

بررسی اثر ضدسرطانی نانوذرات نقره بیوسنتز شده توسط عصاره جلبک سبز *Spirogyra* sp. بر رده سلولی سرطان پستان MDA-MB-231

فریال مزرعاوی^۱، فاطمه مرادی^۲، محمودرضا آقامعالی^{۳*}

DOI: 10.22124/japb.2023.23586.1489

تاریخ پذیرش: اسفند ۱۴۰۱

تاریخ دریافت: دی ۱۴۰۱

چکیده

امروزه روش سبز با استفاده از عصاره‌های گیاهی برای تولید نانوذرات مورد استفاده در صنعت، به دلیل سریع بودن واکنش، اقتصادی بودن و سازگار بودن با محیط زیست توجه زیادی را به خود جلب کرده است. در مطالعه حاضر، اثر ضدسرطانی نانوذرات نقره بیوسنتز شده با عصاره آبی و متانولی (۸۰ درصد) جلبک سبز *Spirogyra* sp. بر روی سلول‌های سرطان پستان انسان رده MDA-MB-231 بررسی شد. کروماتوگرام طیف‌سنج GC-MS عصاره این جلبک نشان داد که ترکیبات Nonadecane (۱۴/۸۶ درصد)، Heneicosane (۱۰/۲۴ درصد) و Tridecane, 6-phenyl (۵/۴۴ درصد) بیشترین درصد را داشتند. نانوذرات نقره با افزودن عصاره آبی و متانولی جلبک به محلول نیترات نقره سنتز شد و ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی آن توسط روش‌های اسپکتروفتومتری UV/Vis، FTIR، DLS، پتانسیل زتا و میکروسکوپ الکترونی FESEM تعیین شد. همچنین، سمیت سلولی نانوذره نقره بیوسنتز شده در غلظت‌های مختلف با روش MTT بر روی سلول‌های سرطانی بررسی شد. نتایج نشان داد که نانوذرات نقره بیوسنتز شده دارای بیشترین جذب در طول موج ۴۳۴ نانومتر بوده و میانگین اندازه آنها ۳۰ تا ۷۹ نانومتر با ریخت‌شناسی کروی شکل بودند. سمیت سلولی نانوذرات نقره بیوسنتزی علیه سلول‌های سرطانی با افزایش غلظت بیشتر شد. در نتیجه نانوذرات نقره بیوسنتز شده به روش زیستی دارای فعالیت مهاری بر سرطان بودند و می‌توانند در جهت درمان سرطان پستان مورد مطالعه بیشتری قرار گیرند.

واژگان کلیدی: نانوذرات نقره، سرطان، سنتز سبز، *Spirogyra* MTT

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد بیوشیمی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان، رشت، ایران.

۲- دکتری بیوشیمی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان، رشت، ایران.

۳- دانشیار گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان، رشت، ایران.

* نویسنده مسئول: aghamaali@guilan.ac.ir

مقدمه

در درمان‌های ضدقارچی، ضدباکتریایی، ضدویروسی و ضدسرطانی هستند و انتخاب مناسبی برای استفاده در مصارف پزشکی، داروسازی، بهداشتی و غیره هستند (Narayanan and Sakthivel, 2011; Verma et al., 2016). علاوه بر این، نانوذرات نقره نسبت به نانوذرات فلزات نجیب دیگر به دلیل اهمیت خواص فیزیکوشیمیایی، هزینه کم، هدایت حرارتی و الکتریکی، ثبات شیمیایی، فعالیت کاتالیزوری و مهم‌تر از آن، از دست دادن اندک فرکانس نوری در طول انتشار پلاسمون سطحی سودمند هستند (Elgamouz et al., 2020). اگرچه این نانوذرات دارای پتانسیل‌های درمانی متعددی هستند، اما این طور گزارش شده است که باعث سمیت نامطلوب می‌شوند. با این حال، چنین سمیت ناخواسته نانوذرات نقره ممکن است با عامل‌دار کردن یا پوشاندن سطح نانوذرات با پلیمرهای زیستی کاهش یابد. بنابراین روش سبز اهمیت پیدا می‌کند. ساخت نانوذرات که در آن از بیومولکول‌ها به عنوان یک عامل کاهنده و همچنین به پوشش همزمان نانوذرات با مولکول‌های زیستی کمک کند، در نتیجه زیست سازگاری را بهبود می‌بخشد (Acharya et al., 2020). علاوه بر این، روش

یکی از سرطان‌های پرشیوع دنیا، سرطان پستان است که در سراسر دنیا مهم‌ترین نوع سرطان در زنان است (Ghoncheh et al., 2016). درمان‌های رایج سرطان شامل جراحی، پرتودرمانی و شیمی‌درمانی است که اغلب موارد سلول‌های سالم نیز از بین می‌روند که این می‌تواند باعث اثرات سمی و عوارض جانبی در بیمار شود (Fock et al., 2014). با توجه به اثرات جانبی داروهای شیمیایی مورد استفاده و مقاومت دارویی سلول‌های سرطانی برای این داروها، نیاز فوری به توسعه روش‌های درمانی جدید موثر، زیست سازگار و کم‌هزینه با حداقل عوارض جانبی که بتواند فقط روی سلول‌های سرطانی اثرگذار باشند و همچنین استفاده از کمترین غلظت داروها به طوری که اثرات سمی دارو روی سلول‌های طبیعی کاهش یابد، احساس می‌شود (Sorlie, 2016). یکی از روش‌هایی که اخیراً در پروژه‌های پزشکی سرطان بسیار گسترده شده است، استفاده از نانوذرات فلزی است (Ravindran et al., 2013; Elgamouz et al., 2020). یکی از مهم‌ترین نانوذرات فلزی مورد استفاده نانوذرات نقره است. نانوذرات نقره دارای ویژگی‌های مشخص زیستی با کاربردهای متنوع

می‌توانند نقش مهمی را در احیای یون‌های فلزی و تبدیل آن به فرم نانو به شکل خارج سلولی داشته باشند (Mansuya et al., 2010; El-Deeb et al., 2022). جلبک سبز به دلیل فعالیت زیستی و در دسترس بودن آن به جای گیاهان خشکی استفاده می‌شود. علاوه بر این، جلبک‌ها بسیار سریع‌تر از گیاهان خشکی رشد می‌کنند (Elgamouz et al., 2020). جلبک سبز رشته‌ای غیرمنشعب *Spirogyra* از شاخه Chlorophyta و راسته Zygnematales است و پیشوند Spiro در نام انگلیسی آن به علت مارپیچ بودن چیدمان کلروپلاست‌های آن است، که ویژگی کل جنس این جلبک است (شکل ۱).



شکل ۱: جلبک سبز *Spirogyra* sp. (بزرگنمایی 100×)

محیط زندگی *Spirogyra* در آب‌های شیرین بوده و در این مکان‌ها به صورت آزاد و شناور رایج است (Barsanti and Gualtieri, 2005). بررسی مطالعات نشان می‌دهد که تولید

سبز تولید نانوذرات نقره مزایایی نسبت به روش‌های دیگر تولید شیمیایی و فیزیکی دارد مانند سریع بودن واکنش، مقرون به صرفه بودن، نسبتاً ساده بودن و به راحتی با اندازه دلخواه و اشکال با ثبات بالاتر ساخته شدن و سازگار بودن با محیط زیست (Acharya et al., 2020). در مقابل روش سبز، نانوذرات به دست آمده از روش‌های فیزیکی و شیمیایی به دلیل استفاده از مواد شیمیایی سمی مانند سدیم، نیترات سدیم و الکل که نقش عوامل احیایی و تثبیت کننده را ایفا می‌کنند (Senapati et al., 2012)، به شدت آتش‌زا هستند و در طبیعت به صورت، تجزیه نشده باقی می‌مانند، که در نهایت موجب آلودگی شیمیایی محیط زیست می‌شوند. از دیگر معایب این روش‌ها میزان تولید پایین و استفاده از فشار، دما و انرژی بالا در طی فرآیند واکنش است (Rajeshkumar et al., 2021). یکی از این منابع که می‌توانند در بحث نانوتکنولوژی و تولید نانوذرات مورد استفاده قرار گیرند، جلبک‌ها هستند که به دلیل فراوانی و داشتن انواع ترکیبات فیتوشیمیایی متنوع مانند پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها، آلکالوئیدها، کاروتنوئیدها، اسیدهای چرب ضروری، پلی‌ساکاریدها، ویتامین‌ها، مواد معدنی، استروئیدها، فنول‌ها، ساپونین و فلاونوئیدها

۵۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد (مجللی، ایران) به صورت جداگانه در ارلن ریخته شد و به مدت ۲۴ ساعت در شیکر انکوباتور (JTSL20، ژال تجهیز، ایران) با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. مخلوط به دست آمده پس از سرد شدن، با کاغذ صافی واتمن شماره ۱ (Whatman، انگلستان) صاف شد و عصاره‌ها برای حذف حلال و تغلیظ در آون (Memmert، آلمان) با دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. سپس برای به دست آوردن غلظت، نمونه‌ها توسط ترازو ((AND.GF200(0.001)، ژاپن) توزین و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (Singaravelu et al., 2007).

