



Biosynthesis of silver nanoparticles using aqueous extract of *Nasturtium officinale* and investigating the apoptotic effect on breast cancer cells (MCF-7)

Simin Tajik Esmaeili

Department of Plant Sciences, Faculty of Biological Sciences , Kharazmi University, Tehran, Iran

Aim and Background: The effect of silver nanoparticles on inhibiting cancer cells has been determined. One of the ways to optimize nanoparticles is their biosynthesis using plant extract, which can affect their efficiency and anti-cancer effect. The present study was conducted with the aim of evaluating the biosynthesis of silver nanoparticles using *Nasturtium officinale* seed extract and its effect on MCF-7 cell line.

Materials and methods: The biosynthesis of silver nanoparticles was performed using the aqueous extract of Cheshme grass. The compounds in Cheshmeh grass were investigated with the help of gas chromatography-mass spectrometry. The parameters affecting biosynthesis of nanoparticles, including pH and reaction temperature, were investigated and optimized by ultraviolet-visible spectroscopy technique. The effect of synthesized nanoparticles on MCF-7 cells was evaluated by measuring cell death and apoptosis by MTT and Annexin V/PI test.

Results: The plasmogen resonance absorption band of silver nanoparticles were confirmed. The most composition of Cheshme grass plant was related to benzyl isothiocyanate, phenyl ethyl isothiocyanate, and glucosinolate respectively. The optimal pH for the production of silver nanoparticles was 10, and the nanoparticle biosynthesis was improved by increasing the pH. Also, increasing the temperature up to 65 degrees had a positive effect on biosynthesis and the initial rate of nanoparticle formation. Based on the MTT assay, cell proliferation was significantly inhibited in a concentration-dependent manner. Also, based on the findings of the flow cytometry of apoptosis toxicity induced in MCF-7 cells at a concentration of 32 µg/ml, apoptosis was observed at about 72.2%.

Conclusion: The aqueous extract of Chashmeh grass can be effectively used as a source of reducing and stabilizing agents for the synthesis of silver nanoparticles, and nanoparticles biosynthesized with plant extract can effectively prevent the growth of cancer cells, as an anticancer drug. be used

Keywords: silver nanoparticles, *Nasturtium officinale*, apoptosis, cancer cells, Iau Science

Corresponding author:

Department of Plant Sciences, Faculty of Biological Sciences , Kharazmi University, Tehran, Iran

Email: S.tajikesmaeili@khu.ac.ir



برای مشاهده این مقاله به صورت آنلاین اسکن کنید

بیوسنتز نانوذرات نقره با استفاده از عصاره آبی گیاه علف چشمه (*Nasturtium officinale*) و بررسی تاثیر آپاپتوتیک بر سلول های سرطان سینه (MCF-7)

سیمین تاجیک اسمعیلی

گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران

چکیده

مقدمه: تاثیر نانوذرات نقره بر روی مهار سلول های سرطانی مشخص شده است. یکی از راهکارهای بهینه سازی نانوذرات بیوسنتز آن ها با استفاده از عصاره گیاهی است که می تواند بر بازدهی و تاثیر ضد سرطانی آن ها تاثیر گذار باشد. مطالعه حاضر با هدف ارزیابی بیوسنتز نانوذرات نقره با استفاده از عصاره بذر گیاه علف چشمه (*Nasturtium officinale*) و تاثیر آن بر رده سلولی MCF-7 انجام شد.

مواد و روش ها: بیوسنتز نانوذرات نقره با استفاده از عصاره آبی گیاه علف چشمه انجام شد. ترکیبات موجود در گیاه علف چشمه با کمک کروماتوگرافی گازی- طیف سنجی جرمی بررسی شد. پارامترهای موثر بر بیوسنتز نانوذرات شامل pH و دما و اکشن توسط تکنیک اسپکتروسکوپی فرابنفش- مرئی بررسی و بهینه سازی شدند. تاثیر نانوذرات سنتز شده بر سلول های MCF-7 با کمک اندازه گیری مرگ سلولی و آپوپتوز توسط آزمون MTT و Annexin V/PI بررسی شد.

یافته ها: باند جذب تشدید پلاسماژن نانوذرات نقره تایید شد. بیشترین ترکیب گیاه علف چشمه به ترتیب مربوط به benzyl glucosinolate, phenyl ethyl isothiocyanate, isothiocyanate بود. pH بهینه برای تولید نانوذرات نقره ۱۰ بود و با افزایش pH بیوسنتز نانوذره بهبود یافته بود. همچنین افزایش دما تا ۶۵ درجه بر روی بیوسنتز و سرعت اولیه تشکیل نانوذرات تاثیر مثبت داشت. بر اساس سنجش MTT، تکثیر سلولی به شکلی وابسته به غلظت به طور قابل توجهی مهار شد. همچنین بر اساس یافته ها فلوسایتومتری سمیت آپوپتوز القا شده در سلول های MCF-7 در غلظت ۳۲ میکروگرم در میلی لیتر آپوپتوز در حدود ۷۲/۲٪ مشاهده شد.

نتیجه گیری: عصاره آبی علف چشمه می تواند به طور موثر به عنوان منبعی از عوامل کاهنده و تثبیت کننده برای سنتز نانوذرات نقره استفاده شوند و نانوذرات بیوسنتز شده با عصاره گیاهی می تواند بصورت موثر بر پیشگیری از رشد سلول های سرطانی، به عنوان داروی ضد سرطانی مورد استفاده قرار گیرد.

واژگان کلیدی: نانوذرات نقره، *Nasturtium officinale*، آپوپتوز، سلول های سرطانی، Iau Science

مقدمه

در فناوری نانو رویکرد های مختلف در زمینه تحقیق و توسعه

نویسنده مسئول:

گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران،
ایران

پست الکترونیکی: S.tajikesmaeili@khu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۵/۲۴

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۶/۲۱

فناوری ذراتی با اندازه های بسیار کوچک ارزیابی و در مقیاس های اتمی ساخته و دست ورزی می شوند (۱،۲). سنتز نانوذرات با کمک روش های مختلف انجام می شود از این میان مطالعات نشان می دهد که گیاهان دارویی در سنتز نانوذرات می توانند جایگزین ترکیبات شیمیایی شوند (۳). عصاره های گیاهی حاوی ترکیباتی هستند که در فرآیند سنتز نانوذرات به عنوان کاهنده یون فلزی عمل می کنند (۲،۴). این

آن‌ها با استفاده از عصاره گیاهی است (۴،۵). با توجه اهمیت نانوذرات نقره در صنعت و پزشکی و همچنین خواص کاهندگی بالای گیاه علف چشمه و علاوه بر اینکه تاکنون از علف چشمه در بیوسنتز نانوذرات نقره استفاده نشده است مطالعه حاضر با هدف ارزیابی بیوسنتز نانوذرات نقره با استفاده از عصاره بذر گیاه علف چشمه بر رده سلول‌های سرطان سینه انجام شد.

