Journal of Microbial World
Volume 16, No. 2, September 2023

Original Article

Evaluation of antimicrobial and anticancer effects of silver nanoparticles synthesized by extracts of chamomile (Matricaria parthenium)

Shabnam Shamaei[1], **Faezeh Bashiri Goodarzi**[2]

[1] Assistant professor, Department of Chemistry, Khorramabad Branch, Islamic Azad University, Khorramabad, Iran.
[2] MSc, Department of Chemistry, Khorramabad Branch, Islamic Azad University, Khorramabad, Iran.

Abstract

Background &Objectives: Silver nanoparticles have been widely used due to their anti-bacterial activities and anticancer properties. The aim of this study was to investigate the antimicrobial effects and cell toxicity of silver nanoparticles synthesized using extracts of chamomile on three neoplastic cell lines (A549, MCF-7 and HeLa).

Materials & Methods: Silver nanoparticles were biologically synthesized using extracts of chamomile. After physical and chemical evaluation of the synthesized nanoparticles, their antimicrobial properties were estimated on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. Finally, the inhibitory effect of synthesized nanoparticles evaluated by using MTT technique on 3 neoplastic cell lines.

Results: The average size of nanoparticles synthesized by the extract of chamomile were 19 nm. The synthesized nanoparticles could have a significant inhibitory and lethal effect on the two named bacteria. silver nanoparticles were able to show a 50% inhibitory effect on different cell lines at a concentration of 50 µg/ml.

Conclusion: Based on the results, it can be stated that medicinal plants can be used in the successful biosynthesis of silver nanoparticles. After human studies and tests, chamomile-based silver nanoparticles can be used as effective therapeutic agent in the treatment of some cancers due to their coating of effective secondary metabolites and the release of silver ions (Ag^{+}).

Keywords: Anti-Bacterial Agents, Chamomile, Nanoparticles, Neoplasms.

Received: 20 February 2023 Revised: 5 June 2023 Accepted: 16 August 2023

Correspondence to: Shabnam Shamaei
Tel: +98 9168596860
E-mail: shabnamshamaie@gmail.com
Journal of Microbial World 2023, 16 (2): 156 - 166
DOI:10.30495/jmw.2023.1961808.2026

Copyright © 2019, This article is published in Journal of Microbial World as an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License. Non-commercial, unrestricted use, distribution, and reproduction of this article is permitted in any medium, provided the original work is properly cited.

مجله دنیای میکروب‌ها
سال شانزدهم شماره دوم (پیاپی ۵۵) تابستان ۱۴۰۲
صفحات ۱۶۶ -۱۵۶

Original Article

بررسی اثرات ضدمیکروبی و ضدسرطانی نانوذرات نقره سنتز شده توسط عصاره گیاه دارویی بابونه گاوی

شبنم شماعی[1*]، فائزه بشیری گودرزی[2]

[1]استادیار، گروه شیمی، واحد خرم‌آباد، دانشگاه آزاداسلامی، خرم آباد، ایران.
[2]کارشناسی ارشد، گروه شیمی، واحد خرم‌آباد، دانشگاه آزاداسلامی، خرم آباد، ایران.

چکیده

سابقه و هدف: نانوذرات نقره با خواص ضدمیکروبی و ضدسرطانی، موارد استفاده فراوانی پیدا کرده‌اند. در این مطالعه بررسی اثرات ضدمیکروبی و سمیت سلولی نانوذرات نقره سنتز شده با استفاده از عصاره گیاه دارویی بابونه گاوی، بر روی ۳ رده سلول سرطانی (A549, MCF-7 و HeLa) مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: نانوذرات نقره به‌روش زیستی با استفاده از عصاره گیاه دارویی بابونه سنتز شد. پس از ارزیابی فیزیکی و شیمیایی این نانوذرات، خواص ضدمیکروبی آن‌ها بر روی دو باکتری *اشریشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* برآورد گردید. در نهایت اثر مهاری نانوذرات سنتز شده با استفاده از تکنیک MTT بر روی ۳ رده سلول سرطانی ارزیابی شد.

یافته‌ها: میانگین اندازه نانوذرات سنتز شده توسط عصاره بابونه ۱۹ نانومتر بود. نانوذرات سنتز شده توانستند اثر مهاری و کشندگی معنی‌داری بر روی این دو باکتری داشته باشند. این نانوذرات توانستند با غلظت ۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر بیش از ۵۰ درصد اثر مهاری بر روی رده‌های سلولی مختلف نشان دهند.

نتیجه‌گیری: گیاه دارویی بابونه گاوی می‌تواند در سنتز موفق نانوذرات زیستی نقره مورد استفاده قرار گیرد. نانوذرات نقره سنتز شده به‌دلیل داشتن پوششی از متابولیت‌های ثانویه موثر و آزادسازی یون‌های نقره (Ag^+)، پس از انجام بررسی‌ها و آزمون‌های انسانی می‌توانند به‌عنوان عوامل درمانی موثر در درمان انواع سرطان مورد استفاده قرار گیرند.

واژگان کلیدی: نانوذرات، بابونه، سرطان، بیوسنتز، آنتی‌بیوتیک.

دریافت مقاله: ۱۴۰۱/۱۲/۱ ویرایش مقاله: ۱۴۰۲/۳/۱۵ پذیرش مقاله: ۱۴۰۲/۵/۲۵

مقدمه

نانوفناوری به‌عنوان یکی از پرکاربردترین فناوری‌ها در جهان شناخته شده و استفاده از نانوذرات در بسیاری از علوم از جمله زیست‌شناسی، پزشکی، الکترونیک، هوا-فضا، کشاورزی و صنایع غذایی مورد استقبال قرار گرفته است (۱). نانوذرات خصوصیات فیزیکی، شیمیایی و زیستی منحصربه‌فردی از خود نشان می‌دهند. این ویژگی‌ها را می‌توان به دلیل سطح بزرگتر این ذرات نسبت به حجم، واکنش‌پذیری بالا و پایداری در فرآیندهای شیمیایی و همچنین افزایش مقاومت مکانیکی آن‌ها دانست. نانوذرات به‌دلیل مخاطرات زیستی اندک و ایمنی بالا در کاربرد، در بسیاری از تولیدات صنعتی و غیر صنعتی مورد استفاده قرار می‌گیرند (۲). امروزه نانوذرات به‌عنوان یکی از

