

## Cytotoxic effect of magnetic iron oxide nanoparticles coated with seaweed aqueous extract against ovarian cancer cells

Namvar F<sup>1</sup>, Baharara J<sup>2\*</sup>, Amini E<sup>3</sup>, Mahdavi M<sup>4</sup>

- 1- Research Center for Animal Development Applied Biology, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, I. R. Iran.  
2- Department of Biology, Faculty of Science, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, I. R. Iran.  
3- Department of Animal Biology, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran, I. R. Iran.  
4- Department of Chemistry, Faculty of Science, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, I. R. Iran.

Received December 2, 2014; Accepted April 15, 2015

### Abstract:

**Background:** Iron oxide nanoparticles are one of the most efficient metal nanoparticles, which have prominent properties in biomedical applications. In previous studies, these nanoparticles were prepared using a green synthesis method with the aqueous extract of brown seaweed (*Sargassum muticum*). This study aimed to examine the cytotoxic effect of these synthesized nanoparticles on A2780cp ovarian cancer cells which indicate resistance to chemotherapy regimen.

**Materials and Methods:** The cytotoxic effect of synthesized nanoparticles on A2780cp ovarian cancer cells were examined using the methylthiazol tetrazolium assay, acridine orange/ propodium iodide and caspase assay.

**Results:** Results indicated that Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles encapsulated in seaweed water extract possess a cytotoxic effect on ovarian cancer cells resistant to chemotherapy (IC<sub>50</sub> values of 250 µg/ml, 125 µg/ml and 62.5µg/ml for 24, 48 and 72 h, respectively). The nanoparticles through the induction of caspase-3 and -9 dependent apoptosis (intrinsic pathway) significantly exerted a cytotoxic effect against A2780cp ovarian cancer cells.

**Conclusion:** The aqueous extract of brown seaweed is an appropriate candidate for stability and reduction of colloidal solution of iron oxide nanoparticles. Due to the apoptotic effect of this extract on A2780cp ovarian cancer cells, it can be a good choice for ovarian cancer treatment.

**Keywords:** Iron oxide nanoparticles, Seaweed, Cytotoxic effect, Ovarian cancer

\* Corresponding Author.

Email: baharara@yahoo.com

Tel: 0098 513 843 7092

Fax: 0098 513 843 7092

Conflict of Interests: No

*Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, June, 2015; Vol. 19, No 2, Pages 94-101*

Please cite this article as: Namvar F, Baharara J, Amini E, Mahdavi M. Cytotoxic effect of magnetic iron oxide nanoparticles coated with seaweed aqueous extract against ovarian cancer cells. *Feyz* 2015; 19(2): 94-101.

# اثر سمیت سلولی نانوذرات اکسید آهن کوت شده با عصاره آبی جلبک قهوه‌ای بر سلول‌های سرطان تخمدان

فریده نامور<sup>۱</sup>، جواد بهارآرا<sup>۲\*</sup>، الهه امینی<sup>۳</sup>، مهناز مهدوی<sup>۴</sup>

خلاصه:

**سابقه و هدف:** نانوذرات اکسید آهن از پرکاربردترین نانوذرات فلزی بوده که دارای ویژگی‌های مفیدی در زیست پزشکی می‌باشند. یکی از روش‌های تهیه این نانوذرات استفاده از روش سنتز سبز توسط عصاره آبی جلبک قهوه‌ای (*Sargassum muticum*) می‌باشد. هدف از این پژوهش تجربی بررسی اثر سمیت این نانوذرات بر سلول‌های سرطان تخمدان که مقاومت بالایی نسبت به شیمی درمانی نشان می‌دهند، بوده است.

**مواد و روش‌ها:** اثر سمیت سلولی این نانوذرات توسط روش MTT، رنگ‌آمیزی اکریدین اورنج/ پروپودیوم یداید و تست کاسپاز بر سلول‌های سرطانی A2780cp مورد بررسی قرار گرفت.

**نتایج:** یافته‌های حاصل نشان داد نانوذرات فلزی اکسید آهن در بر گرفته شده با عصاره جلبک قهوه‌ای دارای اثر سمیت سلولی بر سلول‌های سرطان تخمدان مقاوم به شیمی درمانی بوده و در ۲۴ ساعت با IC<sub>50</sub> حدود ۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و در ۴۸ و ۷۲ ساعت به ترتیب با ۱۲۵ و ۶۲/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر به طور معنی‌داری از طریق القاء آپوپتوز وابسته به کاسپاز ۳ و ۹ (مسیر درونی) موجب القاء اثر سمی بر سلول‌های سرطان تخمدان می‌شود.

**نتیجه‌گیری:** عصاره جلبک قهوه‌ای گزینه مناسبی جهت پایداری و احیاء محلول کلونیدی نانوذرات اکسید آهن بوده که با القاء اثر آپوپتوزی بر رده سلولی A2780cp، این نانوذرات را گزینه مناسبی در درمان سرطان تخمدان می‌سازد.