شناسایی ترکیبات زیستی موجود در جلبک با روش GC-MS

شناسایی و بررسی ترکیبات عصاره جلبک توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی با طیف‌سنج جرمی (GC-MS) (GC7890-MS5975، Agilent، آمریکا) انجام شد. پس از تزریق به دستگاه گاز کروماتوگراف و یافتن مناسب‌ترین برنامه‌ریزی حرارتی ستون، برای دستیابی به بهترین جداسازی، عصاره متانولی جلبک به صورت رقیق به دستگاه گاز کروماتوگراف کوپل شده با طیف‌سنج جرمی GC-MS تزریق و

نانوذرات با استفاده از جلبک‌ها کمتر شناخته شده است، از این رو هدف از انجام این مطالعه روش سبز تولید نانوذرات نقره با استفاده از عصاره آبی و متانولی (۸۰ درصد) جلبک سبز *Spirogyra sp.* و بررسی اثر سمیت آن روی سلول‌های سرطان پستان انسان رده MDA-MB-231 است.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری و تهیه زیست‌توده جلبک *Spirogyra sp.*

جلبک *Spirogyra sp.* از بستر شالیزارهای استان گیلان منطقه ماسال جمع‌آوری و به آزمایشگاه بیوشیمی دانشکده علوم پایه دانشگاه گیلان منتقل شد. چندین بار با آب مقطر شسته و سپس با کلیدهای شناسایی مناسب توسط میکروسکوپ نوری شناسایی شد. سپس توسط دستگاه فریزدرایر (Alpha 1-2 LDplus، Christ، آلمان) خشک و توسط هاون پودر شد و تا موقع استفاده در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

آماده‌سازی عصاره جلبکی

برای تهیه عصاره آبی و متانولی به روش خیساندن در حلال، ابتدا ۵ گرم از پودر خشک شده جلبک همراه با ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر و

طیف‌های جرمی و کروماتوگرام‌های مربوط به دست آمد.

تولید نانوذرات نقره به روش سبز

به منظور احیای یون‌های نقره ۱۰ میلی‌لیتر از عصاره آبی و متانولی (۸۰ درصد) جلبک با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به ۹۰ میلی‌لیتر محلول نیترات نقره ($AgNO_3$ ، Merck، آلمان) ۱ میلی‌مولار اضافه شد و روی شیکر انکوباتور با سرعت ۱۲۰ دور در دقیقه در شرایط تاریکی و در دمای آزمایشگاه به مدت ۷۲ ساعت قرار گرفت. پس از گذشت این زمان، محلول از زرد کم‌رنگ به قهوه‌ای تغییر رنگ داد. این تغییر رنگ، اولین نشانه تشکیل نانوذرات نقره و احیای یون‌های نقره به نانوذرات نقره است. به منظور خالص‌سازی و شستشوی نانوذرات، مخلوط به دست آمده سه بار با آب مقطر در ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ (Sigma، آلمان) شد (Jegadeeswaran et al., 2012; Rao et al., 2016).

مشخصه‌یابی نانوذرات نقره بیوسنتز شده

برای تعیین ویژگی‌ها و اطمینان از تولید و کیفیت نانوذرات نقره ساخته شده از دستگاه‌های طیف‌سنج فرابنفش- مرئی (117166

Biochrom, UV/Visible، انگلستان) در طول موج بین ۷۰۰-۴۰۰ نانومتر پس از ۷۲ ساعت از زمان شروع واکنش و تغییر رنگ به قهوه‌ای برای تایید ساخت نانوذرات نقره، از طیف‌سنج DLS (Nanotrac Flex، Microtrac، آمریکا) و پتانسیل زتا (Zeta-check، Microtrac، آمریکا) برای تعیین توزیع و پراکندگی نانوذرات استفاده شد. علاوه بر این برهمکنش‌ها در مخلوط واکنش با روش طیف‌سنجی FTIR (JASCO، 4700، ژاپن) مورد بررسی قرار گرفت. همچنین ارزیابی اندازه و ریخت‌شناسی نانوذرات با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی میدان گسیل (FESEM (MIRA III، TESCAN، چک) مورد مطالعه قرار گرفت (Okafor et al., 2013).

بررسی سمیت سلولی با روش MTT

سلول‌های سرطانی سینه رده MDA-MB-231 (NCBI NO. C578) از بانک سلولی انیستیتو پاستور ایران تهیه شدند و در محیط کشت DMEM غنی از گلوکز (BI-1003، BioIdea، ایران) به همراه ۱۰ درصد سرم جنین گاوی (10270-106، Gibco، آمریکا) و ۱۰۰ واحد در میلی‌لیتر پنی‌سیلین و استرپتومایسین (BI-1203، BioIdea، ایران) در شرایط ۳۷

رابطه ۱:

$$C_L (\%) = (A_T / A_C) \times 100$$

A_T : جذب نوری سلول‌های تیمار شده با نانوذرات؛
 A_C : جذب نوری سلول‌های تیمار نشده (شاهد).

غلظت IC_{50} یعنی غلظتی از نانوذرات بیوسنتز شده با عصاره متانولی و آبی جلبک که در آن نیمی از سلول‌ها زنده و نیمی کشته شوند با کمک معادله خط منحنی استاندارد به دست آمده از داده‌های روش MTT در مدت ۴۸ ساعت محاسبه شد.

بررسی آماری داده‌ها

نتایج بر اساس میانگین سه تکرار و میزان انحراف از معیار (SD) بیان شده است. برای بررسی داده‌ها از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) و پس‌آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($P < 0.05$) با نرم‌افزار SPSS 17.0 و برای ترسیم نمودارها از نرم‌افزار Microsoft Excel 2010 استفاده شد.

نتایج

آنالیز کروماتوگرام طیف‌سنج جرمی GC-MS کروماتوگرام طیف سنج GC-MS عصاره جلبک سبز *Spirogyra* sp. (شکل ۲) و بررسی درصد ترکیبات موجود در آن (جدول ۱)

درجه سانتی‌گراد، ۵ درصد CO_2 و رطوبت ۹۵ درصد کشت داده شدند. سلول‌های کشت شده به میزان 10^5 سلول به پلیت‌های ۹۶ خانه‌ای منتقل و به مدت ۲۴ ساعت در شرایط کشت انکوبه شدند. سپس نانوذرات نقره بیوسنتز شده با غلظت‌های ۷/۵، ۱۵/۵، ۳۱/۵، ۶۲/۵، ۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر به چاهک‌ها اضافه شد (با سه تکرار) و نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در شرایط کشت گرماگذاری شدند. چاهک‌های حاوی سلول‌های تیمار نشده با نانوذرات به عنوان گروه شاهد در نظر گرفته شد. پس از گذشت زمان گرماگذاری، ۳۰ میکرولیتر رنگ MTT (۰/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر، ROTH، آلمان) به سلول‌ها اضافه و به مدت ۳ ساعت گرماگذاری شد. کریستال‌های نامحلول آبی رنگ فورمازان (شاخص مولکولی سلول‌های زنده) در ۱۰۰ میکرولیتر محلول DMSO (Merck، آلمان) حل شدند و جذب محلول به دست آمده در دستگاه الیزا ریدر (MPR4+)، Hiperion Microplate Reader، آلمان) و در طول موج ۵۴۰ نانومتر خوانده شد. در نهایت درصد سلول‌های زنده (C_L) بر حسب درصد سلول‌های زنده تیمار شده نسبت به سلول‌های تیمار نشده، از رابطه ۱ محاسبه شد (He et al., 2017).