مواد و روش‌ها

تهیه و ارزیابی عصاره علف چشمه: پس از تهیه گیاه از ارتفاعات استان البرز (طول جغرافیایی: ۳۰۶۵۵۲/ ۵۱ شرقی، عرض جغرافیایی: ۳۶/۰۶۸۷۰۵ شمالی، ارتفاع: ۲۰۴۹ متر) پسماندها و سایر محتویات آلی آلوده، متعاقباً با آب مقطر شسته شدند قسمت‌های هوایی گیاه در سایه و در دمای اتاق به مدت ۱۴ روز در هوا خشک شدند. نمونه گیاه خشک شده با آسیاب برقی پودر شد و ۱۰۰ گرم پودر در ۵۰۰ میلی لیتر آب مقطر موجود در بطری ۱ لیتری وزن شده و در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد به مدت ۱ ساعت حرارت داده شد. پس از آن، مخلوط از طریق کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صاف شد به این ترتیب عصاره آبی گیاه تهیه شد. عصاره تغلیظ شده تا زمان مصرف در فریزر ۱۸- درجه سانتیگراد نگهداری شد. سنجش ترکیبات موجود در عصاره آبی با استفاده از کروماتوگرافی گازی- طیف سنجی جرمی (-HP 6890 مجهز به ¹HP 5973 MSD) طبق پروتکل انجام شد (۲۴). به طور خلاصه پس از تنظیم شرایط دستگاه کروماتوگرافی عصاره به همراه هگزان به ستون تزریق شد. طیف جرمی در ولتاژ ۷۰ ولت قرار داده شد. درصد ترکیبات موجود اندازه‌گیری شد. (۲۵)

سنتز نانوذرات نقره توسط گیاه علف چشمه: به طور خلاصه برای این منظور ۸ میلی لیتر محلول نیترات نقره دو میلی مولار به ۴ میلی لیتر عصاره محلول در دمای اتاق اضافه شد. مخلوط به طور مداوم به مدت ۱ ساعت در دمای محیط و در یک محفظه تاریک هم زده شد. عمل کاهیدگی یون‌ها به سرعت انجام و رنگ محلول از زرد کمرنگ به قهوه ای تیره تغییر و پایدار باقی ماند که نشان دهنده تشکیل نانوذرات نقره بوده است.

خاصیت کاهیدگی به دلیل وجود ترکیبات فعال زیستی و آنتی اکسیدانی همچون فلاونوئیدها، فنول‌ها در عصاره و اسانس است. به همین دلیل عصاره گیاهی می‌تواند در بیوسنتز نانوذرات نقره مورد استفاده قرار بگیرد (۴،۵). گیاه *Nasturtium officinale* بومی مناطق اروپا و آسیای مرکزی است و اغلب در کنار جویبارها و مسیر جریان آب می‌روید (۶،۷). گونه‌های بومی این گیاه در استان مازندران، لرستان، زنجان و کرمانشاه مشاهده شده است (۸،۹،۱۰). این گیاه به خاطر این خاصیت‌های دارویی و هم مزه تند خوش‌گوار آن مورد علاقه بسیاری بوده است (۱۱). علف چشمه یا آب تره به دلیل داشتن ترکیبات فلاونوئیدی و ویتامین‌های مختلف B، C و A به عنوان گیاه بسیار پر خاصیت شناخته می‌شود. همچنین با داشتن آنتی اکسیدانی قوی همچون ایزوتیوسیانات در کاهش التهاب مفاصل، رباط‌ها و ماهیچه‌ها بسیار موثر است و می‌تواند به بهبود آرتروز و درد مفاصل کمک کند (۱۲). خواص ضد میکروبی، ضد سرطانی و آنتی اکسیدانی نانوذرات نقره در چندین مطالعه اثبات شده است (۱۳،۱۴). نانوذرات نقره در صنعت غذا و دارو بسیار پر کاربرد هستند و تحقیقات جدید نشان می‌دهد با توجه به خواص نانوذرات نقره بیوسنتز و تولید آن باید مورد توجه قرار بگیرد (۱۵). بیوسنتز نانوذرات نقره با استفاده از گیاهان در چندین مطالعه تایید شده است (۱۶ و ۱۷ و ۱۹) طی این تحقیقات بیوسنتز نانوذرات نقره با استفاده از بذر لوبیای چشم بلبلی (۱۶)، عصاره گیاه *Stevia rebaudiana*، عصاره ریشه گیاه *Erythrina indica*، برگ گیاه *Oedera genistifolia* و عصاره زغال اخته و ضایعات توت قرمز نتایج مثبتی به همراه داشته است (۱۷، ۱۸، ۱۹، ۲۰). مهمترین خاصیت نانوذرات درمان سرطان در سراسر جهان شناخته شد که ۷۰ درصد آن‌ها کشورهای با درآمد کم و متوسط بودند (۲۱). درمان با نانوذرات بسیاری از محدودیت‌های شیمی درمانی سنتی را تا حدی دور می‌زند و به عنوان ابزاری ارزشمند در اثر بخشی درمان سرطان عمل می‌نماید. نانوذرات به دلیل ساختار بیولوژیکی مناسب و خاصیت حل شونده‌گی به شکل موثری بر روی سلول‌های سرطانی تاثیر می‌گذارد و سمیت وابسته به دوز عوامل شیمی‌درمانی را به حداقل می‌رسانند. (۲۲، ۲۳). سنتز مناسب نانوذرات بر عملکرد دارویی آن‌ها تاثیر گذار است و یکی از راهکارهای بهینه‌سازی نانوذرات بیوسنتز

¹ Mass Selective Detector

تعیین ویژگی نانوذرات:

به منظور تایید سنتز نانوذرات و کاهیدگی توسط دستگاه اسپکتروفتومتر مرئی (Perkin-Elmer Lambda 25, Boston, MA, USA) بین ۳۰۰ تا ۷۵۰ نانومتر طیف گیری شد. لازم به ذکر است به منظور سنتز نانوذرات نقره، در تمامی مراحل آزمایش از نمک نیرات نقره ۹۹٪ (شرکت Merck) و آب دیونیزه استفاده شد. بعد از تایید سنتز نانوذرات نقره توسط گیاه علف چشمه پارامترهای موثر (pH و دما) در سنتز نانوذرات بررسی شد (۲۶).

بررسی بهینه سازی مقدار pH و دما:

به منظور بهینه سازی pH ۸ میلی لیتر محلول نقره نیترات دو میلی مولار به ۴ میلی لیتر عصاره محلول در pH های مختلف مورد بررسی قرار گرفت. برای تنظیم pH از محلول بازی سدیم هیدروکسید و محلول اسیدی هیدروکلریک اسید استفاده شد. میزان جذب نوری نانوذرات سنتز شده (در محدوده ۲۰۰ تا ۸۰۰ نانومتر) در pH های ۵، ۶، ۷، ۸، ۹، ۱۰، ۱۱، ۱۲ در رابطه با دما نیز میزان جذب محلول مورد نظر در دماهای ۲۵، ۳۵، ۴۵، ۵۵ و ۶۵ مختلف مورد بررسی قرار گرفت.

بررسی تاثیر نانوذره بر رده ی سلول سرطانی:

معرفها و رده های سلولی مواد شیمیایی، آنزیم های محدود کننده (شرکت سیناکلون، تهران، ایران) به دست آمدند. رده های سلولی سرطان سینه (MCF-7) از بانک سلولی موسسه انستیتو پاستور ایران، تهران سفارش داده شد. سلول ها در محیط کشت اصلاح شده (Thermo Fisher, Dulbecco Waltham, USA) همراه با سرم جنین گاو ۱۰٪، ۲ میلی مولار آل-گلوتامین، ۱۰۰ میکرومولار پنی سیلین و ۱۰۰ میلی گرم در میلی لیتر استرپتوسین، ۵٪ CO₂ و دمای ۳۷ درجه سلیسوسکشت داده شدند.