*) آدرس برای مکاتبه: گروه شیمی، واحد خرم‌آباد، دانشگاه آزاداسلامی، خرم آباد، ایران.
تلفن: ۰۹۱۶۸۵۹۶۸۶۰ پست الکترونیک: shabnamshamaie@gmail.com

حقوق نویسندگان محفوظ است. این مقاله با دسترسی آزاد و تحت مجوز مالکیت خلاقانه (http://creativecommons.org/licenses/bync/4.0/) در فصلنامه دنیای میکروب‌ها منتشر شده است. هرگونه استفاده غیرتجاری فقط با استناد و ارجاع به اثر اصلی مجاز است.

ابزارهای شیمیایی قدرتمند و پیشرفته در شناسایی و درمان بسیاری از بیماری‌های خطرناک از جمله سرطان محسوب می‌شوند (۳). سرطان یکی از علل اصلی مرگ و میر در سراسر جهان بوده و به دلیل شیوع بسیار بالا، تحقیقات در مورد درمان سرطان بسیار مورد توجه است. در حال حاضر جراحی، پرتودرمانی، شیمی درمانی، ایمونوتراپی و همچنین رژیم‌های ترکیبی، اصلی ترین استراتژی‌ها برای درمان این بیماری هستند. بر همین اساس توسعه روش‌های نوین درمانی و سازگار با محیط زیست، ضروری به نظر می‌رسد ضمن اینکه بایستی هزینه درمان در این روش‌ها کمتر نیز باشد (٤). نانوذرات فلزی از جمله نانوذرات نقره در درمان سرطان کاربرد فراوانی پیدا کرده‌اند. این نانوذرات با مهار سلول‌های سرطانی از طریق خاموش کردن ژن‌های درگیر، می‌توانند از گسترش بیماری جلوگیری نموده و در بهبود آن بسیار موثر باشند. علاوه‌براین، از این نانوذرات می‌توان به‌عنوان حامل داروهای موثر نیز استفاده نمود (۵). نانوذرات نقره می‌توانند با تولید برخی از انواع اکسیژن فعال (ROS)، استرس اکسیداتیو و جلوگیری از فعالیت آنزیم‌های حیاتی، سبب مرگ برنامه‌ریزی شده (apoptosis) سلول‌های سرطانی شوند (٦). در دهه گذشته پیشرفت‌های قابل توجهی در سنتز نانوذرات فلزی با ساختار و خصوصیات منحصر به فرد صورت گرفته است. اندازه و ساختارهای فضایی معین و همچنین شکل بلوری نانوذرات سنتز شده از جمله مهم‌ترین اهداف شیمی نانوذرات است. چنین ویژگی‌هایی سبب شده که این ذرات کاربردهای بالقوه‌ای در پزشکی پیدا کنند به طوری که از نانوذرات به‌عنوان حسگرهای زیستی در شناسایی و درمان بیماری‌ها مختلف استفاده می‌شود (۷). استفاده بی‌رویه و غیر اصولی از آنتی‌بیوتیک‌ها، سبب ایجاد انواع مختلفی از پاتوژن‌های مقاوم شده‌است (۸). امروزه بسیاری از باکتری‌های بیماری‌زا به یک یا چند آنتی‌بیوتیک مقاوم شده‌اند و بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌های موجود، کارایی خود را از دست داده‌اند. ظهور باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها، در حال تبدیل شدن به یکی از بزرگترین چالش‌های سلامتی بشر در دنیا است (۹). برای مقابله با این موضوع، مطالعات متعددی در زمینه سنتز و فرمولاسیون نانوذرات فلزی برای مقابله با انواع مختلفی از باکتری‌های بیماری‌زا انجام گرفته و در حال اجراست (۱۰). در بین نانوذرات فلزی، نانوذرات نقره از خواص ضدمیکروبی بسیار مناسبی برخوردار هستند. این نانوذرات با مکانیسم‌های متعدد و اثرگذاری بر دیواره سلولی و فرایندهای متابولیتی باکتری، سبب مهار آن‌ها می‌شوند (۱۲و۱۱و۱۳).

روش‌های نوین متعددی در حال توسعه یا بهبود هستند تا بهره‌وری فیزیکوشیمیایی نانوذرات را ارتقا دهند. در برخی روش‌ها فرآیند سنتز به نحوی اصلاح شده تا خصوصیات نوری، مکانیکی، فیزیکی، شیمیایی و زیستی آن‌ها افزایش یابد. بیوسنتز نانوذرات فلزی با استفاده از ترکیبات زیستی از دستاوردهای مهمی است که در تولید انواع مختلفی از نانوذرات فلزی با ساختار و اندازه مختلف بسیار موفق بوده است. گیاهان دارویی از جمله پیش‌سازهای سازگار با محیط زیست بوده که در تولید نانوذرات کاربرد فراوانی پیدا کرده‌اند (١٤). سنتز نانوذرات فلزی با استفاده از ترکیبات زیستی موجود در عصاره گیاهان دارویی، روش قابل اعتماد و دوستدار محیط زیست محسوب می‌گردد. در بین نانوذرات فلزی سنتز شده، نانوذرات نقره به‌دلیل دارا بودن خواص ضدمیکروبی از توجه بیشتری برخوردار هستند. بیوسنتز نانوذرات نقره با استفاده از عصاره گیاهان، روشی سریع و مقرون به‌صرفه است که در این روش متابولیت‌های موجود در عصاره سبب اکسیداسیون و احیاء یون‌های نقره شده و در نهایت انواع مختلفی از نانوذرات نقره با اشکال و اندازه‌های متفاوت تولید می‌شوند (۱۵). تاکنون مطالعات فراوانی در زمینه سنتز نانوذرات نقره با استفاده از گیاهان دارویی مختلف صورت گرفته و در حال انجام است. بابونه گاوی از گیاهان دارویی با پراکنش بالا در کشور محسوب می‌شود. هدف از این مطالعه بررسی اثرات ضدمیکروبی و سمیت نانوذرات نقره بر روی سلول‌های سرطانی با استفاده از نانوذرات نقره سنتز شده توسط عصاره آبی گیاه بابونه گاوی.