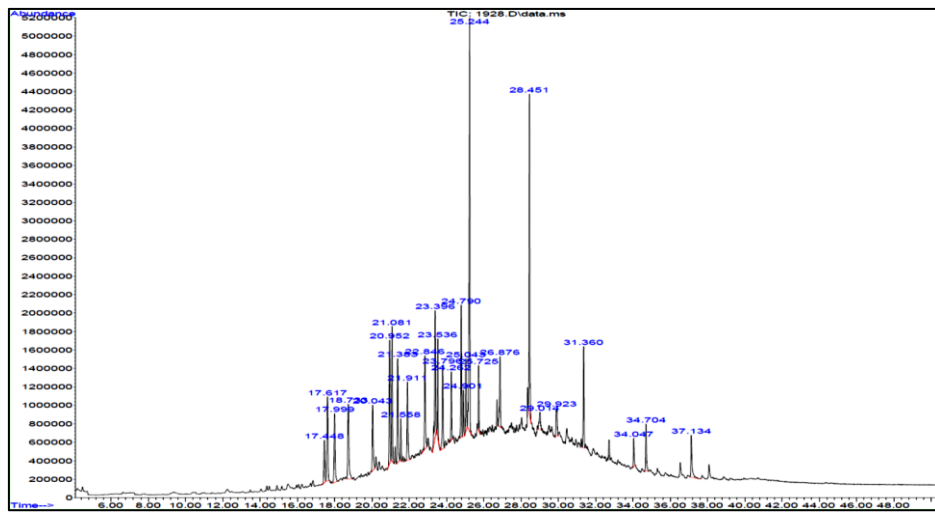
نشان داد که ترکیبات Nonadecane (۱۴/۸۶) و Heneicosane (۱۰/۲۴ درصد) و Tridecane, 6-phenyl- (۵/۴۴ درصد) بیشترین درصد را داشتند.

میکروگراف میکروسکوپ الکترونی روبشی گسیل میدانی FESEM

اندازه نانوذرات نقره بیوسنتز شده با عصاره‌های جلبک در میکروگراف میکروسکوپ الکترونی، بین ۳۰ تا ۷۹ نانومتر متغیر بود. به طوری که نانوذرات نقره بیوسنتز شده با عصاره متانولی ۸۰ درصد دارای اندازه‌هایی بین ۳۰/۹۵ تا ۷۳/۲۳ نانومتر و با عصاره آبی بین ۳۸/۵۸ تا ۷۹/۰۹ نانومتر بودند. همچنین بررسی ریخت‌شناسی نشان داد که شکل نانوذرات عمدتاً کروی بود (شکل ۵).

تایید نانوذرات نقره بیوسنتز شده با روش اسپکتروفتومتری

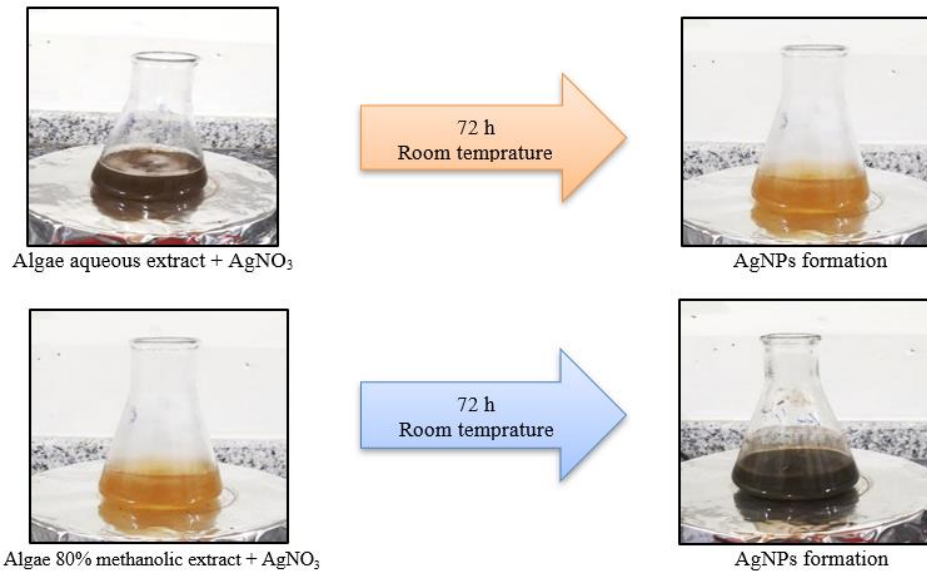
رنگ محلول با افزودن عصاره آبی و متانولی (۸۰ درصد) جلبک به محلول نیترات نقره پس از گذشت ۷۲ ساعت از رنگ زرد به قهوه‌ای تیره تغییر یافت که تغییر رنگ نشان دهنده احیای نیترات نقره و تشکیل نانوذرات نقره در محلول است (شکل ۳). وجود پیک برای نانوذرات نقره بیوسنتز شده با عصاره متانولی (۸۰ درصد) و



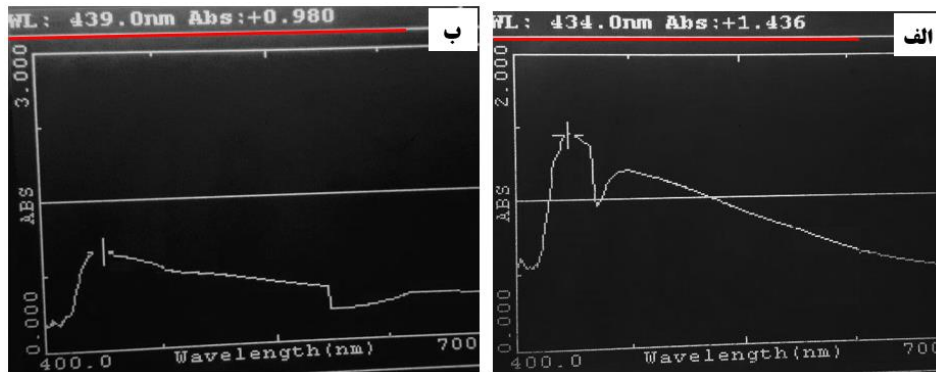
شکل ۲: کروماتوگرام GC-MS عصاره جلبک سبز *Spirogyra* sp.

جدول ۱: ترکیبات موجود در عصاره جلبک سبز *Spirogyra sp.* به دست آمده از طیف‌سنج GC-MS

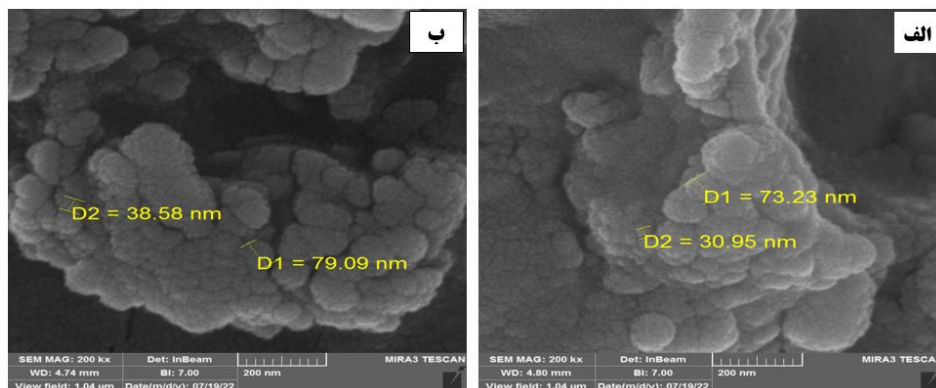
شماره شناسایی	کیفیت	نام ترکیب	ناحیه (%)	زمان بازداری (دقیقه)	شماره
۰۰۴۵۳۷-۱۴-۸	۹۱	Undecane, 6-phenyl-	۱/۹۶	۱۷/۴۴۸	۱
۰۰۴۵۳۷-۱۵-۹	۹۵	Undecane, 5-phenyl-	۴/۱۰	۱۷/۶۶۹	۲
۰۰۴۵۳۶-۸۶-۱	۹۱	Undecane, 4-phenyl-	۳/۴۵	۱۷/۹۹۸	۳
۰۰۴۵۳۶-۸۷-۲	۹۴	3-Phenylundecane	۴/۲۸	۱۸/۷۳۴	۴
۰۰۴۵۳۶-۸۸-۳	۹۵	Benzene, (1-methyldecyl)-	۲/۸۸	۲۰/۰۴۲	۵
۰۰۲۷۱۹-۶۲-۲	۹۶	Benzene, (1-pentylheptyl)-	۴/۶۶	۲۰/۹۵	۶
۰۰۲۷۱۹-۶۳-۳	۹۸	Benzene, (1-butylloctyl)-	۴/۴۱	۲۱/۰۸	۷
۰۰۲۷۱۹-۶۴-۴	۹۸	Benzene, (1-propylnonyl)-	۳/۹۰	۲۱/۳۸۶	۸
۰۰۰۶۲۹-۷۸-۷	۹۷	Heptadecane	۱/۱۹	۲۱/۵۵۷	۹
۰۰۲۴۰۰۰۰-۲	۹۸	Benzene, (1-ethyldecyl)-	۳/۲۳	۲۱/۹۱	۱۰
۰۰۴۵۳۶-۸۸-۳	۷۰	Benzene, (1-methyldecyl)-	۳/۹۶	۲۲/۸۴۴	۱۱
۰۰۴۵۳۴-۴۹-۰	۹۵	Tridecane, 6-phenyl-	۵/۴۴	۲۳/۳۹۴	۱۲
۰۰۴۵۳۴-۵۰-۳	۹۷	Tridecane, 5-phenyl-	۲/۸۴	۲۳/۵۳۴	۱۳
۰۰۴۵۳۴-۵۱-۴	۸۳	Tridecane, 4-phenyl-	۳/۱۳	۲۳/۷۹۹	۱۴
۰۰۴۵۳۴-۵۲-۵	۹۵	Tridecane, 3-phenyl-	۲/۰۶	۲۴/۲۶	۱۵
۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰	۹۹	Z-5-Nonadecene	۴/۰۰	۲۴/۷۹	۱۶
۰۰۰۶۲۹-۹۲-۵	۹۷	Nonadecane	۱/۴۶	۲۴/۸۹۸	۱۷
۰۰۴۵۳۴-۵۳-۶	۹۲	Benzene, (1-methyldodecyl)-	۲/۶۷	۲۵/۰۴۴	۱۸
۰۰۰۶۲۹-۹۲-۵	۹۸	Nonadecane	۱۴/۸۶	۲۵/۲۴۶	۱۹
۰۰۰۱۱۲-۳۹-۰	۹۶	Hexadecanoic acid, methyl ester	۱/۷۴	۲۵/۷۲۴	۲۰
۰۰۰۱۱۲-۹۵-۸	۹۸	Eicosane	۲/۷۴	۲۶/۸۷۵	۲۱
۰۰۰۶۲۹-۹۴-۷	۹۹	Heneicosane	۱۰/۲۴	۲۸/۴۵۳	۲۲
۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰	۹۹	14-.BETA.-H-PREGNA	۱/۰۰	۲۹/۰۱۳	۲۳
۰۰۰۶۲۹-۹۷-۰	۹۶	Docosane	۱/۴۹	۲۹/۹۲۱	۲۴
۰۰۰۶۳۸-۶۷-۵	۹۷	Tricosane	۳/۳۰	۳۱/۳۵۸	۲۵
۰۰۰۱۱۷-۸۱-۷	۹۱	Bis(2-ethylhexyl) phthalate	۱/۷۷	۳۴/۷۰۵	۲۶
۰۰۰۶۰۳-۱۱-۲	۴۳	m-Nitrophthalic acid	۲/۲۳	۳۷/۱۳۳	۲۷