آزمون سنجش MTT:

برای ارزیابی فعالیت بازدارنده نانوذرات نقره سنتز شده، رده سلولی سرطانی در ابتدا در صفحات مسطح ۹۶ چاهی با تراکم ۱۰^۴ سلول در ۱۰۰ میکرولیتر کشت داده و به مدت یک شب گرمخانه گذاری شدند. سپس غلظت های مختلف نانوذرات نقره به چاهک ها اضافه شد و به مدت ۴۸ ساعت گرمخانه گذاری شد و سلول ها تحت تاثیر تیمارهای مختلف قرار گرفتند. ۲۰ میکرولیتر محلول MTT در هر چاهک (۵ میلی گرم در میلی لیتر) به هر چاهک اضافه شد و به مدت ۴ ساعت

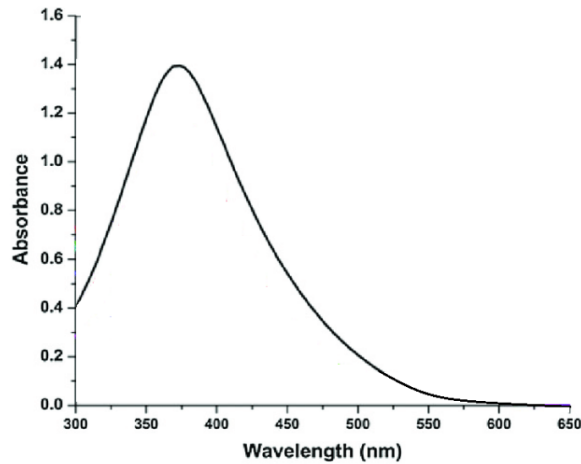
دیگر در دمای ۳۷ درجه سلیسوسگرمخانه گذاری شد. سپس، ۲۰۰ میکرولیتر DMSO به هر چاهک اضافه شد همزده شدند. ارزیابی رنگ سنجی زنده ماندن سلول در طول موج ۵۷۰ نانومتر و طول موج مرجع ۶۵۰ نانومتر توسط دستگاه جذب نوری انجام شد (۲۷).

ارزیابی مرگ سلولی:

توانایی نانوذرات نقره سنتز شده در القای مرگ سلولی در شرایط آزمایشگاهی مورد ارزیابی قرار گرفت. پس از قرار گرفتن سلول ها تحت نانوذرات به مدت ۲۴ ساعت، سلول ها با استفاده از کیت تشخیص آپوپتوز انکسین-V فلورسین ایزوتیوسیانات (FITC) یدید پروپیدیوم (PI Biolegend)، (San Diego)، جمع آوری و شناسایی شدند. طبق دستورالعمل شرکت سازنده، سلول ها با تراکم ۱ × ۱۰^۶ سلول در میلی لیتر، در معرض نانوذرات نقره در سالیین بافر فسفات (PBS) شسته شده و با سانتی فیوژ (۲۰۰۰ دور در دقیقه، ۶ دقیقه) بازیابی شدند و در ۱۰۰ میکرولیتر بافر فسفات مخلوط شدند. سپس سلول ها با Annexin V-FITC و PI به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق در تاریکی گرمخانه گذاری شدند. در نهایت، سلول ها بر روی فلوسیتومتر Beckman FC-500 (Beckman Coulter, Pasadena, CA, USA) در عرض ۱ ساعت جمع آوری و با کمک نرم افزار Beckman CXP مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند (۲۸).

یافته ها

بررسی سنتز نانوذرات نقره و مطالعات طیفی uv-vis:
کاهیدگی یون نقره توسط ویژگی های بصری و همچنین طیف مرئی-فرابنفش پیگیری شد. جذب نور در سطح نقره در طول موج خاص نشان دهنده برانگیختگی دسته جمعی الکترون-های آزاد در ذرات ریز است. غلظت نانوذرات با شدت نور رابطه مستقیم دارد به همین دلیل همانطور که شدت پیک جذبی افزایش می یابد به غلظت نانوذرات نقره افزوده می شود. با کاهش شدت پیک توزیع اندازه یکنواخت می شود و میانگین قطر نانوذرات کمتر می شود (۲۹) در بررسی حاضر در ابتدا سنتز نانوذرات نقره با کاهیدگی یون نقره با تغییر رنگ نمونه از زرد کم رنگ به قهوه ای پررنگ (با چشم غیر مسلح) به روشنی قابل تشخیص بود. طبق نمودار ۱ جذب نوری حاصل با اسپکتروفتومتری فرابنفش - مرئی در طول موج ۱ نانومتر قابل مشاهده است که نشان دهنده تایید باند جذب تشدید پلاسمون نانوذرات نقره بوده است.

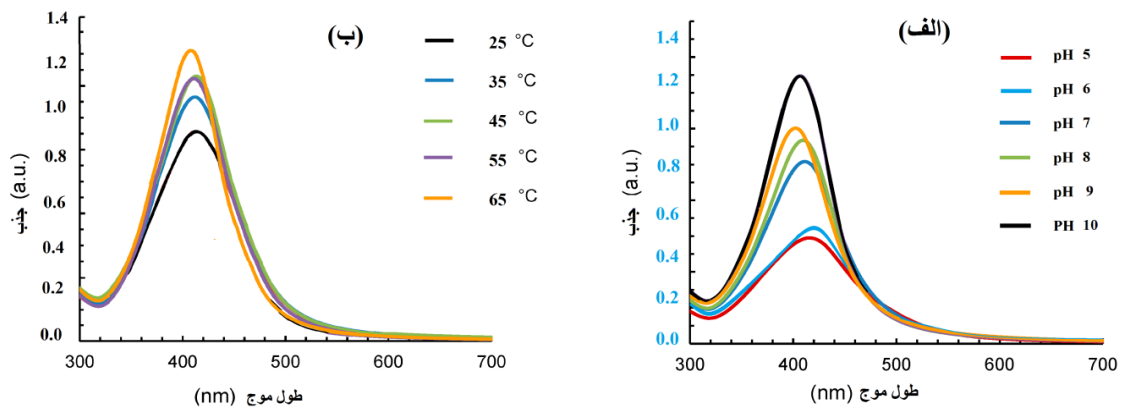


شکل ۱ جذب نانوذرات نقره سنتز شده با کمک طیف اسپکتروفوتومتری طیف فرابنفش مرئی بررسی شد. جذب نوری نشان دهنده باند جذب ۳۹۸ نانومتر با ماکزیمم جذب ۱,۳۸ آنگستروم نشان دهنده باند جذب برای نانوذرات نقره است.

