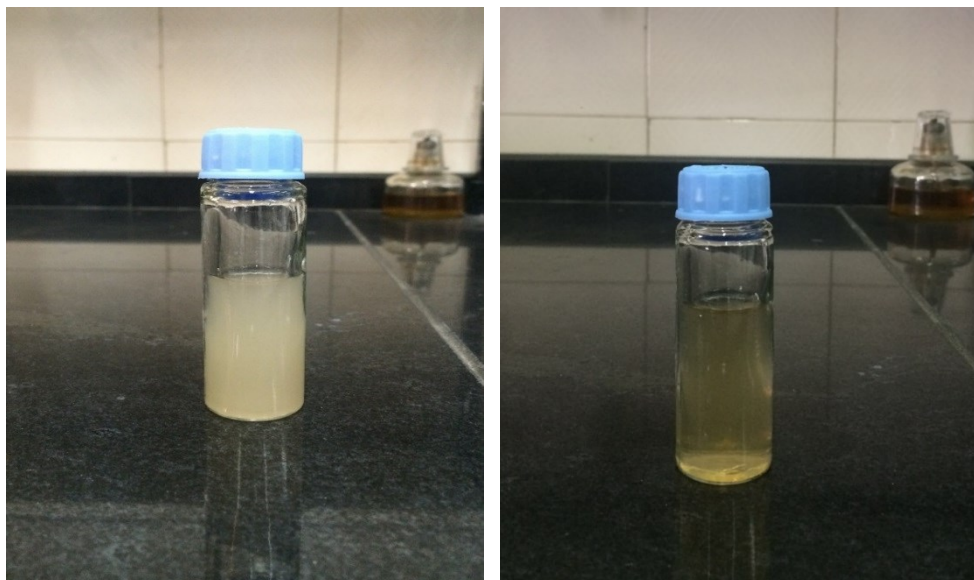
۳- نتایج و بحث

در این پژوهش، سنتز نانوذرات اگزالی‌پالادیم با استفاده از روش شیمی سبز به وسیله‌ی عصاره‌ی دانه‌ی گیاه خارمریم انجام گرفت. از عصاره‌ی گیاه خارمریم برای سنتز نانوذرات اگزالی-پالادیم استفاده شد. در واقع در این کار از پوشش گیاهی به عنوان پوششی برای داروی ضد سرطان اگزالی‌پالادیم در مقیاس نانو استفاده شده است. به بیانی دیگر سنتز نانوذرات اگزالی‌پالادیم بر اساس احیای یون‌های پالادیم است که به منظور ساخت نانوذرات، عصاره‌ی دانه‌ی گیاه خارمریم به محلول اگزالی‌پالادیم افزوده شد. نخستین نشانه از تولید نانوذرات اگزالی‌پالادیم تغییر رنگ محلول است که در شروع واکنش زرد کم رنگ و پس از پایان زمان انکوباسیون در دماهای فوق، رنگ محلول به رنگ زرد تیره متمایل شد. (شکل ۱) این تغییر رنگ نشان دهنده‌ی احیای یون‌های پالادیم در محلول و تولید نانوذرات اگزالی‌پالادیم است.

مطالعات فیزیکیوشیمیایی

به منظور تعیین دقیق ویژگی‌های نانوذرات سنتز شده از روش‌های آنالیزی متفاوتی استفاده شد. در این میان از طیف سنجی مرئی-فرابنفش جهت بررسی تشکیل نانوذرات استفاده شد. نتایج حاصل از این آنالیز، احیاء یون‌های پالادیم و تشکیل نانوذرات اگزالی‌پالادیم در پوشش گیاهی خارمریم را نشان می‌دهد. طیف احیاء از محلول اگزالی‌پالادیم که در واقع طیف پیش از واکنش است در ناحیه‌ی ۲۰۸ نانومتر دارای جذب بوده