شکل ۳: تغییر رنگ محلول نانوذرات نقره بیوسنتز شده توسط عصاره آبی و متانولی (۸۰ درصد) جلبک سبز *Spirogyra sp.*



شکل ۴: طیف‌سنجی فرابنفش - مرئی نانوذرات نقره بیوسنتز شده با عصاره‌های جلبک سبز *Spirogyra sp.* (الف) عصاره متانولی (۸۰ درصد). (ب) عصاره آبی.



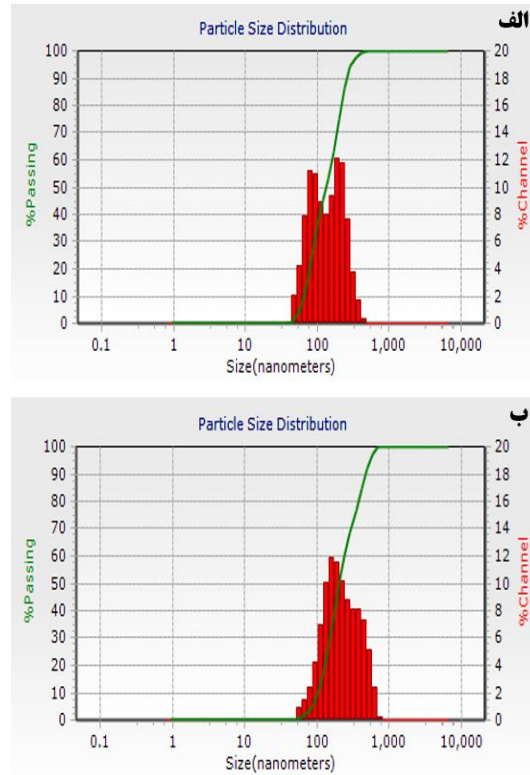
شکل ۵: تصویر میکروسکوپ FESEM از نانوذرات نقره بیوسنتز شده با جلبک سبز *Spirogyra sp.* الف) عصاره متانولی (۸۰ درصد). ب) عصاره آبی.

یافته‌های طیف‌سنج FTIR

وجود پیک‌های جذبی در تجزیه و تحلیل طیف FTIR حضور گروه‌های عاملی از جمله پروتئین‌ها و فنول‌ها را در ساخت نانوذرات نقره نشان می‌دهد، به طوری که پیک جذبی قوی در موقعیت ۳۴۲۶ بر سانتی‌متر نشان دهنده حضور الکل‌ها، فنول‌ها و اسید کربوکسیلیک با گروه آزاد OH است و از آنجا که این ناحیه دارای دو باند است می‌تواند منسوب به نوسانات انبساطی N-H در آمیدها و آمین‌ها باشد. باند ۲۹۳۱ بر سانتی‌متر می‌تواند مربوط به نوسانات کششی آمین‌های نوع دوم (N-H)، آمیدها، یا نوسانات کششی C-H زنجیره‌های هیدروکربنی باشد. همچنین پیک جذبی ۱۶۳۱ بر سانتی‌متر مربوط

اندازه و بار سطحی نانوذرات نقره بیوسنتز شده پروفایل توزیع اندازه نانوذرات بیوسنتز شده در شکل ۶ نشان می‌دهد که میانگین اندازه نانوذرات بیوسنتز شده با عصاره متانولی (۸۰ درصد) جلبک در حدود $102 \pm 2/47$ نانومتر و شاخص پراکندگی آن برابر با $0/72$ و برای عصاره آبی اندازه نانوذرات در حدود $140 \pm 9/18$ نانومتر و شاخص پراکندگی آن برابر با $0/24$ بود. همچنین اندازه بار سطحی نانوذرات نقره بیوسنتز شده با اندازه‌گیری پتانسیل زتا به دست آمد که میانگین آن برای نانوذرات بیوسنتز شده با عصاره متانولی (۸۰ درصد) جلبک حدود $-14/26 \pm 0/55$ میلی‌ولت و برای عصاره آبی جلبک حدود $-62/16 \pm 0/15$ میلی‌ولت بود (جدول ۲).

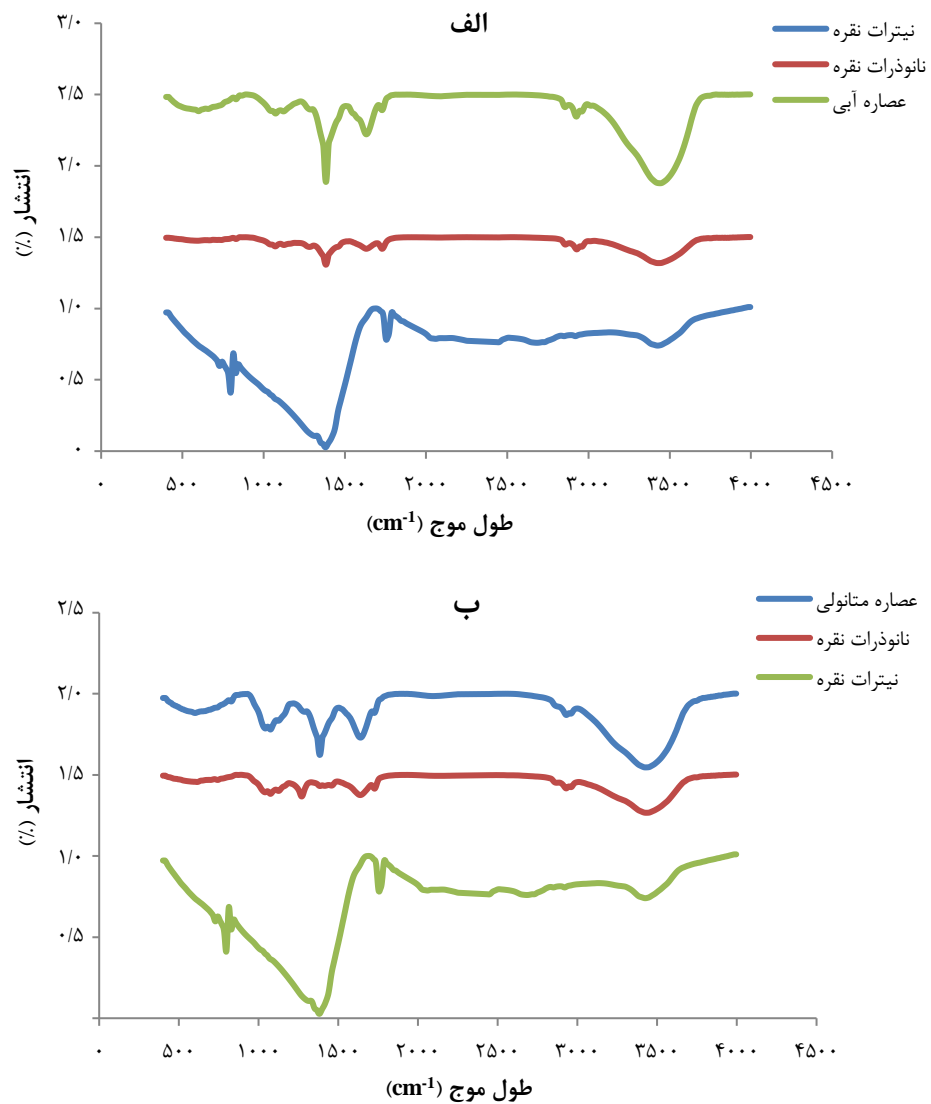
به موقعیت باند امید I ساختار دوم پروتئین‌ها و در عصاره جلبکی است (شکل ۷).
یا نواسانات کششی C-O آمینو اسیدهای موجود