مواد و روش‌ها

الف) تهیه عصاره آبی گیاه دارویی مورد مطالعه: بابونه گاوی (Tanacetum parthenium) از ارتفاعات استان لرستان جمع‌آوری و پس از تایید گیاه‌شناسی مورد استفاده قرار گرفت. نمونه پس از شستشو توسط آب مقطر در آون با دمای ٤٥ درجه سلسیوس به مدت ٢٤ ساعت خشک و سپس توسط آسیاب ریز شد. مقدار ١٠ گرم از نمونه‌ی خشک شده به ٩٠ میلی‌لیتر آب مقطر استریل اضافه و به مدت ١٢٠ دقیقه در دمای ٦٠ درجه سلسیوس در بن‌ماری قرار داده شد. مخلوط مورد نظر به مدت ٢٤ ساعت در دمای محیط (٢٥ درجه سلسیوس) نگهداری شد. عصاره‌ی تهیه شده توسط کاغذ صافی واتمن با قطر ٢٤ دو مرتبه فیلتر و محلول از فیلتر سرنگی (٠/٢٢ میکرونی) عبور داده شد. برای تهیه عصاره آبی با غلظت معین، ابتدا عصاره‌های فیلتر شده به پلیت‌های استریل اضافه و سپس این پلیت‌ها به مدت ٢٤ ساعت در آون با دمای ٤٥ درجه سلسیوس قرار داده شد. رسوب به‌دست آمده با تیغ جراحی استریل از سطح پتری‌دیش جدا و با وزن نمودن عصاره خشک به‌دست آمده و حل نمودن آن در مقدار معینی آب مقطر استریل دیونیزه، عصاره آبی با غلظت معین تهیه گردید.

ب) بیوسنتز نانوذرات نقره: به‌منظور سنتز نانوذرات نقره، ابتدا مقدار ٥ میلی‌لیتر از عصاره آبی گیاه دارویی مورد مطالعه به طور جداگانه به ٩٥ میلی‌لیتر محلول نیترات نقره ١ میلی‌مولار منتقل و محلول حاصل به مدت ٢٤ ساعت در دمای محیط (٢٥ درجه سلسیوس) بر روی شیکر قرار داده شد. سپس محلول حاوی نانوذرات سنتز شده به فالکون‌های استریل ٥٠ میلی‌لیتر منتقل و در سانتریفیوژ با ٥٠٠٠ دور در دقیقه به مدت ١٥ دقیقه قرار داده شد. رسوب تشکیل شده با استفاده از آب مقطر دیونیزه استریل شستشو شده و سپس از آن در تهیه نانوذرات نقره با غلظت معین، به همان روش اشاره شده برای تهیه عصاره آبی، استفاده شد.

ج) ارزیابی نانوذرات سنتز شده: تغییر رنگ محلول عصاره و نیترات نقره به‌عنوان اولین نشانه در بیوسنتز نانوذرات نقره در نظر گرفته شد. محلول حاوی نانوذرات نقره سنتز شده ابتدا توسط اسپکتروفتومتری در طول موج‌هایی با دامنه ٣٠٠ تا ٧٠٠ نانومتر مورد ارزیابی قرار گرفت. سپس براساس میزان جذب، طول موجی که در آن نانوذرات نقره بیشترین جذب را نشان دادند، تعیین شد. به منظور بررسی ماهیت، ساختار و اندازه این نانوذرات، نمونه‌ای از هر یک با استفاده از میکروسکوپ الکترونی (SEM) و طیف‌سنجی پراش اشعه ایکس (XRD) مورد ارزیابی قرار گرفت.

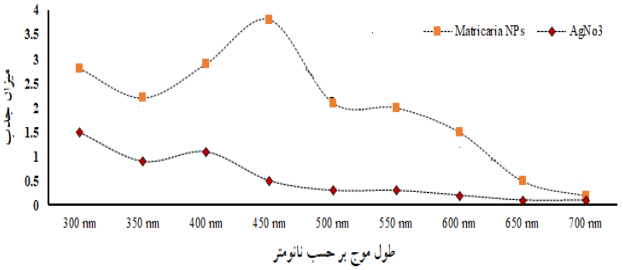
د) بررسی اثرات ضدمیکروبی عصاره و نانوذرات نقره سنتز شده: به‌منظور بررسی اثر ضدمیکروبی نانوذرات نقره سنتز شده، از باکتری گرم منفی *اشریشیا کلی* (PTCC 1330) و گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* (PTCC 1112) استفاده شد. ابتدا برای تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) نانوذرات و عصاره گیاهان دارویی مورد مطالعه، از روش میکرودایلوشن و معرف تترازولیوم کلراید استفاده شد. پس از آن، حداقل غلظت کشندگی (MBC) تعیین شد. برای این منظور سوسپانسیون سلولی باکتری‌های *اشریشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* از آزمون MIC بر روی پلیت‌های حاوی محیط کشت LB کشت داده شدند. سپس اثر کشندگی عصاره و نانوذرات نقره سنتز شده با آزمون انتشار دیسک (Disk Diffusion) ارزیابی شد.

ه) بررسی اثرات ضدسرطانی نانوذرات نقره سنتز شده: به‌منظور بررسی اثرات ضدسرطانی نانوذرات نقره سنتز شده از تکنیک MTT استفاده شد. سه رده سلول سرطانی (A549، MCF-7 و HeLa) از بانک انستیتو پاستور ایران تهیه و در محیط کشت مناسب (RPMI) به‌همراه ١٠ درصد سرم جنین گاوی (FBS) و ١ درصد آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین در دمای ٣٧ درجه سلسیوس و غلظت ٥ درصد CO2 کشت داده شدند. نمونه‌هایی از هر یک از سلول‌های سرطانی با غلظت معین تهیه شد به نحوی که مقدار غلظت در هر یک از چاهک‌های پلیت ٩٦ تایی حدود ٥×١٠^{٤} سلول بود. سپس سلول‌های سرطانی با غلظت‌های مختلف نانوذره نقره (١٠٠، ٥٠، ٢٥، ١٢/٥، ٦/٢٥ و ١ میکروگرم بر میلی‌لیتر) به مدت ٤٨ ساعت در دمای ٣٧ درجه سلسیوس، تیمار شدند.