بررسی تاثیر pH و دما بر بیوسنتز نانوذرات

نمودار ۲ الف نشان می دهد که نانوذرات سنتز شده در محدوده وسیعی از pH پایدار هستند. تغییرات طیفی را می توان به کاهش اندازه نانوذرات فلزی نسبت داد، که شرایط قلبایی منجر به اندازه کوچکتر نانوذرات نقره سنتز شده شده است. نوار تیز و باریک جذب تشدید پلاسموژن مشاهده شده در pH مختلف نشان داد که نانوذرات نقره با اندازه کوچک تشکیل می شوند. شدت این باند و سرعت اولیه تشکیل نانوذرات تا pH ۱۰ افزایش یافت. طبق نمودار ۲ ب طیف جذبی در دماهای مختلف تغییرات کمتری نسبت به pH

داشت و نانوذرات سنتز شده در محدوده وسیعی از دماها پایدار هستند. تغییر دما از ۲۰ به ۶۰ درجه سانتیگراد تأثیر جزئی بر موقعیت باند جذب تشدید پلاسموژن داشت. تغییرات طیفی کوچک هم به دلیل کاهش اندازه نانوذرات فلزی تحت تأثیر دما نسبت رخ داده بود، که شرایط دمای بالاتر منجر به اندازه کوچکتر نانوذرات نقره سنتز شده شده است. دمای ۴۵ و ۵۵ درجه (سبز و بنفش) تا حدود بسیار زیادی مشابه بودند اما دمای ۶۵ درجه سرعت اولیه تشکیل نانوذرات افزایش یافت. نوار نارنجی جذب تشدید پلاسموژن مشاهده شده در دمای بالا نشان می دهد که نانوذرات نقره با اندازه کوچک تشکیل می شوند.



شکل ۲. اثر فاکتورهای موثر بر باند جذب تشدید پلاسموژن برای نانوذرات نقره از عصاره آبی علف چشمه الف) اثر pH. ب) اثر دما

ارزیابی ترکیبات علف چشمه

یافته‌های کروماتوگرافی گازی- طیف سنجی جرمی بر روی عصاره آبی نشان داد که بیشترین ترکیب به ترتیب مربوط به

phenyl ethyl .benzyl isothiocyanate
Glucosinolate isothiocyanate بود. زمان بازداری،
اندیس کواتس استاندارد و درصد ترکیب به تفکیک در
جدول ۱ ارائه شده است.

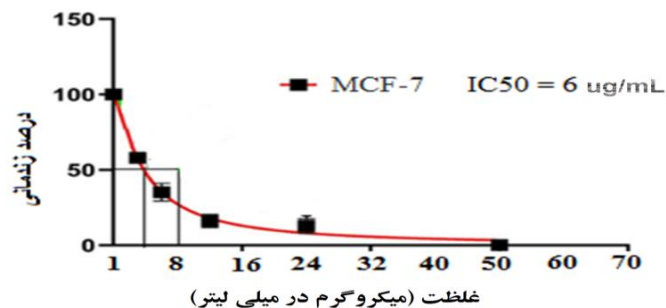
جدول ۱ نتایج مربوط به کروماتوگرافی گازی- طیف سنجی جرمی عصاره آبی

| نام ترکیب | زمان بازداری (دقیقه) | اندیس کواتس استاندارد | درصد ترکیب |
|-----------------------------|-------------------------|--------------------------|------------|
| α -Terpinene | ۲۸/۱۹ | ۸۹۵ | ۰/۵۵ |
| Hexadecanoic acid | ۴۵/۸۷ | ۸۹۹ | ۰/۴۳ |
| Glucosinolate | ۴۲/۶۳ | ۹۴۲ | ۱۶/۶۹ |
| phenyl ethyl glucosinolate | ۴۶/۴۳ | ۹۸۴ | ۱۴/۱۷ |
| Glucobrassicin | ۴۷/۰۵ | ۱۰۰۲ | ۱۱/۴۱ |
| Heptacozan | ۵۵/۱۱ | ۱۰۱۱ | ۳/۷۳ |
| Ascorbic acid | ۶۰/۷۸ | ۱۰۵۶ | ۰/۵۶ |
| β -Carotene | ۵۲/۵۳ | ۱۰۸۷ | ۱/۹۱ |
| cis-Linalool oxide | ۸۷/۶۲ | ۱۰۹۲ | ۰/۶۴ |
| phenyl ethyl isothiocyanate | ۴۲/۸۰ | ۱۱۳۲ | ۱۸/۴۲ |
| β -Eudesmol | ۲۷/۷۶ | ۱۱۳۹ | ۰/۳۹ |
| Camphor | ۴۷/۱۹ | ۱۱۴۷ | ۰/۳۶ |
| Borneol | ۳۵/۸۹ | ۱۱۸۲ | ۰/۴۲ |
| Terpinen-4-ol | ۷۸/۰۷ | ۱۲۰۷ | ۰/۳۷ |
| α -Terpineol | ۷۲/۴۳ | ۱۲۵۸ | ۰/۷۹ |
| benzyl isothiocyanate | ۴۱/۱۹ | ۱۲۹۲ | ۲۳/۶۳ |
| 4-methoxy glucobrassicin | ۳۹/۶۳ | ۱۳۶۴ | ۲/۹۱ |
| Geranial | ۳۵/۸۲ | ۱۴۰۶ | ۰/۵۵ |
| 6-O-hydrocinnamoyl-bis | ۵۷/۱۹ | ۱۵۳۷ | ۰/۷۸ |
| β -Caryophyllene | ۳۳/۸۷ | ۱۶۱۴ | ۰/۳۲ |
| مجموع | | | ۹۸/۱۴ |

نتایج سمیت نانوذرات نقره با روش سنجش MTT

سنجش تکثیر سلولی و فعالیت سرکوب‌کننده رشد نانوذرات در غلظت‌های مناسب با استفاده از سنجش زنده‌مانی سلول‌های MTT مشخص شد. همانطور که در شکل ۳ نشان داده شده است، تکثیر سلولی به شکلی وابسته به غلظت پس

از ۴۸ ساعت درمان با نانوذرات به طور قابل توجهی مهار شد. همانطور که مشخص است مقایسه غلظت‌های مختلف نشان داد، فعالیت ضد تکثیر نانوذرات نقره در غلظت‌های بیشتر به وضوح در سلول‌های MCF-7 قوی تر بود. IC50 برابر با ۶ میکروگرم بر میلی لیتر محاسبه شد.

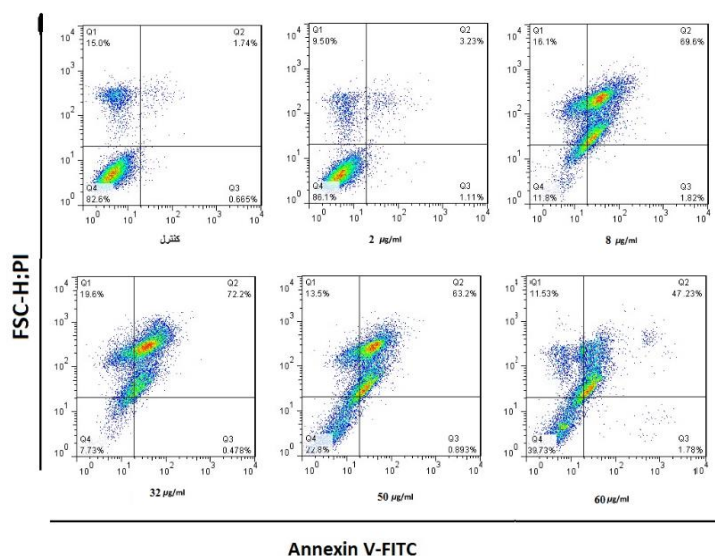


شکل ۳. قدرت القای مرگ سلولی توسط نانوذرات بر روی رده سلول‌های سرطان سینه. غلظت‌های مختلف نانوذرات به مدت ۴۸ ساعت انکوبه شدند و سپس آنالیز MTT برای ارزیابی زنده‌مانی سلول انجام شد. اندازه گیری IC50 به کمک منحنی غلظت صورت پذیرفت.