شکل ۶: توزیع اندازه نانوذرات نقره بیوسنتز شده با جلبک سبز *Spirogyra sp.* (الف) عصاره متانولی (۸۰ درصد). (ب) عصاره آبی.

جدول ۲: مشخصات به دست آمده از طیف‌سنجی DLS و پتاسیل زتا نانوذرات نقره بیوسنتز شده با عصاره جلبک سبز *Spirogyra sp.* (میانگین \pm انحراف معیار)

عصاره	قطر هیدرودینامیکی نانوذرات (nm)	شاخص پراکندگی	بار سطحی نانوذرات (mv)
عصاره متانولی (۸۰٪)	$2 \pm 102/47$	۰/۷۲	$-14/0 \pm 26/55$
عصاره آبی	$9 \pm 140/18$	۰/۲۴	$-62/0 \pm 16/15$



شکل ۷: طیف سنج FTIR. الف) نانوذرات نقره بیوسنتز شده با استفاده از عصاره آبی جلبک سبز *Spirogyra sp.*، عصاره آبی و نیترات نقره. ب) نانوذرات نقره بیوسنتز شده با استفاده از عصاره متانولی ۸۰ درصد جلبک سبز *Spirogyra sp.*، عصاره متانولی ۸۰ درصد و نیترات نقره.

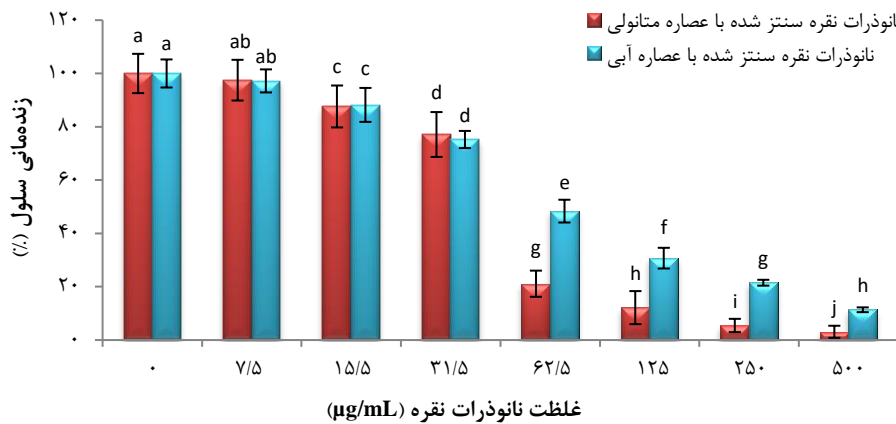
بررسی سمیت سلولی نانوذرات نقره بیوسنتز شده
 تیمار سلول‌های سرطانی با غلظت‌های مختلف ۷/۵، ۱۵/۵، ۳۱/۵، ۶۲/۵، ۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر عصاره جلبک نشان داد که سمیت سلولی نانوذرات نقره بیوسنتز شده توسط هر دو عصاره جلبکی وابسته به غلظت بود و با افزایش غلظت نانوذرات نقره بیوسنتز شده درصد زنده‌مانی سلول کاهش یافت. همچنین اثر سمیت نانوذرات سنتز شده با عصاره متانولی در مقایسه با عصاره آبی در غلظت‌های ۵۰۰، ۲۵۰، ۱۲۵ و ۶۲/۵ میکروگرم در میلی‌لیتر اختلاف معناداری را نشان داد

به طوری که بیشترین اثر کشندگی برای نانوذرات سنتز شده با عصاره متانولی در غلظت ۵۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر به دست آمد (شکل ۸). میزان IC_{50} برای نانوذرات سنتز شده با عصاره متانولی و آبی جلبک به ترتیب ۴۴/۵ و ۶۲/۹۷ میکروگرم در میلی‌لیتر به دست آمد.

بحث

خواص فیزیکوشیمیایی منحصر به فرد که در نانوذرات نقره وجود دارد باعث شده است تا به عنوان یک داروی قوی در نانوپزشکی تثبیت شود. امروزه با توجه به مشکلات عمده‌ای که در

نانوذرات نقره سنتز شده با عصاره متانولی
 نانوذرات نقره سنتز شده با عصاره آبی



شکل ۸: درصد زنده‌مانی سلول‌های سرطان پستان رده MDA-MB-231 در مواجهه با غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره بیوسنتز شده با عصاره آبی و متانولی جلبک سبز *Spirogyra sp.* بعد از ۴۸ ساعت تیمار (میانگین \pm انحراف معیار، $n=3$). حروف متفاوت روی نمودار نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین غلظت‌ها در هر عصاره است ($P < 0.05$).

نقره و رزونانس پلاسمون سطحی خاصیت نقره مشاهده شد. زمانی که یک پرتو نوری به سطح نانوذرات فلزی بتابد، میدان نوسانی موج فرودی، موجب نوسان الکترون‌های رسانش فلز به صورت دسته جمعی می‌شود. این نوسان‌های دسته جمعی الکترون‌های رسانش، پلاسمون سطحی نامیده می‌شوند. پلاسمون سطحی نانوذرات یکنواخت دارای فرکانس شدیدی است که در آن فرکانس بیشترین جذب و پراکندگی را از خود نشان می‌دهد (Willets and Duyn, 2007). در طیف FTIR نانوذرات نقره بیوسنتز شده، پیک ۸۳۰ بر سانتی‌متر و ۱۴۵۷ بر سانتی‌متر وجود اجزای زیستی فعال را روی سطح نانوذرات نقره بیوسنتز شده تایید می‌کند. پیک‌های ۸۳۰ و ۱۴۵۷ بر سانتی‌متر مربوط به حضور پلی‌ساکارید و ارتعاشات ترکیب آروماتیک حاوی زنجیره بلند خطی ساختارهای آلیفاتیک است. پیک جذب N-H و گروه‌های کششی کربونیل موجود در گروه‌های آمیدی به ترتیب در ۱۴۵۷ و ۱۷۳۰ بر سانتی‌متر مشاهده شد که ممکن است به دلیل هیدروکربن‌های متیلن پروتئین‌ها باشد. پیک گسترده در ۳۴۳۲ بر سانتی‌متر می‌تواند به علت پیوند H-O باشد. تشکیل پیک در ۱۶۳۷ بر سانتی‌متر به علت پیوند C=O در گروه کربونیل است. همچنین فقدان پیک