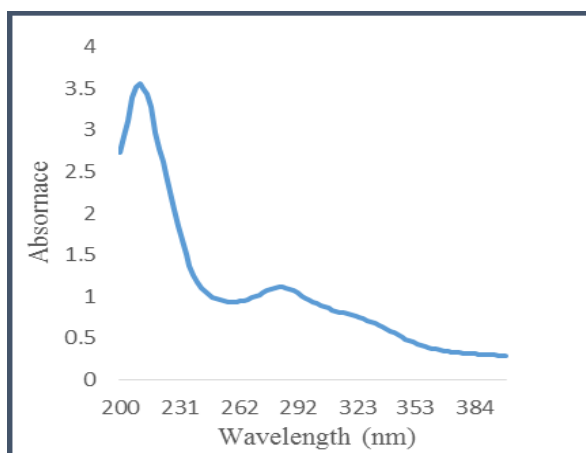
که نشان دهنده‌ی حضور یون‌های پالادیم Pd(II) در محلول است. این طیف پس از انجام واکنش برای تایید، تشخیص و تشکیل نانوذرات اگزالی‌پالادیم طیف سنجی انجام گرفت که در مقایسه با طیف قبل از انجام واکنش، پیک مشاهده شده در ناحیه‌ی ۲۰۸ نانومتر حذف شد که این امر به دلیل احیاء یون‌های پالادیم به نانوذرات اگزالی‌پالادیم است (شکل ۲ و ۳)



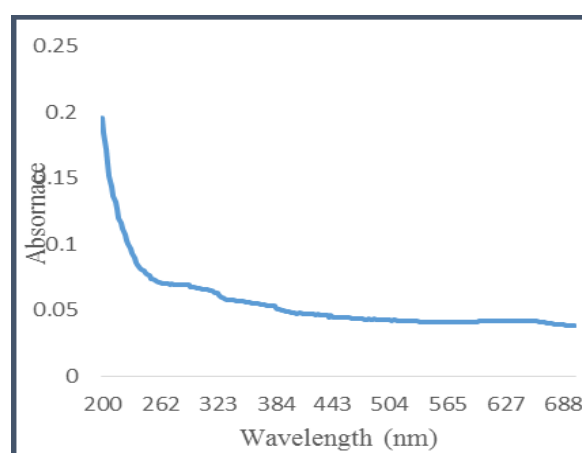
شکل ۱: سنتز نانوذرات اگزالی‌پالادیم، (a) عصاره‌ی دانه‌ی گیاه خارمریم و محلول اگزالی‌پالادیم پیش از انکوباسیون؛ (b) پس از انکوباسیون

۶۴ نانومتر بوده و توزیع ذرات به صورت همگن است. همانطوریکه شکل ۴ نشان می‌دهد، نتایج مطالعات DLS نشان داده‌اند که نانوذرات اگزالی‌پالادیم با ابعاد ۶۴ نانومتر در شرایط آزمایشگاهی تشکیل شدند.

به منظور بررسی اندازه‌ی نانوذرات و اطمینان از وجود نانوذرات از تکنیک پراکندگی دینامیکی نور (DLS) استفاده شد. نتایج حاصل از آنالیز نانوذرات اگزالی‌پالادیم با پراکندگی دینامیکی نور نشان می‌دهد که اندازه نانوذرات اگزالی‌پالادیم در سیستم حدود