سپس برای ارزیابی اثر سمیت نانوذرات بر روی سلول‌های سرطانی، از معرف MTT با غلظت ۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر استفاده شد. به هر یک از چاهک‌ها مقدار ۲۰ میکرولیتر از محلول MTT اضافه شد و به مدت ٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس و تاریکی گرمخانه‌گذاری شدند. سپس به منظور حل نمودن کریستال‌های فورمازان، مقدار ۱۰۰ میکرولیتر DMSO به هر یک از چاهک‌ها اضافه و پس از گذشت ۱۰ دقیقه، میزان جذب هر چاهک با استفاده از اسپکتروفتومتر و طول موج ۵۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. غلظتی که سبب مهار رشد سلول‌های سرطانی به میزان ۵۰ درصد شده بود به عنوان غلظت مهاری نانوذرات (IC50) در نظر گرفته شد. علاوه‌براین به منظور تعیین درصد بقای سلولی، نسبت میزان جذب نمونه تیمار شده توسط نانوذره بر روی میزان جذب نمونه کنترل تعیین شد و با ضرب نمودن مقدار به‌دست آمده در عدد ۱۰۰، درصد بقا برای هر نمونه سلول سرطانی به‌دست آمد (۱٦).

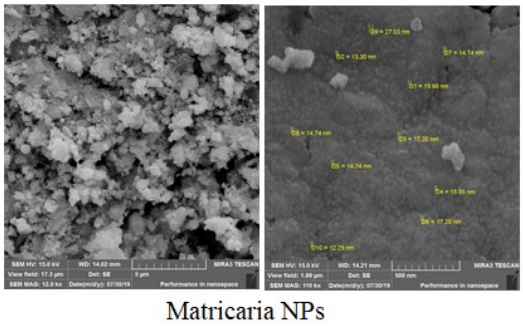
یافته‌ها

پس از افزودن عصاره گیاهی به محلول نیترات نقره، واکنش‌های اکسیداسیون و احیاء شروع و رنگ مخلوط واکنش تیره شد. در بسیاری از مقالات، تغییر رنگ مخلوط عصاره و نیترات نقره به‌عنوان اولین نشانه از سنتز نانوذرات گزارش شده است. تیره شدن نیترات نقره در مجاورت عصاره گیاهی را می‌توان ناشی از پلاسمون سطحی دانست (۱۷). براساس نتایج اسپکتروفتومتری، نانوذرات سنتز شده در طول موج ٤۵۰ نانومتر بیشترین جذب را نشان دادند (شکل ۱).



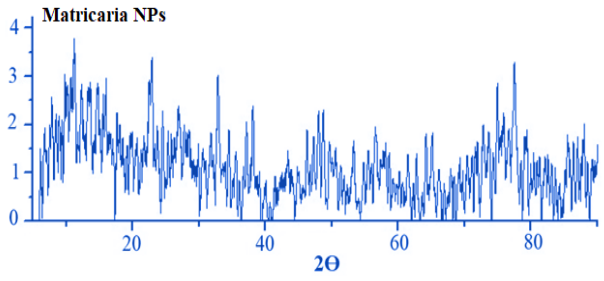
شکل ۱: جذب نانوذرات و محلول نیترات نقره با استفاده از تکنیک اسپکتروفتومتری (UV-Vis).

نتایج میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) نشان داد که نانوذرات نقره سنتز شده توسط عصاره بابونه اندازه‌ای بین ۱۳ تا ۲۷ نانومتر داشتند. میانگین نانوذرات نقره سنتز شده عصاره بابونه ۱۷ نانومتر و کروی شکل بود (شکل ۲).



شکل ۲: میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) مدل FESEM با بزرگ‌نمایی یک میلیون برابر.

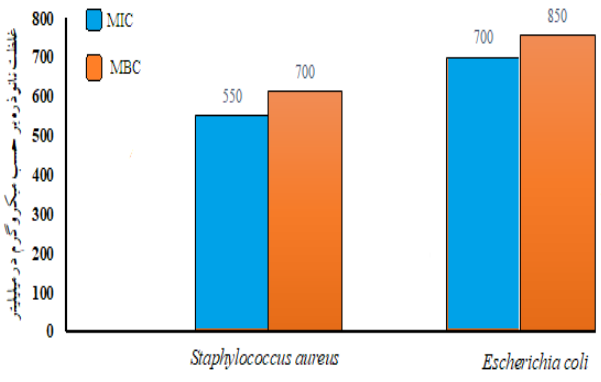
به‌منظور تایید نتایج به‌دست آمده از میکروسکوپ الکترونی، از طیف‌سنجی پراش اشعه ایکس (XRD) استفاده شد. نتایج آزمون XRD پیک‌های در زوایای ۳۸/۲۸، ٤٤/۳۸، ٦٤/۵۲، ۷۷/٦۱ و ۸۱/۳۱ درجه در نانوذرات نقره سنتز شده توسط عصاره بابونه نشان داد که منطبق بر طیف استاندارد تجمع نقره بودند. به‌طور کلی نتایج آزمون XRD کریستال‌های نقره را در نانوذرات سنتز شده اثبات نمود (شکل ۳).



شکل ۳: آزمون پراش اشعه ایکس (XRD) به‌منظور تایید سنتز نانوذرات نقره.