روش‌های شیمیایی و فیزیکی برای تولید نانوذرات وجود دارد، پژوهشگران از روش‌های کم هزینه و سازگار با محیط زیست به نام روش سبز برای ساخت نانوذرات نقره استفاده می‌کنند (Ronavari et al., 2017). بنابراین، در مطالعه حاضر، ارزیابی فعالیت ضدسرطانی نانوذرات نقره بیوسنتز شده با عصاره آبی و متانولی (۸۰ درصد) جلبک سبز *Spirogyra* sp. علیه سلول‌های سرطانی پستان انسان رده MDA-MB-231 انجام شد. مطالعات نشان داده‌اند که بیومولکول‌هایی مانند پروتئین‌ها، فنول‌ها، فلاونوئیدها و برخی از ترکیبات فیتوشیمیایی موجود در گیاهان دریایی قادر به احیای یون‌های فلزی به شکل نانو هستند و همچنین نقش مهمی را در پوشش نانوذرات ساخته شده و پایداری آنها ایفا می‌کنند (Vedpriya, 2010). تغییر رنگ مشاهده شده از رنگ زرد به قهوه‌ای تیره در عصاره جلبک یک نشانه واضح از تشکیل نانوذرات نقره در محلول واکنش بوده، که این تغییر رنگ ناشی از ارتعاشات پلاسمون سطحی در نانوذرات است (Hema et al., 2016). بیشترین جذب برای نانوذرات نقره ساخته شده با عصاره متانولی (۸۰ درصد) در طول موج ۴۳۴ نانومتر و برای عصاره آبی در طول موج ۴۳۹ نانومتر به دلیل کاهش نیترات

نانوذرات نقره بیوسنتز شده با عصاره متانولی (۸۰ درصد) و آبی جلبک به ترتیب ۱۴/۲۶- و ۶۲/۱۶- میلی‌ولت به دست آمد. از آنجایی که چنین سطح پتانسیل منفی بالای نانوذرات نقره سنتز شده بیوژنیک به پایداری بالای تعلیق کلوئیدی آن کمک می‌کند در نتیجه نیروی دافعه کافی ایجاد شده بین نانوذرات باعث جلوگیری از تجمع ذرات می‌شود (Dutta et al., 2020). تشابه تمامی مطالعات درباره این موضوع در این است که نانوذرات نقره می‌توانند به راحتی با استفاده از عصاره گیاهان تولید شوند، اما وجه تمایز آن اندازه نانوذرات نقره سنتز شده است که بسته به محتوای فیتوشیمیایی گیاه می‌تواند متفاوت باشد (Gluga et al., 2014). در واقع عصاره گیاهان مختلف می‌توانند در اندازه نانوذره سنتز شده تاثیرگذار باشند، به طوری که در مطالعه حاضر اندازه نانوذره تولید شده بین ۳۰-۷۹ نانومتر بود ولی مطالعات دیگر اندازه‌های متفاوتی از نانوذرات سنتز شده را گزارش کرده‌اند که این نوع اختلاف در اندازه نانوذرات به ترکیبات فلاوونوئیدی و احیاکنندگی عصاره‌های گیاهی برمی‌گردد. قابل توجه است که عملکرد نانوذرات نقره تحت تاثیر ویژگی‌های مختلف مانند شکل، اندازه، غلظت و همچنین ترکیب شیمیایی آن

گسترده در ۲۰۸۹ بر سانتی‌متر مربوط به حالت پیوند C-O است. در واقع مقایسه دو طیف نانوذرات بیوسنتز شده با طیف عصاره‌ها نشان از فقدان پیک C-O در طیف نانوذرات نسبت به پیک ۱۶۳۷ بر سانتی‌متر نشان می‌دهد تثبیت سیستم ممکن است ناشی از اتصال گروه کربونیل قندهای احیا کننده به نقره باشد (شکل ۷) (Venu et al., 2011).

تصاویر میکروسکوپ FESEM شکل کروی نانوذرات نقره بیوسنتز شده را تایید می‌کنند. همچنین میانگین اندازه آنها حدود ۳۰-۷۹ نانومتر به دست آمد. علاوه بر این، با استفاده از تجزیه و تحلیل DLS قطر هیدرودینامیکی نانوذرات نقره بیوسنتز شده به اندازه ۴۷ نانومتر برای عصاره متانولی (۸۰ درصد) جلبک و ۱۸۲ نانومتر برای عصاره آبی جلبک تعیین شد. تفاوت قابل توجه در اندازه ذرات بین اندازه FESEM و اندازه DLS به این دلیل است که DLS اندازه هیدرودینامیکی را با استفاده از پراکندگی نور در سوسپانسیون آبی فراهم می‌کند که اندازه نانوذرات همراه با لایه‌ای از آب یا مولکول‌های زیستی روی سطح آن اندازه‌گیری می‌شود، در حالی که FESEM اندازه را پس از خشک شدن فراهم می‌کند که تنها به اندازه هسته نانوذرات فلزی بستگی دارد. همچنین بار سطحی

می‌توانند الگوی بیان ژن‌های آپوپتوزی را تغییر دهند (Ghavami et al., 2009). از طرفی نانوذرات با شکل کروی جذب بهتری نسبت به نانوذرات میله‌ای دارند (Baharara et al., 2014). نانوذرات نقره با اختلال در انتقال پیام سلولی، باعث ایجاد اختلال در شبکه ارتباطی سلولی و افزایش بیان DNA می‌شود و در آسیب به مولکول پروتئینی آپوپتوز و به راه انداختن مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی نقش دارند که این امر در درمان سرطان بسیار حائز اهمیت است (Zhang et al., 2016). به علاوه، تاثیرات سمی نقره بر سلول‌های سرطانی می‌تواند به دلیل برهمکنش اتم‌های نقره با گروه‌های عملکردی پروتئین‌ها، همچنین بازهای نیتروژنی و فسفات ملکول DNA باشد. دیگر تاثیر نانوذرات نقره بر سلول‌های سرطانی مهار رشد، از طریق ممانعت از تقسیم سلولی است که نتیجه برهمکنش آنها با ساختار و سازمان اسکلت سلولی اکتینی است (Zhang et al., 2014). بررسی مطالعات پژوهشگران دیگر در سال‌های مختلف درباره روش سبز تولید نانوذرات نقره توسط عصاره جلبک‌های گوناگون و اثر سمیت سلولی آنها بر سلول‌های سرطانی نیز بیان کننده نقش ضدسرطانی این نانوذره و روش سبز سازگار با محیط زیست است که به طور خلاصه به چند

قرار می‌گیرد. هرچه ابعاد نانوذرات نقره کوچکتر باشد، عبور آنها از غشای زیستی سلول آسان‌تر می‌شود و اثرگذاری و قدرت نفوذ در سلول بیشتر می‌شود (Zhang et al., 2018). در مطالعه حاضر، اثرات کشندگی نانوذرات نقره بیوسنتز شده با عصاره جلبک سبز در غلظت‌های مختلف در طی ۴۸ ساعت، به غلظت نانوذرات بستگی داشت، به طوری که با افزایش غلظت میزان زنده‌مانی سلول کاهش یافت. همچنین اثر سمیت نانوذرات نقره بیوسنتز شده با عصاره متانولی در مقایسه با عصاره آبی در غلظت‌های ۱۲۵، ۶۲/۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر بیشتر بود، چرا که اندازه نانوذرات تولید شده با عصاره متانولی در مقایسه با عصاره آبی کوچکتر بود. به طور معمول، شکل و اندازه نانوذرات ارتباط مستقیمی با سمیت سلولی دارد و معمولاً نانوذرات با اندازه کمتر از ۱۰۰ نانومتر دارای سمیت سلولی بیشتری هستند. همچنین، نانوساختارهای با سطح آبدوست کوچکتر از ۱۰۰ نانومتر بیشترین توانایی را برای فرار از سیستم فاگوسیتیک مولکولی دارند (Gluga et al., 2014). همچنین با توجه به اندازه نانوذره، میزان سمیت سلولی آن نیز می‌تواند متفاوت باشد. به طور معمول نانوذرات نقره زیر ۵۰ نانومتر دارای سمیت سلولی بیشتری هستند و