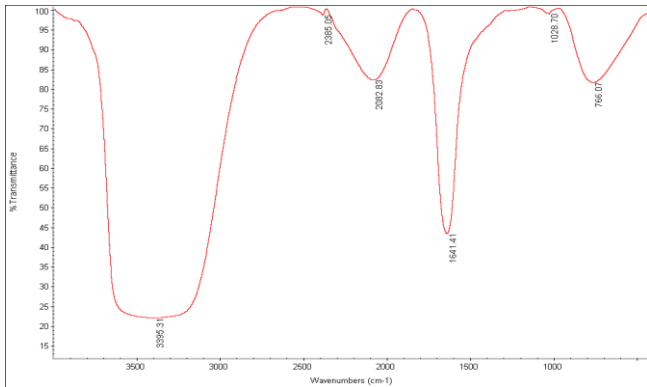


شکل ۲ نمودار حاصل از طیف سنجی مرئی-فرانگش محلول اگزالی‌پالادیم



شکل ۳ نمودار حاصل از طیف سنجی مرئی-فرانگش محلول نانوذرات اگزالی‌پالادیم

از انجام واکنش نشان داد. بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت که تعدادی از مولکول‌های زیستی پلی‌هیدروکسیل از قبیل فلاونوئیدگان و تاکسیفولین محلول در آب موجود در عصاره‌ی آبی گیاه خارمریم دارای نقش اصلی برای احیاء زیستی یون‌های پالادیم در سنتز نانوذرات هستند.



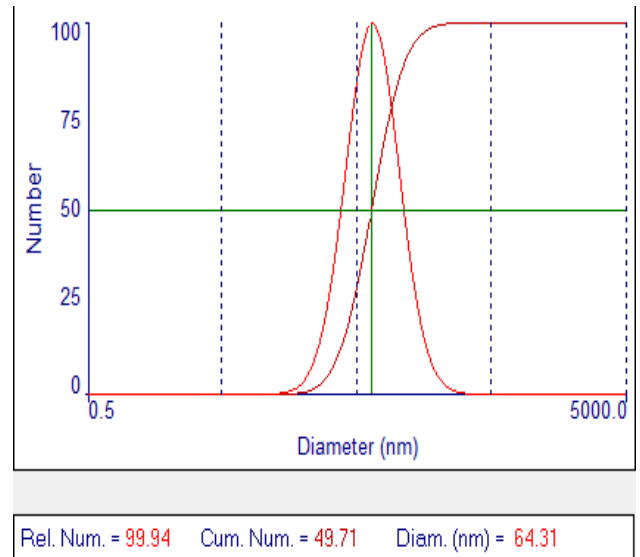
شکل ۶ طیف FTIR از عصاره‌ی دانه‌ی گیاه خارمریم

طیف FTIR حاصل از نانوذرات اگزالی‌پالادیوم سنتز شده در شکل ۷ نشان داده شده است. نوارهای جذبی مشاهده شده در $3300\text{--}3500\text{ cm}^{-1}$ ، $2900\text{--}3000\text{ cm}^{-1}$ ، $1600\text{--}1700\text{ cm}^{-1}$ و $1000\text{--}1500\text{ cm}^{-1}$ به ترتیب به حضور گروه‌های عاملی O-H (الکی، فنولی)، C-H (آلکان)، C=C (آلکن)، N-O (ترکیبات نیترو) C-C (ترکیبات اروماتیک)، C-N (آمین‌های آلیفاتیک) در سیستم هستند.

تاثیر نانوذرات اگزالی‌پالادیم بر بقاء سلولی در رده سلولی HCT116

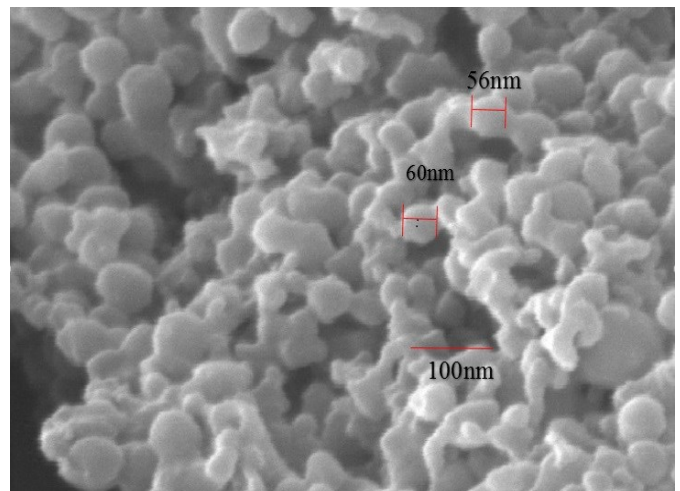
در نهایت، به بررسی فعالیت ضد توموری داروی کپسوله شده بر روی سلول‌های سرطانی رده HCT116 و مقایسه آن با فعالیت ضد توموری دارو به شکل آزاد پرداخته شد.