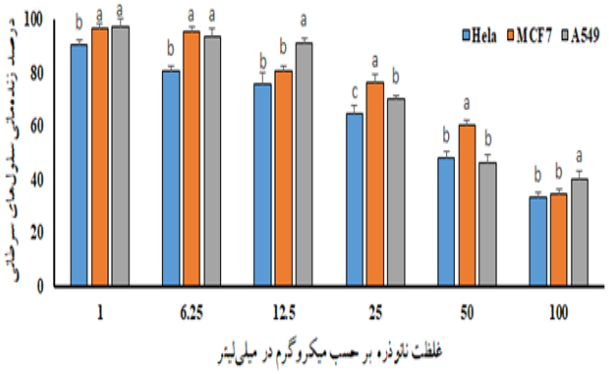
پس از تایید سنتز نانوذرات و بررسی خصوصیات فیزیکی آن‌ها، اثرات ضدمیکروبی نانوذرات سنتز شده مورد ارزیابی قرار گرفت، از دیسک‌های تجاری حاوی ۳۰ میکروگرم آنتی‌بیوتیک کلروآمفنیکل و ۱۰ میکروگرم آنتی‌بیوتیک جنتامایسین (پادتن طب، ایران) به‌عنوان کنترل مثبت استفاده گردید . نتایج آزمون

حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) برای تعیین اثرات ضدمیکروبی نانوذرات سنتز شده بر روی باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت *اشریشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* نشان داد که حداقل غلظت بازدارندگی و کشندگی نانوذرات سنتز شده توسط عصاره سبب مهار هر دو باکتری گرم منفی و گرم مثبت شده بود (شکل ٤). همچنین اثرات ضدباکتریایی این نانو ذرات با کلرآمفنیکل و جنتامایسین به روش انتشار دیسک و اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد در محیط آگار مولرهینتون مورد ارزیابی قرار گرفت و با مقایسه میانگین اثر ضدمیکروبی نانو ذرات زیستی تولید شده توسط عصاره بابونه بر روی آنتی‌بیوتیک‌های کلرامفنیکل و جنتامایسین نتایج قابل قبولی به‌دست آمد. در رابطه با اثر نانوذرات سنتز شده توسط عصاره بابونه بر روی باکتری‌های مختلف، نتایج نشان داد که نانوذرات سنتز شده اثر مهاری و کشندگی معنی داری داشتند. به‌طوری‌که حداقل غلظت کشندگی برای باکتری *اشریشیا کلی* ۸۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر و برای باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* این میزان ۷۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر بود (شکل ٤).



شکل ٤: آزمون MIC و MBC نانوذرات نقره سنتزی روی *اشریشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس*.

تست ضدسرطانی به‌روش MTT نشان داد که اثر مهاری نانوذرات نقره در غلظت‌های مختلف بر روی رده‌های سلولی مورد مطالعه بین ۲/۷ تا ۸۳/۳ درصد متغیر و نشان دهنده اثر متقابل مستقیم دوز بر میزان مهاری نانوذرات نقره بود. با مقایسه اثر مهاری نانوذرات نقره مختلف، مشاهده شد که نانوذرات سنتز شده توسط عصاره بابونه از اثر مهاری مناسبی برخوردار بودند و درصد زنده مانی رده‌های سلولی مختلف کم بود. در رابطه با نانوذره سنتز شده، بیشترین اثر مهاری با کاربرد ۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر به‌دست آمد (شکل ۵). میانگین اثر مهاری نانوذرات سنتز شده توسط عصاره بابونه به‌طور متوسط ۲۹ درصد برآورد شد. (شکل ۵).



شکل ۵: درصد بقای رده‌های سلولی در برابر غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره سنتز شده توسط بابونه گاوی. ستون‌هایی که دارای حرف مشترک هستند از نظر آماری در سطح ۵ درصد معنی‌دار نیستند.

بحث

بیوسنتز نانوذرات نقره با استفاده از گیاهان دارویی، منجر به کاهش هزینه‌های تولید شده و نانوذرات به‌دست آمده دارای خصوصیات فیزیکی و شیمیایی ویژه‌ای هستند که برای استفاده در اهداف مختلف پزشکی و دارویی از ارزش بالایی برخوردار هستند (۱۸و۱۹). در مطالعه حاضر میانگین قطر نانوذرات نقره سنتز شده توسط عصاره گیاه دارویی بابونه برابر با ۱۹ نانومتر بود. اندازه و شکل نانوذرات عامل مهمی در میزان اثر ضدمیکروبی آن‌ها محسوب می‌گردد. نانوذرات با اندازه‌های متفاوت می‌توانند اثرات متقابل مختلفی با دیواره سلولی باکتری‌ها داشته باشند که نهایتا بر میزان خواص ضدمیکروبی آن‌ها بسیار تاثیر دارد (۲۰). در مطالعه حاضر نانوذرات نقره سنتز شده در طول موج ٤۵۰ نانومتر بیشترین میزان جذب را نشان دادند. براساس نتایج مطالعات گذشته، افزایش ارتعاشات سطح پلاسمون و دامنه جذب نانوذرات نقره زیستی بین ٤۰۰ تا

٤٦٠ نانومتر گزارش شده است. در مطالعه مشابهی که توسط رویز بالتازارو همکاران (۲۰) انجام شد بیشینه جذب نانوذرات زیستی نقره بین ٤٢٠ تا ٤٤٠ نانومتر برآورد شد. به‌دلیل تفاوت‌های فراوان در محتوای متابولیت‌های ثانویه و تنوع آن‌ها در گیاهان دارویی، نانوذرات سنتز شده توسط عصاره گیاهان دارویی از نظر شکل و اندازه تفاوت‌های فراوانی خواهند داشت (۲۱و۲۲). اندازه نانوذرات نقره سنتز شده توسط بابونه گاوی را بین ٦٠ تا ٦٥ نانومتر گزارش داده‌اند. امروزه مقاومت آنتی‌بیوتیکی در باکتری‌ها یکی از چالش‌های مهم بخش بهداشت و درمان محسوب می‌گردد. باکتری‌های بیماری‌زا از مکانیسم‌های متعدد و متفاوتی برای ایجاد مقاومت در برابر مصرف انواع مختلفی از آنتی‌بیوتیک‌ها استفاده می‌کنند و مطالعات نشان داده که باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی از این نظر اختلاف دارند. اولین سد در برابر ترکیبات ضد میکروبی، دیواره سلول باکتری است. باکتری‌های گرم مثبت از جمله *استافیلوکوکوس اورئوس* دارای دیواره سلولی ضخیم‌تری هستند، با این وجود باکتری‌های گرم منفی نظیر *اشریشیا کلی* به دلیل دارا بودن یک لایه بیرونی از جنس لیپوپلی‌ساکارید و غنی از پورین، نسبت به باکتری‌های گرم مثبت از مقاومت بالاتری در برابر ورود مواد ضدمیکروبی به درون سلول برخوردار هستند (۲۳و۲٤و۲۵).