مورد می‌توان اشاره کرد. Acharya و همکاران (۲۰۲۰) نانوذرات نقره را به صورت بیوژنیک با استفاده از عصاره جلبک *Cladophora glomerata* تولید کردند و فعالیت ضدسرطانی آن را در برابر سرطان روده بزرگ در شرایط آزمایشگاهی مورد مطالعه قرار دادند. آنها گزارش دادند که اندازه متوسط نانوذرات نقره ۸-۱۱ نانومتر بود، همچنین سمیت سلولی را برای سلول‌های سرطانی کولون نشان دادند، در حالی که در سلول‌های اپیتلیال کولون انسان حداقل اثرگذاری مشاهده نشد (Acharya et al., 2020). علاوه بر این، همین پژوهشگران در سال ۲۰۲۱ اثر ضدسرطانی نانوذرات نقره تولید شده از جلبک دریایی *Chaetomorpha linum* در برابر سلول سرطانی کولون HCT-116 در شرایط آزمایشگاهی را بررسی کردند. در نتیجه آنها گزارش دادند که نانوذرات نقره بیوسنتز شده یک عامل ضد سرطانی کارآمد است که می‌تواند آپوپتوز را در سلول‌های کولون HCT-116 القا کند (Acharya et al., 2021). El-Deeb و همکاران (۲۰۲۲) بیوسنتز نانوذرات نقره را با استفاده از متابولیت‌های سه گونه جلبک *Microcystis Arthrospira platensis* و *Chlorella vulgaris aeruginosa* ارزیابی اثربخشی آنها را در برابر سرطان سینه، کبد و کولون بررسی کردند. آنها گزارش کردند که نانوذرات نقره سنتز شده کروی شکل بودند و با محدوده اندازه ۹-۱۷ نانومتر تشکیل شدند. همچنین سمیت سلولی وابسته به مقدار مصرف را نشان دادند (El-Deeb et al., 2022). Elgamouz و همکاران (۲۰۲۰) نانوذرات نقره را با استفاده از عصاره جلبک سبز *Noctiluca scintillans* سنتز کردند و نانوذراتی با اندازه متوسط ۱۳/۴ نانومتر، پتانسیل زتای ۰/۰۲ میلی‌ولت و قطبیت منفی با بیشترین جذب در ۴۳۶ نانومتر تولید کردند. تجزیه و تحلیل میکروسکوپ الکترونی عبوری ذرات با اندازه متوسط ۴/۵ نانومتر و با شکل کروی منظم را نشان داد. همچنین باعث کاهش ۵۰ درصدی رشد سلول‌های تومور در آدنوکارسینوم پستان MDA-MB-231 شد (Elgamouz et al., 2020). Jayalakshmi و همکارانش (۲۰۲۱) بر روی روش سبز تولید نانوذرات نقره با عصاره آبی علف دریایی *Syringodium isoetifolium* مطالعاتی انجام دادند و نتایج مطالعه آنها نشان داد که این نانوذرات تولید شده در برابر رده‌های سلولی سرطانی COLO 320 و MCF-7 اثر ضدتکثیری قابل توجهی را داشتند. Hamouda و همکارانش (۲۰۱۹) توضیح دادند که نقش پروتئین‌های خارج سلولی

نانوذرات نقره بیوسنتز شده با کمک سیانوباکتری *Oscillatoria* با اندازه‌ای در محدوده ۵ تا ۳۰ نانومتر، غالباً کروی و دارای فعالیت‌های ضدسرطانی و ضدباکتریایی قابل قبولی بودند که می‌تواند برای درمان سرطان پستان و عفونت‌های ناشی از باکتری‌های بیماری‌زا مورد مطالعه بیشتری قرار گیرند.

در نهایت می‌توان نتیجه گرفت که نانوذرات نقره بیوسنتز شده با واسطه عصاره آبی و متانولی (۸۰ درصد) جلبک سبز *Spirogyra* sp. اثرات سمی بر سرطان پستان MDA-MB-231 دارد که اثر کشندگی آنها بر روی سلول‌ها، بستگی به غلظت دارد. به طوری که بیشترین اثر کشندگی در غلظت ۵۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر برای نانوذرات تولید شده با عصاره متانولی که اندازه کوچکتری نسبت به نانوذرات ساخته شده با عصاره آبی داشتند، به دست آمد. بنابراین با انجام آزمایش‌های تکمیلی و مطالعات *In vivo* و *In vitro* بیشتر درباره نانوذرات نقره تولید شده به روش زیستی، امید است بتوان از آنها در زمینه‌های تشخیص و درمان بیماری‌ها و تحویل دارو در پزشکی استفاده کرد.

جلبک سبز- آبی *Oscillatoria willei* به عنوان یک عامل پوشاننده در تشکیل نانوذرات نقره کروی (۲۰۰-۱۰۰ نانومتر) کاملاً قابل توجه است. پروتئین‌های خارج سلولی جلبک یا پلی‌ساکاریدها می‌توانند به نانوذرات یا از طریق گروه‌های آمین آزاد یا باقی‌مانده سیستئین متصل شوند (Hamouda et al., 2019).

Rahimi و همکاران (۲۰۱۴) پژوهشی را در جهت تولید نانوذرات نقره با استفاده از عصاره آبی سه گونه ماکرو جلبک دریایی *Colpomenia sinuosa* از گروه جلبک‌های قهوه‌ای، *Ulva flexuosa* از گروه جلبک‌های سبز و *Gracilariopsis persica* از دسته جلبک‌های قرمز انجام دادند. در این مطالعه، احیای کامل یون‌های نقره ۲۴ ساعت بعد از واکنش عصاره‌ها و نیترات نقره در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت. نتایج حاکی از این بود که هر سه گونه ماکرو جلبک یاد شده قادر به تولید نانوذرات نقره در محلول حاوی نیترات نقره در دمای اتاق بودند. Ghasemipour و همکاران (۲۰۱۷) گزارش دادند که عصاره سیانوباکتری *Oscillatoria* توانایی موثری برای احیای نمک نقره را داشت.

منابع

- Acharya D., Sagarika S., Jesse J.T., Prathap S. and Gitanjali M. 2020.** Biogenic synthesis of silver nanoparticles using marine algae *Cladophora glomerata* and evaluation of apoptotic effects in human colon cancer cells. *Materials Technology*, 26: 1–12. doi: 10.1080/10667857.2020.1863597
- Acharya D., Satapathy S., Somu P., Parida U.K. and Mishra G. 2021.** Apoptotic effect and anti-cancer activity of biosynthesized silver nanoparticles from marine algae *Chaetomorpha linum* extract against human colon cancer cell HCT-116. *Biological Trace Element Research*, 199(5): 1812–1822. doi: 10.1007/s12011-020-02304-7
- Ravindran A., Chandran P. and Khan S.S. 2013.** Bio functionalized silver nanoparticles: Advances and prospects. *Colloids and Surfaces*, 105: 342–352. doi: 10.1016/j.colsurfb.2012.07.036
- Baharara J., Namvar F., Mousavi M., Ramezani T. and Mohamad R. 2014.** Anti-angiogenesis effect of biogenic silver nanoparticles synthesized using *Saliva officinalis* on chick chorioalantoic membrane. *Molecules*, 19: 13498–13508. doi: 10.3390/molecules190913498
- Barsanti L. and Gualtieri P. 2005.** Algae: Anatomy, Biochemistry, and Biotechnology. *Journal of Phycology*. CRC Press, USA. 362P.
- Dutta T., Chattopadhyay A.P., Ghosh N.N., Khatua S., Acharya K., Kundu S. and Das M. 2020.** Biogenic silver nanoparticle synthesis and stabilization for apoptotic activity; Insights from experimental and theoretical studies. *Chemical Papers*, 74(11): 4089–4101. doi: 10.1007/s11696-020-01216-z
- El-Deeb N.M., Abo-Eleneen M.A., Awad O.A. and, Abo-Shady A.M. 2022.** *Arthrospira platensis* mediated biosynthesis of silver nanoparticles as breast cancer proliferation and differentiation controlling agent: In-vitro and in-vivo safety approach. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 194(5): 2183–2203. doi: 10.1007/s12010-021-03751-1
- Elgamouz A., Idriss H., Nassab C., Bihi A., Bajou K., Hasan K., Abu Haija M. and Patole S.P. 2020.** Green synthesis, characterization, antimicrobial, anti-cancer, and optimization of colorimetric sensing of hydrogen peroxide of algae extract capped silver nanoparticles. *Nanomaterials Journal*, 10(9): 1861–1874. doi: 10.3390/nano10091861
- Fock K.M. 2014.** Review article: The epidemiology and prevention of gastric cancer. *Advances in*