نتایج مطالعات آزمون MTT نشان می‌دهد که ترکیب اگزالی‌پالادیم به شکل آزاد و در فرم نانوذرات اگزالی‌پالادیمی در یک الگوی وابسته به دوز و زمان موجب القا مرگ سلولی در این رده‌ی سلولی می‌شوند (شکل‌های ۸-۹). همانطوریکه شکل‌های ۸ و ۹ نشان می‌دهند، مقدار درصد رشد سلول‌ها با افزایش غلظت کمپلکس دارویی به شدت کاهش می‌یابد. از طرفی، منحنی‌های مهار رشد HCT116 یک مهار وابسته به غلظت را نیز نشان می‌دهند. اما نتایج Cc50 نشان داد که دارو در حالت کپسوله



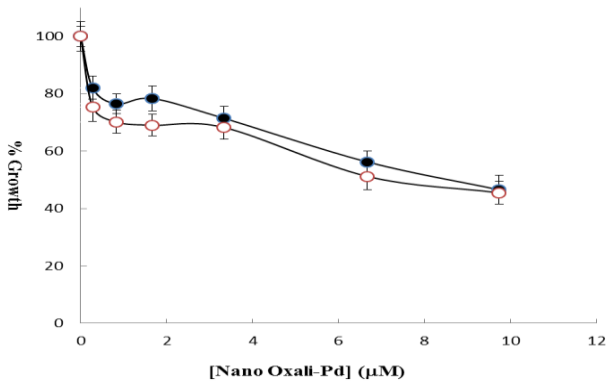
شکل ۴ نتایج حاصل از بررسی اندازه نانوذرات اگزالی‌پالادیوم توسط روش پراکندگی دینامیکی نور

در نهایت، ویژگی‌های ریخت‌شناسی نانوذرات اگزالی‌پالادیم با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس نتایج بدست آمده نانوذرات اگزالی‌پالادیم دارای ساختمان کروی و سالم و همچنین، توزیع مجزا و همگن در گستره‌ی اندازه‌ی زیر ۶۰ نانومتر هستند (شکل ۵)



شکل ۵ ویژگی‌های ریخت‌شناسی نانوذرات اگزالی‌پالادیم با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی

در نهایت، طیف حاصل از عصاره‌ی دانه‌ی گیاه خارمریم، شکل ۶، تعدادی از نوارهای ارتعاشی برای گروه O-H در $3395\text{--}31\text{ cm}^{-1}$ ، گروه C=O در $1641\text{--}41\text{ cm}^{-1}$ ، گروه C-O در $1028\text{--}75\text{ cm}^{-1}$ ، گروه C-H در $2989\text{--}07\text{ cm}^{-1}$ را پیش



شکل ۹ نتایج حاصل از تست MTT پس از تیمار سلول‌های سرطانی رده‌ی HCT116 با نانوذرات اگزالی‌پالادیم پس از ۲۴ (●) و ۴۸ (○) ساعت انکوباسیون