نانوذرات سنتز شده در مطالعه حاضر اثر ضدمیکروبی مناسبی بر روی باکتری *اشریشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* نشان دادند. حداقل غلظت کشندگی نانوذرات بین ٥٠٠ تا ٨٥٠ میکروگرم در میلی‌لیتر بود در مطالعات گذشته اثر ضدمیکروبی نانوذرات سنتز شده توسط گیاه دارویی بابونه گزارش شده است (۲٦و۲۷). نانوذرات فلزی از جمله نانوذرات نقره، به‌دلیل دارا بودن ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و اثرات ضدسرطانی متنوع، مورد توجه بسیاری از محققین قرار دارند (۲۸). مبارزه با سلول‌های سرطانی با استفاده از نانوذرات فلزی، عوارض ناخواسته درمان این بیماری را کاهش می‌دهد. داروهای شیمی درمانی بر روی سلول‌های طبیعی و سرطانی به طور مشابه عمل می‌کنند با این وجود نانوذرات دارای یک اثر کنترل شده بر روی رده‌های مختلف سلول سرطانی است (۱۷). میزان زنده‌مانی سلول‌های سرطانی به میزان دوز مصرف شده نانوذرات نقره همبستگی مثبتی داشت. غلظت ٥٠ میکروگرم در میلی‌لیتر از نانوذرات نقره سنتز شده توانست بیش از ٥٠ درصد اثر مهاری و کشندگی بر روی سلول‌های سرطانی مختلف داشته باشد. به‌طور کلی نانوذرات سنتز شده توسط عصاره گیاه دارویی بابونه گاوی اثر مهاری خوبی بر روی سلول‌های سرطانی نشان داد.

مطالعات دیگری در این زمینه وجود دارد که نشان داده غلظت بالاتری از نانوذرات نقره (۸۲ میکروگرم در میلی‌لیتر) جهت جلوگیری از تکثیر سلول‌های سرطانی نیاز است (۲۹). راج مینا (Raj-Meena) و همکاران (۳۰) گزارش دادند که نانوذرات نقره زیستی می‌توانند به طور موثری بر علیه سلول‌های سرطانی مختلف سمیت داشته باشند. در مطالعه آن‌ها بیشترین اثر کشندگی بر روی سلول‌های سرطانی پستان (MCF-7) مشاهده شد به‌طوریکه ٦٥ میکروگرم در میلی‌لیتر نانوذرات نقره توانست ٥٠ درصد سلول‌های سرطانی را از بین ببرد که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد. بار سطحی سلول‌های پروکاریوت و یوکاریوت، نقش مهمی در سمیت نانوذرات نقره دارد. سلول‌های یوکاریوتی توسط غشای فسفولیپیدی با بار منفی احاطه شده است. به‌همین دلیل انتظار می‌رود که نانوذرات نقره با بار مثبت تمایل بالایی برای اتصال با غشای سلولی داشته باشند. سلول‌های سرطانی نظیر HeLa نسبت به سلول‌های طبیعی دارای غشای غنی‌تری از بارهای منفی هستند. به‌همین دلیل یکی از عواملی که می‌تواند کارایی نانوذرات در مبارزه با سلول‌های سرطانی موثر باشد، تمایل به جذب یون‌های مثبت نقره (Ag^{+}) توسط غشای سلول‌های سرطانی است (۳۱). یکی از مهم‌ترین اثرات کشندگی نانوذرات نقره، آزاد شدن یون‌های نقره (Ag^{+}) به‌عنوان عوامل سمی در درون سلول است. براساس مطالعات قبلی مشخص شده که محیط اطراف سلول‌های سرطانی نسبت به سلول‌های طبیعی اسیدی‌تر است. آزاد شدن یون‌های نقره در محیط اسیدی سریع‌تر و راحت‌تر صورت می‌گیرد و به‌همین دلیل غلظت یون‌های نقره در محیط اطراف

سلول‌های سرطانی افزایش یافته و سبب از بین رفتن آن‌ها خواهد شد (۳۲). اندازه و شکل نانوذرات نقره از مهم‌ترین عوامل موثر بر عملکرد زیستی آن‌ها می‌باشد. نانوذرات کوچک با قطر ۱۰ نانومتر و کمتر، می‌توانند به راحتی به درون سلول‌های سرطانی نفوذ کرده و اثر سمیت بیشتری نسبت به نانوذرات بزرگتر داشته باشند (۳۳). علاوه‌بر اندازه وشکل نانوذرات، نوع پوشش نانوذرات زیستی، بر سمیت سلولی آن‌ها موثر است (۳٤). نانوذرات نقره کروی با اندازه کوچکتر از ۱۵۰ نانومتر به راحتی با سطوح سلولی عکس‌العمل نشان داده و اثر سمی خود را نشان می‌دهند. با این حال سمیت نانوذرات نقره بیشتر تحت تاثیر دوز استفاده شده آن‌هاست (۳۳). گیاه دارویی بابونه حاوی متابولیت‌های ثانویه متنوعی از گروه‌های مختلف از جمله آلکالوییدها، فنول‌ها و ترکیبات فلاونوییدی بوده که اثر ضدمیکروبی و ضدسرطانی آن‌ها به اثبات رسیده است (۳۵و۳٦و۳۷و۳۸). در سنتز زیستی نانوذرات فلزی، متابولیت‌های ثانویه از مهم‌ترین عوامل پوشش دهنده و پایدارکننده نانوذرات محسوب می‌شوند. این ترکیبات زیستی به‌دلیل سازگاری بالا با محیط زیست و همچنین ایمنی بالا در مصرف، می‌توانند به‌عنوان عوامل کلیدی در سنتز نانوذرات مورد استفاده قرار بگیرند. مطالعات متعدد نشان داده که متابولیت‌های ثانویه از جمله فنول‌ها و ترکیبات فلاونوییدی از پتانسیل آنتی‌اکسیدانی بالایی برخوردار هستند. به‌همین دلیل نانوذرات پوشش داده شده با متابولیت‌های ثانویه ضمن دارا بودن اثر کشندگی بر روی سلول‌های سرطانی، نقش مهمی در پیشگیری از سرطان در سلول‌های نرمال نیز خواهند داشت (۳۹).