نتایج سنجش مرگ سلولی آپوپتوز

با بررسی بیشتر فعالیت‌های ضد تومور و سیتوتوکسیک نانوذرات نقره سنتز شده، توانایی ایجاد مرگ سلولی آپوپتوز در رده‌های سلولی سرطان سینه بررسی شد. سلول‌ها با یا بدون نانوذرات در غلظت‌های مختلف به مدت ۴۸ ساعت گرم-خانه گذاری شدند و تحت رنگ آمیزی Annexin V/PI قرار گرفتند .

یافته نشان داد که در غلظت‌های مختلف نانوذرات آپوپتوز توانایی القای مرگ سلولی را در سطوح مختلف نان دادند. در غلظت ۸ میکروگرم در میلی لیتر ۶۹/۶٪ درصد از سلول‌ها دچار آپوپتوز شده بودند و در غلظت ۳۲ میکروگرم در میلی لیتر آپوپتوز در حدود ۷۲/۲٪ مشاهده شد. به طور کل در غلظت‌های ۸ تا ۳۲ میکروگرم در میلی لیتر بیشترین سیر صعودی آپوپتوز مشاهده شد(شکل ۴).



شکل ۴ اثر غلظت‌های مختلف نانوذرات بر آپوپتوز سلول‌ها در شرایط آزمایشگاهی: نمودارهای نقطه‌ای فلوسیتومتری درصد سلول‌های آپوپتوز اولیه (Annexin V+/PI-) و اواخر (Annexin V+/PI+) را پس از ۴۸ ساعت درمان نشان می‌دهند. نقاط Q2 و Q3 نمایانگر تعداد سلول‌هایی است که در آنها آپوپتوز روی داده است و Q4 نمایانگر سلول‌های سالم است.

بحث

بررسی بیوسنتز نانوذرات نقره به خاطر نقش مهم این نانوذره در آینده درمانی جهان و صنعت پر اهمیت است (۳۰). اهمیت نانوذرات توجه دانشمندان را برای ارائه راهکارهای بهینه سازی تهیه نانوذرات در حوزه‌های گوناگون علوم بنیادی و کاربردی به خود جلب کرده است (۳۲). استفاده از عصاره‌های گیاهی برای سنتز نانوذرات فلزی در سال‌های اخیر به دلیل برتری آن نسبت به روش‌های شیمیایی سنتی مورد توجه قرار گرفته است. مطالعات نشان می‌دهند که تولید نانوذرات با این رویکرد آسان، سریع و مقرون به صرفه است (۴،۳۳). بررسی حاضر برای اولین بار بیوسنتز نانوذرات نقره را با کمک عصاره گیاه علف چشمه انجام داده است. با توجه به خاصیت کاهیدگی بالا و ترکیبات زیستی فراوان گیاه علف چشمه در این بررسی از این گیاه استفاده شد (۷و۶). یافته‌ها نشان داد که جذب نوری حاصل با اسپکتروفتومتری فرابنفش - مرئی قابل مشاهده بود که جذب ۳۹۸ نانومتر با ماکزیمم جذب ۱/۳۸ آنگستروم نشان دهنده باند جذب تشدید پلاسماژن برای نانوذرات نقره بوده و کاهیدگی مناسب عصاره علف چشمه را نشان داده است. ریوتلا^۲ و همکاران در بررسی مشابه نشان دادند که ریشه گیاه ساج می‌تواند در بیوسنتز نانوذرات نقره موثر باشند. ذرات با تشخیص بصری تأیید شد که در آن محلول بی‌رنگ به محلول قهوه ای رنگ تبدیل می‌شود. شناسایی بیشتر توسط طیف‌سنجی مرئی XRD، UV، کاهیدگی مناسب عصاره ریشه گیاه ساج را نشان داد (۳۳). بر اساس مطالعه‌ای مشابه دیگر بیوسنتز نانوذرات نقره با استفاده از عصاره گیاه *Stevia rebaudiana* گزارش شد که نانوذرات نقره بیوسنتز شده در محدوده اندازه نانو (۵۰ تا ۱۰۰ نانومتر) بودند و مورفولوژی نامنظم داشتند (۱۷). نانوذرات نقره تولیدشده با روش زیستی دارای ویژگیهای مفیدی مانند میزان سطح بالا، اندازه کوچک و پراکندگی بالا هستند که مجموعه این عوامل سبب شده است تا اثرات مثبت آن در مقایسه با نقره افزایش چشمگیری داشته باشد (۳۴). در بررسی راتی^۳ و همکاران بیوسنتز نانوذرات نقره با استفاده از عصاره ریشه گیاه *Erythrina indica* و اثر سیتوتوکسیک آن در رده‌های سلولی سرطان سینه و ریه بررسی شد. یافته‌ها نشان داد که ترپن‌ها، فنل، فلاونول‌ها و تانن به عنوان عوامل کاهش دهنده و پوشش دهنده موثر برای تبدیل نیترات نقره به نانوذرات نقره عمل می‌کنند (۱۸). در تحقیقی دیگر نانوذرات

نقره با استفاده از عصاره آبی برگ *Oedera genistifolia* به عنوان یک عامل کاهنده سنتز شد. نتایج نشان دهنده سنتز موفقیت‌آمیز نانوذرات نقره با استفاده از عصاره گیاهی به عنوان یک عامل کاهنده، با اندازه متوسط ۳۴/۲ نانومتر بود (۱۹). شناخت نانوذرات با بالاترین اثر بخشی ضد سرطانی بسیار مهم می‌باشد (۲۳). یافته‌های ما نشان داد نانوذرات سنتز شده در افزایش مرگ رده سلول‌های سرطان سینه موثر بودند. در غلظت ۳۲ میکروگرم بر میلی لیتر درصد آپوپتوز در حدود ۷۲ درصد افزایش یافت به شکل چشمگیری افزایش یافت.