۴- نتیجه‌گیری

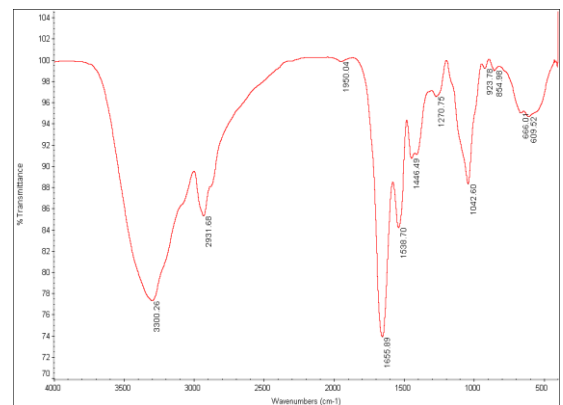
با ظهور فناوری نانو در توسعه سامانه‌های تحویل دارو تلاش برای طراحی سامانه‌ای هدفمند و هوشمند آغاز شد. ترکیبات متنوعی به منظور سنتز و ساخت این سامانه در نظر گرفته شدند اما تلاش در جهت بکارگیری ترکیبات زیستی بوده تا از این طریق مسئله زیست‌سازگاری و زیست‌تجزیه‌پذیری نیز تامین شود [۲۰-۱۸].

در این پژوهش، سنتز نانوذرات اگزالی‌پالادیم با استفاده از روش شیمی سبز به وسیله‌ی عصاره‌ی آبی دانه‌ی گیاه خارمریم انجام گرفت و نانوذرات اگزالی‌پالادیمی زیست سازگار بدون حضور هیچ ماده‌ی احیاء کننده‌ی شیمیایی با اندازه‌ی بین ۵۰ تا ۶۰ نانومتر ساخته شده‌اند.

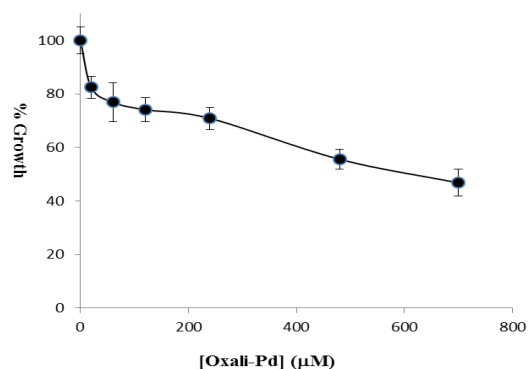
در این پژوهش، در واقع نیز از پوشش گیاهی به عنوان پوششی برای داروی ضد سرطان اگزالی‌پالادیم در مقیاس نانو استفاده شده است که نتایج بدست آمده کاملاً در توافق با گزارشات پیشین است.

نتایج فعالیت مهارى رشد در دو زمان انکوباسیون ۲۴ و ۴۸ ساعت برای داروی کپسوله شده و آزاد نشان داد که رشد سلول‌ها در هر دو حالت با افزایش غلظت به شدت کاهش یافته است و یک کاهش وابسته به دوز را بر مقدار زنده ماندن سلول‌ها نشان دادند. اما نتایج CC_{50} نشان داد که دارو در حالت کپسوله شده در دوزهای بسیار پایین‌تری (حدود ۱۰۰ برابر کمتر) نسبت به دارو در شکل بدون کپسول (آزاد) قدرت کشندگی داشته است. پس عامل مهمی که سبب افزایش نفوذ و ورود و

شده در دوزهای بسیار پایین‌تری (۶،۹ و ۸،۴ میکرومولار به ترتیب پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت انکوباسیون) نسبت به دارو در شکل آزاد (۶۰ میکرومولار) قدرت کشندگی ۵۰ درصدی سلول‌های سرطانی را داشته است. نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که نانوذرات اگزالی‌پالادیمی پس از ۲۴ ساعت با غلظتهای خیلی کمتر منجر به القا ۵۰٪ مرگ سلولی در سلول‌های HCT116 شد.



شکل ۷ طیف FTIR حاصل از نانوذرات اگزالی‌پالادیم سنتز



شکل ۸ نتایج حاصل از تست MTT ۲۴ ساعت پس از تیمار سلول‌های سرطانی رده‌ی HCT116 توسط محلول اگزالی‌پالادیم (داروی آزاد)