نتیجه‌گیری

نانوذرات نقره به‌دلیل خواص فیزیکوشیمیایی و زیستی متعدد، به طور گسترده‌ای در درمان بیماری‌ها و تولید داروها استفاده می‌شوند. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که استفاده از گیاه دارویی بابونه گاوی می‌تواند در سنتز زیستی نانوذرات نقره موفق باشد. این نانوذرات به دلیل داشتن خواص ضدمیکروبی و همچنین اثر مهاری بر روی رده‌های مختلف سلول سرطانی، می‌توانند در پیشگیری و درمان بسیاری از بیماری‌های عفونی و مزمن استفاده شوند. متابولیت‌های ثانویه موجود در گیاهان دارویی به عنوان عامل اصلی سنتز زیستی نانوذرات نقره، سبب پایداری و پوشش نانوذرات شده که این ترکیبات با دارا بودن ویژگی‌های زیستی مفید از جمله آنتی‌اکسیدان، ضدمیکروب و ضدسرطان در بهبود عمل نانوذرات نقره بسیار موثر خواهند بود. اگرچه نانوذرات نقره دارای خواص ضدمیکروبی و ضد سرطانی قابل توجهی هستند اما برای سلول‌های مختلف انسانی از جمله سلول‌های کبدی و مغزی بسیار سمی هستند. با این حال، سنتز زیستی نانوذرات نقره سبب کاهش سمیت آن‌ها می‌شود. پوشش نانوذرات نقره توسط متابولیت‌های ثانویه گیاهان دارویی سبب تثبیت آن‌ها شده و از تجمع آن‌ها جلوگیری می‌کند. پوشش زیستی موجود بر روی نانوذرات نقره آن‌ها را برای مقاصد دارویی بسیار مناسب ساخته است بر همین اساس، به نظر می‌رسد که مطالعات بیشتری در زمینه تاثیر نانوذرات نقره بر روی سلول‌های طبیعی مورد نیاز است تا بتوان از فواید زیستی با ایمنی بیشتری استفاده نمود.

ملاحظات اخلاقی

نویسندگان، تمامی نکات اخلاقی شامل عدم سرقت ادبی، انتشار دوگانه، تحریف داده‌ها و داده‌سازی را در این مقاله رعایت کرده‌اند.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله از حمایت دانشگاه آزاد اسلامی واحد خرم آباد و تمامی کسانی که در انجام مراحل تحقیق یاری نمودند تشکر و قدردانی می‌کنند.

تعارض منافع

وجود ندارد.

References

1. Zewde B, Ambaye A, Stubbs J. A review of stabilized silver nanoparticles–synthesis, biological properties, characterization, and potential areas of applications. JSM Nanotechnology and Nanomedicine. (2016); 4(2): 1043.
2. Hasan S. A review on nanoparticles: their synthesis and types biosynthesis. Mechanism. (2015);4: 9–11.
3. Bahar Yaqoob S, Adnan R, Rameez Khan R.M, Rashid M. Gold, silver, and palladium nanoparticles: a chemical tool for biomedical applications. Frontiers in Chemistry. (2020);8: 376.
4. Mu W, Chu Q, Liu Y, Zhang N. A review on Nano-based drug delivery system for cancer chemo immunotherapy. Nano-Micro Letters. (2020);12:142.
5. Sharma A, Goyal A.K, Rath G. Recent advances in metal nanoparticles in cancer therapy, Journal of Drug Target. (2018); 8: 617-632.
6. Iqbal S, Fakher-e-Alam M, Akbar F, Shafiq M, Atif M, Amin N. Application of silver oxide nanoparticles for the treatment of cancer. Journal of Molecular Structure. (2019);1189: 203-209.
7. Yin I.X, Zhang J, Zhao I, Mei M.L, Li Q, Chu C.H. The antibacterial mechanism of silver nanoparticles and its application in dentistry. International Journal of Nanomedicine. (2020);15: 2555–2562.
8. Wang L, H.u C, Shao L. The antimicrobial activity of nanoparticles: present situation and prospects for the future. International Journal of Nanomedicine. (2017);12: 1227–1249.
9. Baranwal A, Srivastava A, Kumar P, Bajpai V.K, Maurya P.K, Chandra P. Prospects of nanostructure materials and their composites as antimicrobial agents. Front Microbiology. (2018);9: 422.
10. Fernando S.S.N, Gunasekara T.D.C.P, Holton J. Antimicrobial nanoparticles: applications and mechanisms of action. Sri Lankan Journal of Infectious Diseases. (2018); 8 (1): 2-11.
11. Liao S, Zhang Y, Pan X, Zhu F, Jiang O, Liu Q. Antibacterial activity and mechanism of silver nanoparticles against multidrug-resistant Pseudomonas aeruginosa. International Journal of Nanomedicine. (2019);14: 1469–1487.
12. Raj-Meena H.P, Singh A.P, Tejavath K.K. Biosynthesis of silver nanoparticles using Cucumis prophetarum aqueous leaf extract and their antibacterial and ant proliferative activity against cancer cell lines. ACS Omega. (2020); 5: 5520−5528.
13. Roy A, Bulut O, Some S, Kumar Mandal A, Yilmaz M.D. Green synthesis of silver nanoparticles: biomolecule-nanoparticle organizations targeting antimicrobial activity. RSC Advances. (2019);9: 2673–2702.
14. Sharma D, Kanchi S, Bisetty K. Biogenic synthesis of nanoparticles: A review. Arabian Journal of Chemistry. (2015); 12: 3576–3600.