یافته‌های مشابه دیگر نشان داده‌اند که نانوذرات نقره سنتز شده با عصاره‌های گیاهی اثر سیتوتوکسیک مناسبی را بر رده‌های سلولی سرطان سینه و ریه و گوارش داشته اند (۱۸،۳۵،۳۶). اثر نانوذرات نقره سنتز شده به وسیله عصاره گیاه *Podophyllum hexandrum* بر روند آپاپتوز سلول‌های دهانه رحم نشان داد که این سلول‌ها منجر به القای آپاپتوز در سلول‌های سرطانی مذکور شده است (۳۰). تأثیر سیتوتوکسیک نانوذرات نقره سنتز شده بر سلول‌های سرطانی یکی از مهمترین نتایج مطالعه‌ی حاضر بوده است که توسط روش MTT مورد تأیید قرار گرفته است. خواص سیتوتوکسیک نانوذرات نقره در مطالعات دیگر نیز تأیید شده است (۳۷ و ۳۰ و ۲۱). در بررسی حاضر از گیاه علف چشمه برای کاهیدگی یون نقره استفاده شد و مشخص شد که این گیاه حاوی میزان بالایی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی *benzyl isothiocyanate*، *phenyl ethyl isothiocyanate*

Glucosinolate است. این ترکیبات خاصیت کاهندگی مناسبی دارند. گزارش شده است که بین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنلی و شدت تشدید پلاسماژن ارتباط معناداری وجود دارد (۳۷). ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی دسته‌ای از متابولیت‌های ثانویه که به دلیل نقش محافظتی آنها در برابر آسیب اکسیداتیو و عوامل ضد میکروبی، آنها عمدتاً در لایه‌های بیرونی بافت‌های گیاهی قرار می‌گیرند. پتانسیل ترکیبات فنلی در مهار رادیکال‌های آزاد مرتبط با گروه هیدروکسیل فنلی است که با اکسیژن واکنش می‌دهند (۳۷). بسیاری از تحقیقات نشان داده است که فلاونوئید دارای فعالیت‌های بیولوژیکی متنوع از جمله نظیر اثرات آنتی‌اکسیداتیو، آنتی‌نئوپلاستیک، ضد التهاب، ضد لخته شدن خون است (۳۹،۴۰). به علاوه در مطالعه حاضر نشان داد که کیفیت تولید نانوذرات نقره تحت تأثیر شرایط مختلف pH و

³ Rathi

² Rautela

شده‌اند (۵۱،۵۲). انواع مختلف نانوذرات و نقش آنها در بهبود درمان سرطان مورد تایید قرار گرفته‌اند. از جمله داروهای بر پایه نانوذرات مورد تایید می‌توان به Doxorubicin و Paclitaxel اشاره کرد که در سرطان سینه و تخمدان، سرطان معده مورد استفاده قرار می‌گیرد (۵۳). بسیاری از داروهای مشتق از نانوذرات نیز وجود دارند که در فاز کارآزمایی بالینی قرار دارند (۵۴). اگرچه استفاده از نانوذرات در نانوپزشکی یکی از امیدوارکننده‌ترین پیشرفت‌ها در دوران مدرن پزشکی است، اما با وجود تایید آزمایشگاه‌های انواع مختلفی از نانوذرات، درمان با نانوذرات در بالین با چالش‌های متعددی مواجه است (۵۵،۵۳). یقیناً سنتز و شناخت نانوذرات می‌تواند به پیشرفت درمان سرطان در آینده کمک کند. به طور کل نتایج ارائه شده در مطالعه حاضر به وضوح نشان می‌دهد که عصاره‌های آبی علف چشمه حاوی ترکیبات مناسبی برای سنتز سبز نانوذرات نقره بود که می‌تواند در آینده به میزان بیشتری مورد توجه قرار بگیرد.

نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که نانوذرات نقره سنتز شده می‌توانند اثر ضد سرطانی موثری در برابر رده سلول سرطان سینه ایجاد کنند به علاوه عصاره آبی علف چشمه می‌تواند به طور موثر به عنوان منبعی از عوامل کاهش دهنده و تثبیت کننده برای سنتز نانوذرات نقره استفاده شوند. تجزیه و تحلیل‌ها تأثیر pH و دما بر واکنش سنتز نانوذرات نقش افزایش دما و افزایش pH را در بهینه سازی تولید آن را نشان داده است که توجه به این اندازه‌ها در تحقیقات آینده می‌تواند در بازدهی بیشتر تولید نانوذرات نقره کمک کند. تحقیقات بیشتر باید در جهت ارزیابی مناسب بودن گیاه علف چشمه برای تولید انواع دیگر نانوذرات باشد

تشکر و قدردانی

مقاله حاضر حاصل پروژه دانشجویی است که نویسنده بدین وسیله از کارشناسان محترم آزمایشگاه آکادمی شمس و بخش میکروبی انستیتو پاستور کرج و خانم نکیسا نیازی (کارشناس ارشد فیزیولوژی گیاهی) بابت جمع آوری و آماده سازی نمونه گیاهی تقدیر و تشکر می‌نماید.

دما قرار می‌گیرد. شدت این باند و سرعت اولیه تشکیل نانوذرات تا pH ۱۰ افزایش یافت. این نشان دهنده تولید بهتر نانوذرات در pH برابر با ۱۰ بود. در دو بررسی مشابه مشاهده شده که pH نقش موثری در تولید نانوذرات نقره دارد و به منظور بهینه‌سازی pH بازی (حدود ۱۲) بهتر از اسیدی است (۴۰،۴۱). از علل تولید بهینه نانوذرات در pH بالا می‌تواند به اکسیداسیون ترکیبات فنلی همراه با آزاد شدن یون های H⁺ اشاره کرد به طوری که هسته زایی نانوذرات نقره در شرایط قلیایی بهتر صورت می‌گیرد (۴۲) در نتیجه، در pH بالاتر، نانوذرات با اندازه کوچک بیشتری تشکیل می‌شوند (۴۳) در مورد دما نیز مشخص شد که با افزایش دما باند جذب تشدید پلاسمون و سرعت اولیه تشکیل نانوذرات افزایش یافته است که این نتیجه بازتاب واضحی از تأثیر مثبت دما بر سینتیک تشکیل نانوذرات نقره است در واقع افزایش دما تا ۶۵ درجه بر روی بیوسنتز و سرعت اولیه تشکیل نانوذرات تأثیر مثبت داشت افزایش دما همچنین منجر به کاهش اندازه نانوذرات نقره شد، که نشان می‌دهد در محدوده دمایی مورد بررسی، هسته‌زایی بر رشد ترجیح داده می‌شود. مطالعات قبلی این یافته را اثبات کرده‌اند (۴۴،۴۵) البته در این رابطه مطالعات نتایج مختلفی را نشان داده‌اند و بیان شده دما می‌تواند ویژگی‌های نانوذرات حاصل را به صورت غیرقابل پیش‌بینی تحت تأثیر قرار دهد. بر اساس یک مطالعه بر روی تولید نانوذرات نقره با استفاده از عصاره پوست درخت کاج، افزایش دمای واکنش از ۲۵ به ۱۵۰ درجه سلسیوس منجر به کاهش تدریجی اندازه نانوذرات شد (۴۶) برعکس، در مطالعه دیگری استفاده از عصاره آبی برگ‌های *Lippia citriodora* نشان داد که افزایش دما از ۲۵ به ۹۵ درجه سلسیوس سینتیک تشکیل نانوذرات را افزایش داد، اما تأثیر قابل توجهی بر اندازه نانوذرات نقره نداشت (۴۷). سنتز سبز نانوذرات فلزی در حال تبدیل شدن به یک موضوع تحقیقاتی جالب برای دانشمندان بین رشته‌ای در سراسر جهان است زیرا روش‌های شیمیایی سنتی در مقایسه با روش‌های بیولوژیکی به مصرف انرژی و معرف‌ها (گاهی مضر و سمی) بیشتری نیاز دارند. تحقیقات گسترده‌ای در جهان برای کاوش گیاهان و بخش‌های مختلف آنها در سراسر جهان انجام شده است (۴۸،۴۹،۵۰) از این میان تاکنون مطالعات زیادی بر روی سنتز نانوذرات انجام شده است. خواص فعال زیستی نانوذرات نقره از نظر ضد سرطان بودن در سطح قابل قبولی گزارش