- [7] Y.K. Gao, J. Shen, L. Milane, F.M. Hornicek, M. Amiji, Z. Duan, "Targeted cancer therapy; nanotechnology approaches for overcoming drug resistance," *Current med chem*, 22, 1335-1347, 2015.
- [8] H. Sharma, P. Mishra, S. Talegaonkar, B. Vaidya, "Metal nanoparticles: a theranostic nanotool against cancer," *Drug discovery today*, 20, 1143-1151, 2015.
- [9] K. Shameli, M. Bin Ahmad, S.D. Jazayeri, S. Sedaghat, P. Shabanzadeh, H. Jahangirian, M. Mahdavi, Y. Abdollahi, "Synthesis and characterization of polyethylene glycol mediated silver nanoparticles by the green method," *Int Mol Sci*, 13, 6639-6650, 2012.
- [10] A. Ahmad, P. Mukherjee, S. Senapati, D. Mandal, M. Khan, R. Kumar, "Extracellular biosynthesis of monodisperse gold nanoparticles by a novel extremophilic actinomycete," *Thermomonospora sp.* *Langmuir*, 19, 3550-3553, 2003.
- [11] A.R. Shahverdi, S. Minaeian, H.R. Shahverdi, H. Jamalifar, A.A. Nohi, "Rapid synthesis of silver nanoparticles using culture supernatants of Enterobacteria: a novel biological approach," *Process Biochem*, 42, 919-923, 2007.
- [12] S.S. Shankar, A. Ahmad, R. Pasricha, M. Sastry, "Controlling the optical properties of lemongrass extract synthesized gold nanotriangles and potential application in infrared-absorbing optical coatings," *Chemistry of Materials*, 17, 566-572, 2005.
- [13] S.P. Chandran, M. Chaudhary, R. Pasricha, A. Ahmad, M. Sastry, "Synthesis of gold nanotriangles and silver nanoparticles using Aloe vera plant extract," *Biotechnol progress*, 22, 577-583, 2006.
- [14] S.P. Basu, J. Maji, J. Ganguly, "Rapid green synthesis of silver nanoparticles by aqueous extract of seeds of *Nyctanthes arbor-tristis*," *Applied Nanoscience*, 6, 1-5, 2016.

اثرپذیری بیشتر دارو در حالت کپسوله شده است وجود پوشش گیاهی دانه‌ی خار مریم و اندازه در سطح نانو آن است که خود سبب باقی ماندن کپسول در سطح سلول‌ها و رهایش و انتقال دارو آزاد شده به درون سلول‌های سرطانی و همچنین، رهایش کنترل شده دارو نسبت به حالت کپسوله نشده (آزاد) در بازه‌ی زمانی طولانی‌تر شده است.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله مراتب قدر دانی و تشکر خود را از معاونت پژوهشی دانشگاه خوارزمی تهران به دلیل حمایت مالی از این پژوهش اعلام می‌داریم.

منابع:

- [1] A. Singh, D. Jain, M.K. Upadhyay, N. Khandelwal, H.N. Verma, "Green synthesis of silver nanoparticles using Argemone Mexicana leaf extract and evaluation of their antimicrobial activities," *Dig J Nanomater Bios*, 5, 483-489, 2010.
- [2] G.K. Alderton, "Nanotechnology: Improving drug delivery with algae. *Nature Reviews Cancer*", 16, 5-5, 2016.
- [3] R. Suzuki, D. Omata, Y. Oda, J. Unga, Y. Negishi, K. Mruyama, "Cancer therapy with nanotechnology-based drug delivery systems: applications and challenges of liposome technologies for advanced cancer therapy," *Nanomat Pharmacol*, 457-482, 2016.
- [4] D. Prabhu, C. Arulvasu, G. Babu, R. Manikandan, P. Srinivasan, "Biologically synthesized green silver nanoparticles from leaf extract of *Vitex negundo* L. induce growth-inhibitory effect on human colon cancer cell line HCT15," *Process Biochem*, 48, 317-324, 2013.
- [5] M.M. Amiji, "Nanotechnology for cancer therapy" CRC press, 2006.
- [6] M.E. Davis, D.M. Shin, "Nanoparticle therapeutics: an emerging treatment modality for cancer," *Nature reviews Drug discovery*, 7, 771-782, 2008.