15. Alharbi N.S, Alsubhi N.S, Felimban A.L. Green synthesis of silver nanoparticles using medicinal plants: Characterization and application. Journal of Radiation Research and Applied Sciences(2022):109-124.
16. Gerlier D, Thomasset N. Use of MTT colorimetric assay to measure cell activation. Journal of Immunology Methods. (1986);94(1-2):5763.
17. Al-Sufyani N.M,Hussien N.A,Hawsawi Y.M. Characterization and anticancer potential of silver nanoparticles biosynthesized from Olea chrysophylla and Lavandula dentata leaf extracts on HCT116 colon cancer cells. Journal of Nanomaterials. (2019):7361695.
18. Devi S.J, Bhimba B.V. Anticancer activity of silver nanoparticles synthesized by the seaweed Ulva lactuca Invitro. Science Reports. (2012); 1(4):1-5.
19. 18-Iqbal S, Fakher-e-Alam M, Akbar F, Shafiq M, Atif M, Amin N. Application of silver oxide nanoparticles for the treatment of cancer. Journal of Molecular Structure. (2019);1189: 203-209.
20. Ruíz-Baltazar A.J, Reyes-López S.Y, Larrañaga D, Estévez M, Pérez R. Green synthesis of silver nanoparticles using a Melissa officinalis leaf extract with antibacterial properties. Results in Physics. (2017);7: 639–2643.
21. Negahdary M, Omidi S, Eghbali-Zarch A, Mousavi S.A, Mohseni G, Moradpour Y. Plant synthesis of silver nanoparticles using Matricaria chamomilla plant and evaluation of its antibacterial and antifungal effects. Biomedical Research. (2015); 26(4): 794-799.
22. Pirtarighat S , Ghannadnia M , Baghshahi, S. Antimicrobial effects of green synthesized silver nanoparticles using Melissa officinalis grown under in vitro condition. Nanomedical Journal. (2017);4(3): 184-190.
23. Blair M.A, Webber M.A, Baylay A.J, Ogbolu D.O, Piddock L.J.C. Molecular mechanisms of antibiotic resistance. Nature Review. (2015); 13: 42-51.
24. zamani kochesfehani M. Ataei jaliseh S. zamani kochesfehani M H. Antibacterial effect of silver nanoparticles synthesized from the red algae Gracilaria gracilis . Journal of Microbial World 2021, 13(4): 369-378.
25. Zarrin V. Taherizadeh M. Tanideh N. Talaei-Khozani T. The effect of Sargassum muticum hot water and ethanolic extracts on intestinal microbiota in obese male rats. Journal of Microbial World 2022, 15(2): 134-146.
26. Omidi Nasab M. Aeini M. Characterization and antibacterial activity of the chemical essential oil of Foeniculum vulgare and Eucalyptus to control some important plant pathogenic bacteria. Journal of Microbial World 2020, 12(4): 393-399.
27. Lee S.H, Jun B.H. Silver nanoparticles: synthesis and application for nanomedicine. International Journal of Molecular Science. (2019);20: 865.
28. Henriksen-Lacey M, Carregal-Romero S, Liz-Marzán L.M. Current challenges toward in vitro cellular validation of inorganic nanoparticles. Bioconjugate Chemistry. (2017); 28(1): 212-221.

29. Datta P.K, Sandeep A, Sonu A. Anti-proliferative effect of silver nanoparticles in HeLa cells due to enhanced oxidative stress. Research Journal of Biotechnology. (2018);13(2): 68-74.

30. 11-Fierascu I, Georgiev M.I, Ortan A, Fierascu R.C, Avramescu S.C, Ionescu D. Phyto-mediated metallic nanoarchitectures via Melissa officinalis L.: synthesis, characterization and biological properties. Scientific Reports. (2018);7: 12428.

31. Dobrzynska I, Skrzydlewska E, Figaszewski Z. Changes in electric properties of human breast cancer cells. The Journal of Membrane Biology. (2012);246: 161–166.

32. Jeong J, Gurunathan S., Kang M. Hypoxiamediated autophagic flux inhibits silver nanoparticle- triggered apoptosis in human lung cancer cells. Science Reports. (2016); 6: 21668.

33. Ghate P, Prabhu S D, Murugesan G, Goveas L.C, Varadavenkatesan T, Vinayagam R. Chi N.T.L, Pugazhendhi A, Selvaraj R. Synthesis of hydroxyapatite nanoparticles using Acacia falcata leaf extract and study of their anti-cancerous activity against cancerous mammalian cell lines. Environmental Research(2022);2:113917

34. Gurunathan S, Kim E.S, Han J, Park J, Kim J.H. Green chemistry approach for synthesis of effective anticancer palladium nanoparticles. Molecules. (2015); 20(12): 22476–22498.

35. Al-Dabbagh B, Elhaty I.A, Elhaw M, Murali C. Al-Mansoori A, Amin A. Antioxidant and anticancer activities of chamomile (Matricaria recutita L.). BMC Research Notes. (2019); 12: 3.

36. Saraydin S.U, Tuncer E, Tepe B, Karadayi S, Özer H, Şen M. Antitumoral Effects of Melissa officinalis on Breast Cancer in Vitro and In Vivo. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention. (2012);13: 2765-2770.

37. Souihi S, Ayed B.B, Trabelsi I, Khammassi M, Brahim N.B, Annabi M. Plant extract valorization of Melissa officinalis L. for agro industrial purposes through their biochemical properties and biological activities. Journal of Chemistry. (2020); 9728093.

38. Srivastava J.M, Gupta S. Antiproliferative and apoptotic effects of chamomile extract in various human cancer cells. Journal of Agriculture and Food Chemistry. (2007); 55(23): 9470-9478.

39. Mittal A.K, Bhaumik J, Kumar S, Banerjee U.C. Biosynthesis of silver nanoparticles elucidation of prospective mechanism and therapeutic potential. Journal of Colloid Interface Science. (2014);2: 39-47.