1. Afzal O, Altamimi ASA, Nadeem MS, Alzarea SI, Almalki WH, Tariq A, et al. Nanoparticles in Drug Delivery: From History to Therapeutic Applications. *Nanomaterials* [Internet]. 2022 Dec 19;12(24):4494. Available from: <https://www.mdpi.com/2079-4991/12/24/4494>.
2. Ramachandraiah K, Gnoc NTB, Chin KB. Biosynthesis of Silver Nanoparticles from Persimmon Byproducts and Incorporation in Biodegradable Sodium Alginate Thin Film. *Journal of Food Science* [Internet]. 2017 Oct 8;82(10):2329–36. Available from: <https://ift.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/1750-3841.13865>.
3. Bastos-Arrieta J, Florido A, Pérez-Ràfols C, Serrano N, Fiol N, Poch J, et al. Green Synthesis of Ag Nanoparticles Using Grape Stalk Waste Extract for the Modification of Screen-Printed Electrodes. *Nanomaterials* [Internet]. 2018 Nov 17;8(11):946. Available from: <http://www.mdpi.com/2079-4991/8/11/946>.
4. Khan M, Shaik MR, Adil SF, Khan ST, Al-Warthan A, Siddiqui MRH, et al. Plant extracts as green reductants for the synthesis of silver nanoparticles: lessons from chemical synthesis. *Dalton Transactions* [Internet]. 2018;47(35):11988–2010. Available from: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C8DT01152D>.
5. Bastos-Arrieta J, Florido A, Pérez-Ràfols C, Serrano N, Fiol N, Poch J, et al. Green Synthesis of Ag Nanoparticles Using Grape Stalk Waste Extract for the Modification of Screen-Printed Electrodes. *Nanomaterials* [Internet]. 2018 Nov 17;8(11):946. Available from: <http://www.mdpi.com/2079-4991/8/11/946>.
6. Zaki AA, Elbarawy AM, Darwish AS. Biochemical studies on the effect of *Nasturtium officinalis* plant extract in chickens fed raw soya bean meals. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*. 2011;5(9):755–61.
7. Andini S, Araya-Cloutier C, Sanders M, Vincken JP. Simultaneous Analysis of Glucosinolates and Isothiocyanates by Reversed-Phase Ultra-High-Performance Liquid Chromatography-Electron Spray Ionization-Tandem Mass Spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2020;68(10).
8. Tavakoli S, Ejtehadi H, Amini Eshkevari T, Vosough Razavi S. A study of the flora of aquatic habitats in East and West of Mazandaran province, Iran. *Taxonomy and Biosystematics*. 2013;5(15).
9. Delfan, E, Khodayari, H, Azizi K. Ethnobotany of Native Medicinal Plants in Zagheh and Biranshahr districts, Lorestan Province, Iran. *Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants*,. 1973;11(5).
10. Vafadar M, Toghranegar Z. Ethnobotanical study of some medicinal plants of Abhar county, Zanjan province. *Journal of Medicinal Plants* [Internet]. 2020 Sep 1;19(75):30–54. Available from: <http://jmp.ir/article-1-2458-en.html>.

11. Ma X, Ding Q, Hou X, You X. Analysis of flavonoid metabolites in watercress (*Nasturtium officinale* R. Br.) and the non-heading Chinese cabbage (*brassica rapa* ssp. *chinensis* cv. *aijiaohuang*) using UHPLC-ESI-MS/MS. *Molecules*. 2021;26(19).
12. Kyriakou S, Michailidou K, Amery T, Stewart K, Winyard PG, Trafalis DT, et al. Polyphenolics, glucosinolates and isothiocyanates profiling of aerial parts of *Nasturtium officinale* (Watercress). *Frontiers in Plant Science*. 2022;13.
13. Abdul Salam A, Singaravelan R, Vasanthi P, Bangarusudarsan Alwar S. Electrochemical fabrication of Ag–Cu nano alloy and its characterization: an investigation. *Journal of Nanostructure in Chemistry* [Internet]. 2015 Dec 23;5(4):383–92. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s40097-015-0170-1>
14. Sabira SF, Kasabe AM, Mane PC, Chaudhari RD, Adhyapak P V. Selective antifungal and antibacterial activities of Ag-Cu and Cu-Ag core-shell nanostructures synthesized in-situ PVA. *Nanotechnology*. 2020;31(48).
15. Carbone M, Donia DT, Sabbatella G, Antiochia R. Silver nanoparticles in polymeric matrices for fresh food packaging. Vol. 28, *Journal of King Saud University - Science*. 2016.
16. Mohammadi S, Pourseyedi S, Amini A. Green synthesis of silver nanoparticles with a long lasting stability using colloidal solution of cowpea seeds (*Vigna* sp. L). *Journal of Environmental Chemical Engineering*. 2016;4(2).
17. Timotina M, Aghajanyan A, Schubert R, Trchounian K, Gabrielyan L. Biosynthesis of silver nanoparticles using extracts of *Stevia rebaudiana* and evaluation of antibacterial activity. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2022;38(11).
18. Rathi Sre PR, Reka M, Poovazhagi R, Arul Kumar M, Murugesan K. Antibacterial and cytotoxic effect of biologically synthesized silver nanoparticles using aqueous root extract of *Erythrina indica* lam. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* [Internet]. 2015 Jan;135:1137–44. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1386142514012013>.
19. Okaiyeto K, Ojemaye MO, Hoppe H, Mabinya L V., Okoh AI. Phytofabrication of Silver/Silver Chloride Nanoparticles Using Aqueous Leaf Extract of *Oedera genistifolia*: Characterization and Antibacterial Potential. *Molecules* [Internet]. 2019 Nov 30;24(23):4382. Available from: <https://www.mdpi.com/1420-3049/24/23/4382>.
20. Zuorro A, Iannone A, Natali S, Lavecchia R. Green synthesis of silver nanoparticles using bilberry and red currantwaste extracts. *Processes*. 2019;7(4).
21. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. 2021;71(3).