- [15] P. Bollella, C. Schulz, G. Favero, F. Mazzei, R. Ludwig, L. Gorton, R. Antiochia, “Green Synthesis and Characterization of Gold and Silver Nanoparticles and their Application for Development of a Third Generation Lactose Biosensor” *Electroanalysis*, 2016.
- [16] M.E. Palanco, K.B. Mogensen, M. Gühlke, Z. Heiner, J. Kneipp, K. Kneipp, “Templated green synthesis of plasmonic silver nanoparticles in onion epidermal cells suitable for surface-enhanced Raman and hyper-Raman scattering”, *Beilstein J Nanotech*, 7, 834-840, 2016.
- [17] C. Soundarrajan, A. Sankari, P. Dhandapani, S. Maruthamuthu, S. Ravichandran, G. Sozhan, N. Palaniswamy, “Rapid biological synthesis of platinum nanoparticles using *Ocimum sanctum* for water electrolysis applications,” *Bioprocess and biosystems engineering*, 35, 827-833, 2012.
- [18] J. Vishal, M. Singh. “Recent nanoparticulate approaches of drug delivery for skin cancer,” *Trends in Applied Sciences Research*, 7, 620-35, 2012.
- [19] M. Ganhi, S. Elham Samei, S.A. Hashemi, A. Rezagholizadeh, A. Kazemnejad, Z. Mostakhdemin Hosseini. “Investigation of the E-cadherin promoter methyl patients with colorectal cancer in Iran” *Modares Journal of Sciences: Pathobiology*, 16, 75-83, 2013.
- [20] F. Si-Shen, S. Chien. “Chemotherapeutic engineering: application and further development of chemical engineering principles for chemotherapy of cancer and other diseases,” *Chemical Engineering Science*, 58: 4087-114, 2003.



Investigation on the physico-chemical and anticancer properties of nano oxali-palladium using aqueous extract of silybum marianum

Fahimeh Azadimanesh¹, Adeleh Divsalar^{2*}, Ali Akbar Saboury³

1-Department of Biology Science and Research branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

2-Department of Cell and Molecular Sciences, Faculty of Biological Sciences,
Kharazmi University, Tehran, Iran

3 -Institute of Biochemistry and Biophysics, University of Tehran, Tehran, Iran

Abstract: Cancer is one of the most important health problems throughout the world. Despite of improvement and enormous research in the areas of biomedical, cancer is still one of the main causes of death. So, the development of advanced techniques is one of the necessary subjects in cancer treatment. Development of cost-effective and accommodated synthetic methods is considered as a one of the important aspects of nanotechnology for producing metal nanoparticles with unique properties. The aim of this study is production of the oxali-palladium nanoparticles using the aqueous extract of plant seeds of silybum marianum.

The reduction of palladium ions was determined after incubation and reaction of plant extract with the solution of oxali –palladium at temperatures of 50 °C. Also the physico-chemical properties of the synthesized oxali-palladium nanoparticles via green chemistry method were examined using UV-Visible spectroscopy, dynamic light scattering (DLS) and Scanning Electron Microscopy (SEM). Finally, the cytotoxicity and anti-proliferative properties of a new designed nanoparticle against human colon cancer cell line of HCT116 was evaluated.

Result of UV-Visible spectroscopy and DLS were indicated the formation of stable oxali-palladium nanoparticles at 50°C with dimension of 60 nanometer. Also based on the results of SEM, the oxali-palladium nanoparticles have a homogenous morphology. Results of the cytotoxicity show that the oxali-palladium nanoparticles produced a dose and time – response suppression on growing of HCT116 cell lines.

Synthesis of oxali-palladium nanoparticles using green chemistry technique by aqueous extract of plant seeds of silybum marianum is a sustainable and cost-effective way to produce nanoparticles with specific properties in cancer treatment.

Keywords: Oxali-palladium, green chemistry, silybum marianum extract, anticancer