- Pharmacology and Therapeutics Journal, 40: 250–260. doi: 10.1111/apt.12814
- Ghasemipour T., Salehzadeh A. and Sadat Shandiz S. 2017.** Biosynthesis of silver nanoparticles using *Oscillatoria* extract and evaluation the anticancer and antibacterial activities. Armaghan-e-Danesh; 22(4): 459–471.
- Ghavami S., Hashemi M., Ande S.R., Yeganeh B., Xiao W., Eshraghi M., Bus C.J., Kadkhoda K., Wiechec E., Halayko A.J. and Los M. 2009.** Apoptosis and cancer: Mutations within caspase genes. Journal of Medical Genetics, 46(8): 497–510. doi: 10.1136/jmg.2009.066944
- Ghoncheh M., Pournamdar Z. and Salehiniya H. 2016.** Incidence and mortality and epidemiology of breast cancer in the world. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention, 17(S3): 43–46. doi: 10.7314/apjcp.2016.17.s3.43
- Gluga A.R., Skoglund S., Wallinder I.O., Fadeel B. and Karlsson H.L. 2014.** Size-dependent cytotoxicity of silver nanoparticles in human lung cells: The role of cellular uptake, agglomeration and Ag release. Particle and Fibre Toxicology, 11: 1–11. doi: 10.1186/1743-8977-11-11
- Hamouda R.A., Hussein M.H., Abo-Elmagd R.A. and Bawazir S.S. 2019.** Synthesis and biological characterization of silver nanoparticles derived from the cyanobacterium *Oscillatoria limnetica*. Scientific Reports, 9(1): 1–17. doi: 10.1038/s41598-019-49444-y
- He Y., Li X., Wang J., Yang Q., Yao B., Zhao Y., Zhao A., Sun W. and Zhang Q. 2017.** Synthesis, characterization and evaluation cytotoxic activity of silver nanoparticles synthesized by Chinese herbal *Cornus officinalis* via environment friendly approach. Environmental Toxicology and Pharmacology, 56: 56–60. doi: 10.1016/j.etap.2017.08.035
- Hema J.A., Malaka R., Muthukumarasamy N.P., Sambandam A., Subramanian S. and Sevanan M. 2016.** Green synthesis of silver nanoparticles using *Zea mays* and exploration of its biological applications. IET Nanobiotechnology, 10(5): 288–294. doi: 10.1049/iet-nbt.2015.0103
- Jayalakshmi L., Gomathy J., Jayanthi J. and Ragnathan M.G. 2021.** In vitro Anti-oxidant and anti-cancer efficacy of silver nanoparticles synthesized from the sea weed *Syringodium isoetifolium* D. (1939) collected from the Pulicat Lake of Tamil Nadu. Uttar Pradesh Journal of Zoology, 42(12): 54–67.
- Jegadeeswaran P., Shivaraj R. and Venckatesh R. 2012.** Green synthesis of silver nanoparticles

- from extract of *Padina tatrastromatica* leaf. Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures, 7: 991–998.
- Mansuya P., Aruna P., Sridhar S., Kumar J.S. and Babu S. 2010.** Antibacterial activity and qualitative phytochemical analysis of selected seaweeds from Gulf of Mannar Region. Journal of Experimental Sciences, 1(8): 23–26.
- Narayanan K.B. and Sakthivel N. 2011.** Extracellular synthesis of silver nanoparticles using the leaf extract of *Coleus amboinicus* Lour. Materials Research Bulletin, 46(10): 1708–1713. doi: 10.1016/j.materresbull.2011.05.041
- Okafor F., Janen A., Kukhtareva T., Edwards V. and Curley M. 2013.** Green synthesis of silver nanoparticles, their characterization, application and antibacterial activity. International Journal of Environmental Research and Public Health, 10(10): 5221–5238. doi: 10.3390/ijerph10105221
- Rahimi Z., Yousefzadi M., Noori A. and Akbarzadeh A. 2014.** Synthesis of silver nanoparticles using three marine macro algae from the Persian Gulf. Journal of Oceanography, 5(19): 71–78.
- Rajeshkumar S., Sherif M., Malarkodi C., Ponnanikajamideen M., Arasu M.V., Al-Dhabi N.A. and Roopan S.M. 2021.** Cytotoxicity behaviour of response surface model optimized gold nanoparticles by utilizing fucoidan extracted from *Padina tatrastromatica*. Journal of Molecular Structure, 1228: 1–9 (129440). doi: 10.1016/j.molstruc.2020.129440
- Rao N.H., Lakshmidivi N., Pammi S.V.N., Kollu P., Ganapaty S., Lakshmi P. 2016.** Green synthesis of silver nanoparticles using methanolic root extracts of *Diospyros paniculata* and their antimicrobial activities. Materials Science and Engineering, 62: 553–557. doi: 10.1016/j.msec.2016.01.072
- Ronavari A., Kovacs D., Igaz N., Vagvolgyi C., Boros I.M., Konya Z. and Kiricsi M. 2017.** Biological activity of green synthesized silver nanoparticles depends on the applied natural extracts: A comprehensive study. International Journal of Nanomedicine, 12: 871–883. doi: 10.2147/IJN.S122842
- Senapati S., Syde A., Moez S., Kumar A. and Ahmah A. 2012.** Intracellular synthesis of gold nanoparticles using alga *Tetraselmis kochinensis*. Materials Letters Journal, 79: 116–118. doi: 10.1016/j.matlet.2012.04.009
- Singaravelu G., Arockiamary J.S., Ganesh Kumar V. and Govindaraju K. 2007.** A novel extracellular synthesis of monodisperse gold nanoparticles using marine alga, *Sargassum*

- wightii* Greville. *Colloids and Surfaces*, 57: 97–101. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2007.01.010
- Sorlie T. 2016.** The impact of gene expression patterns in breast cancer. *Clinical Chemistry Journal*, 62(8): 1150–1161. doi: 10.1373/clinchem.2015.253229
- Vedpriya A. 2010.** Living systems: Eco-friendly nanofactories. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 5: 9–21.
- Venu R., Ramulu T.S., Anandakumar S., Rani V.S. and Kim C.G. 2011.** Bio-directed synthesis of platinum nanoparticles using aqueous honey solutions and their catalytic applications. *Colloids and Surfaces*, 384(1-3): 733–738. doi: 10.1016/j.colsurfa.2011.05.045
- Verma D.K., Hasan S.H. and Banik R.M. 2016.** Photo-catalyzed and phyto-mediated rapid green synthesis of silver nanoparticles using herbal extract of *Salvinia molesta* and its antimicrobial efficacy. *Journal of Photochemistry and Photobiology*, 155: 51–90. doi: 10.1016/j.jphotobiol.2015.12.008
- Willets K.A. and Duyne V. 2007.** Localized surface plasmon resonance spectroscopy and sensing. *Annual Review of Physical Chemistry*, 58: 267–297. doi: 10.1146/annurev.physchem.58.032806.104607
- Zhang T., Wang L., Chen Q. and Chen C. 2014.** Cytotoxic potential of silver nanoparticles. *Yonsei Medical Journal*, 55(2): 283–291. doi: 10.3349/ymj.2014.55.2.283
- Zhang W., Xiao B. and Fang T. 2018.** Chemical transformation of silver nanoparticles in aquatic environments: Mechanism, morphology and toxicity. *Chemosphere Journal*, 191: 324–334. doi: 10.1016/j.chemosphere.2017.10.016
- Zhang X.F., Liu Z.G., Shen W. and Gurunathan S. 2016.** Silver nanoparticles: Synthesis, characterization, properties, applications, and therapeutic approaches. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(9): 1–13. doi: 10.3390/ijms17091534



Research Paper

Evaluation of anti-cancer effect of biosynthetic silver nanoparticles by *Spirogyra* sp. green algae extract on MDA-MB-231 breast cancer cell line

Faryal Mazraavi¹, Fatemeh Moradi², Mahmoud Reza Aghamaali^{3*}

DOI: 10.22124/japb.2023.23586.1489

Received: January 2022

Accepted: March 2022

Abstract

Today, green synthesis by using plant extracts to produce nanoparticles has attracted a lot of attention, because of fast reaction, economy and compatibility with the environment. Therefore, in the present study, the anticancer effect of biosynthesized silver nanoparticles with aqueous and methanolic (80%) extracts of green algae *Spirogyra* sp. was investigated on MDA-MB-231 human breast cancer cells. The GC-MS spectrometer chromatogram of the extract of this alga showed that Nonadecane (14.86%), Heneicosane (10.24%) and Tridecane, 6-phenyl (5.44%) have the highest percentage. Silver nanoparticles were synthesized by adding aqueous and methanolic extracts of algae to silver nitrate and their physical and chemical properties were determined by UV/Vis spectrophotometry, FTIR, DLS, Zeta potential and FESEM electron microscope. Also, the cellular toxicity of silver nanoparticles at different concentrations was investigated using the MTT method on cancer cells. The results showed that the synthesized silver nanoparticles had maximum absorption at the wavelength of 434nm and an average size of 30 to 79 nm with a spherical morphology. Cytotoxicity of biosynthetic silver nanoparticles against cancer cells has increased with increasing concentration. As a result, biosynthesized silver nanoparticles had anti-cancer activity and can be further studied for the treatment of breast cancer.

Key words: *Silver Nanoparticles, Cancer, Green Synthesis, Spirogyra, MTT.*

1- M.Sc. Student in Biochemistry, Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran.

2- Ph.D. in Biochemistry, Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran.

3- Associate Professor in Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran.

*Corresponding Author: aghamaali@guilan.ac.ir