22. Din FU, Aman W, Ullah I, Qureshi OS, Mustapha O, Shafique S, et al. Effective use of nanocarriers as drug delivery systems for the treatment of selected tumors. Vol. 12, International Journal of Nanomedicine. 2017.
23. Salvioni L, Rizzuto MA, Bertolini JA, Pandolfi L, Colombo M, Prosperi D. Thirty years of cancer nanomedicine: Success, frustration, and hope. Vol. 11, Cancers. 2019.
24. Adams RP. Identification of essential oil components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy. Allured Publishing Corporation; 2001. 63–344 p.
25. Kumar R, Ahmad A, Mukherjee P, Senapati S, Mandal D, Khan MI, et al. Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles using the fungus *Fusarium oxysporum*. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces [Internet]. 2003 May;28(4):313–8.
26. Gonzalez-Valdivieso J, Girotti A, Schneider J, Arias FJ. Advanced nanomedicine and cancer: Challenges and opportunities in clinical translation. Vol. 599, International Journal of Pharmaceutics. 2021.
27. Moadi T, Ghahremanzadeh R, Yosefi M, Mohammadi F. Synthesis of Silver Nanoparticles (Ag NPs) via Four Kinds of Plants Extract and Investigation of Antimicrobial Activity of these Nanoparticles. Nashrieh Shimi va Mohandesi Shimi Iran. 2014;23(4):1–9.
28. Fahimirad S, Ajalloueiian F, Ghorbanpour M. Synthesis and therapeutic potential of silver nanomaterials derived from plant extracts. Vol. 168, Ecotoxicology and Environmental Safety. 2019.
29. Adams RP. Identification of essential oil components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy. Allured Publishing Corporation; 2001. 63–344 p..
30. Kumar R, Ahmad A, Mukherjee P, Senapati S, Mandal D, Khan MI, et al. Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles using the fungus *Fusarium oxysporum*. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces [Internet]. 2003 May;28(4):313–8.
31. Gonzalez-Valdivieso J, Girotti A, Schneider J, Arias FJ. Advanced nanomedicine and cancer: Challenges and opportunities in clinical translation. Vol. 599, International Journal of Pharmaceutics. 2021.
32. Moadi T, Ghahremanzadeh R, Yosefi M, Mohammadi F. Synthesis of Silver Nanoparticles (Ag NPs) via Four Kinds of Plants Extract and Investigation of Antimicrobial Activity of these Nanoparticles. Nashrieh Shimi va Mohandesi Shimi Iran. 2014;23(4):1–9.
33. Rautela A, Rani J, Debnath (Das) M. Green synthesis of silver nanoparticles from *Tectona grandis* seeds extract: characterization and mechanism of antimicrobial action on different microorganisms. Journal of Analytical Science and Technology. 2019;10(1).

34. Kaviya S, Santhanalakshmi J, Viswanathan B, Muthumary J, Srinivasan K. Biosynthesis of silver nanoparticles using citrus sinensis peel extract and its antibacterial activity. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* [Internet]. 2011 Aug;79(3):594–8.
35. Shamsi H, Yari R, Salehzadeh A. Assessment the effect of BiFe₂O₄@Ag nanocomposite, biosynthesized by *Scenedesmus obliquus* on expression of CAD, CASP8 and p53 genes in gastric cancer cell line. *Journal of Aquatic Physiology and Biotechnology*. 2023;11(1):134–58.
36. Baharara J, Namvar F, Ramezani T, Mousavi M, Mohamad R. Silver Nanoparticles Biosynthesized Using *Achillea biebersteinii* Flower Extract: Apoptosis Induction in MCF-7 Cells via Caspase Activation and Regulation of Bax and Bcl-2 Gene Expression. *Molecules* [Internet]. 2015 Feb 5;20(2):2693–706.
37. Bhutto AA, Kalay Ş, Sherazi STH, Culha M. Quantitative structure–activity relationship between antioxidant capacity of phenolic compounds and the plasmonic properties of silver nanoparticles. *Talanta*. 2018;189.
38. Sanli A, Ok FZ. Chemical Composition and Antimicrobial Activity against Phytopathogenic Fungi of Essential Oils Obtained from *Echinophora tenuifolia* subsp. *sibthorpiana* Grown in Wild and Cultivated Conditions in Turkey. *Molecules* [Internet]. 2023 Jan 6;28(2):585.
39. Shadvar MS, Moradkhani S. Chemical composition of the essential oils and antioxidant capacity evaluation of *Echinophora platyloba* DC. and *Falcaria vulgaris* Bernh. growing in Hamadan province of Iran. *Journal of Medicinal Plants*. 2022;21(83).
40. Roopan SM, Rohit, Madhumitha G, Rahuman AA, Kamaraj C, Bharathi A, et al. Low-cost and eco-friendly phyto-synthesis of silver nanoparticles using *Cocos nucifera* coir extract and its larvicidal activity. *Industrial Crops and Products*. 2013;43(1).
41. Kumar B, Smita K, Cumbal L, Debut A. Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) shell biomass for synthesis of silver nanocatalyst. *Journal of Saudi Chemical Society*. 2017;21.
42. Adegboyega NF, Sharma VK, Siskova K, Zbořil R, Sohn M, Schultz BJ, et al. Interactions of aqueous Ag⁺ with fulvic acids: Mechanisms of silver nanoparticle formation and investigation of stability. *Environmental Science and Technology*. 2013;47(2).
43. Baghizadeh A, Ranjbar S, Gupta VK, Asif M, Pourseyedi S, Karimi MJ, et al. Green synthesis of silver nanoparticles using seed extract of *Calendula officinalis* in liquid phase. *Journal of Molecular Liquids*. 2015;207.
44. Mashwani Z ur R, Khan T, Khan MA, Nadhman A. Synthesis in plants and plant extracts of silver nanoparticles with potent antimicrobial properties: current status and future prospects. Vol. 99, *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2015.

45. Yuan CG, Huo C, Gui B, Liu P, Zhang C. Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using *Chenopodium aristatum* L. Stem Extract and Their Catalytic/Antibacterial Activities. *Journal of Cluster Science*. 2017;28(3).
46. Iravani S, Zolfaghari B. Green synthesis of silver nanoparticles using *Pinus eldarica* bark extract. *BioMed Research International*. 2013;2013.
47. Cruz D, Falé PL, Mourato A, Vaz PD, Luisa Serralheiro M, Lino ARL. Preparation and physicochemical characterization of Ag nanoparticles biosynthesized by *Lippia citriodora* (Lemon Verbena). *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2010;81(1).
48. Hasan KMF, Horváth PG, Alpár T. Potential natural fiber polymeric nanobiocomposites: A review. Vol. 12, *Polymers*. 2020.
49. Faridul Hasan KM, Horváth PG, Alpár T. Silk protein and its nanocomposites. In: *Biopolymeric Nanomaterials: Fundamentals and Applications*. 2021.
50. Hasan KMF, Horváth PG, Alpár T. Nanotechnology for waste wood recycling. In: *Nanotechnology in Paper and Wood Engineering* [Internet]. Elsevier; 2022. p. 61–80. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780323858359000143>
51. González-Pedroza MG, Argueta-Figueroa L, García-Contreras R, Jiménez-Martínez Y, Martínez-Martínez E, Navarro-Marchal SA, et al. Silver nanoparticles from *annona muricata* peel and leaf extracts as a potential potent, biocompatible and low cost antitumor tool. *Nanomaterials*. 2021;11(5).
52. Ahn EY, Park Y. Anticancer prospects of silver nanoparticles green-synthesized by plant extracts. *Materials Science and Engineering: C* [Internet]. 2020 Nov;116:111253. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0928493120303118>
53. Giri PM, Banerjee A, Layek B. A Recent Review on Cancer Nanomedicine. Vol. 15, *Cancers*. 2023.
54. Wang S, Cheng K, Chen K, Xu C, Ma P, Dang G, et al. Nanoparticle-based medicines in clinical cancer therapy. Vol. 45, *Nano Today*. 2022.
55. Ashrafizadeh M, Delfi M, Zarrabi A, Bigam A, Sharifi E, Rabiee N, et al. Stimuli-responsive liposomal nanoformulations in cancer therapy: Pre-clinical & clinical approaches. Vol. 351, *Journal of Contr*