**واژگان کلیدی:** نانوذرات اکسید آهن، جلبک دریایی، سمیت سلولی، سرطان تخمدان

دو ماه‌نامه علمی- پژوهشی فیض، دوره نوزدهم، شماره ۲، خرداد و تیر ۱۳۹۴، صفحات ۹۴-۱۰۱

## مقدمه

در سال‌های اخیر پژوهشگران با کمک بسیاری از روش‌های فیزیکی و شیمیایی به‌عنوان تکنولوژی‌های درمانی متناوب و توام سعی بر تولید نانوداروها در درمان سرطان کرده‌اند [۳]. اکسید آهن به دلیل خاصیت سوپراپارامگنتیک و ویژگی‌های متغیر سطحی کاندید مهمی در درمان سرطان در نظر گرفته می‌شود [۴]. سنتز اکسید آهن در حضور یک اکسیدانت چندین نوع اکسید آهن را از جمله مگنتیت (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) و هماتیت (a-Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) به وجود می‌آورد [۶، ۵]. که در بین آنها نانوذرات مگنتیت اکسید آهن به‌طور عمده در تحقیقات پزشکی مورد استفاده قرار گرفته‌اند [۷]. کاهش مقاومت دارویی، کاهش دوز دارو و ارائه کارایی بیشتر در تشخیص تومور، هدف گیری و درمان تومور، سازگاری زیستی و زیست‌تخریب‌پذیری از جمله عواملی هستند که نانوذرات مگنتیتی اکسید آهن را کاندید مناسبی برای کاربرد بالینی (مثل سلول درمانی، ترمیم بافتی و هدایت دارویی) کرده است [۸]. تحقیقات اخیر بر روی تکوین روش‌هایی که روی اندازه، شارژ، پایداری، شکل و مورفولوژی نانوذرات مگنتیت تحقیق می‌کنند، متمرکز شده است. پایداری کلونیدال و سمیت سلولی دو ویژگی هستند که با توجه به نوع پوشش سطحی نانوذرات تحت تاثیر قرار می‌گیرند [۹]. در رابطه با نانوذرات اکسید آهن، از این جهت که سطح بزرگ و هیدروفوب آنها محلول هتروژنی را به وجود می‌آورد، به-

سرطان تخمدان شایع‌ترین علت مرگ خانم‌ها در اثر سرطان‌های دستگاه تناسلی است که با وجود روش‌های رایج از جمله شیمی درمانی، رادیوتراپی و فتودینامیک تراپی، ۸۵ درصد از بیماران نیاز به درمان ترکیبی داشته که این امر نیاز مبرمی به ایجاد روش‌های بدیع و جدید ایجاد کرده است [۱]. علم نانو تکنولوژی دارای پتانسیل بالایی در طیف وسیع تحقیقات سرطان مثل تشخیص، مانیتورینگ و استراتژی‌های درمانی بوده و ایده‌های ارزشمندی را در این زمینه ارائه می‌دهد [۲].

<sup>۱</sup> استادیار، مرکز تحقیقات بیولوژی کاربردی تکوین جانوری، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد

<sup>۲</sup> استاد، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد

<sup>۳</sup> دانشجوی دکتری تخصصی، گروه علوم جانوری، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی

<sup>۴</sup> استادیار، گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز

## \* نشانی نویسنده مسئول:

مشهد، خیابان راهنمایی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی مشهد

تلفن: ۰۵۱۳۸۴۳۷۰۹۲

دورنویس: ۰۵۱۳۸۴۳۷۰۹۲

پست الکترونیک: baharara@yahoo.com

تاریخ پذیرش نهایی: ۹۴/۱/۲۶

تاریخ دریافت: ۹۳/۹/۱۱

سلولی نانوذرات اکسید آهن بر روی سلول‌های سرطان تخمدان مقاوم به دارو صورت نگرفته است [۲۲]. از آنجایی که کشف مواد دارویی با کارایی بالا و اثرات جانبی پایین در درمان سرطان تخمدان مقاوم به داروهای شیمی درمانی هدف عمده تحقیقات در حوزه درمان سرطان تخمدان است و از آنجایی که کاهش مقاومت دارویی از جمله خواص نانوذرات مگنتیتی اکسید آهن است، هدف از انجام این پژوهش بررسی اثر سمیت سلولی نانوذرات اکسید آهن کوت‌شده با جلبک قهوه‌ای بر روی سلول‌های مقاوم سرطان تخمدان و تعیین دوز کشنده و زیر حد کشنده این نانوذره به منظور القاء آپوپتوز در سلول‌های مقاوم دارویی سرطان تخمدان A2780cp است.

### مواد و روش‌ها

#### تعیین سمیت سلولی

برای انجام کشت سلولی، رده سلولی A2780cp در محیط کشت RPMI 1640 (شرکت ایده زیست، ایران) حاوی ۱۰ درصد FBS و ۱ درصد پنی سیلین استرپتومایسین (Gibco, USA) درون انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد با دی اکسیدکربن ۵ درصد کشت داده شد. محیط سلول‌ها هر سه روز یک مرتبه تعویض شد تا زمانی که سلول‌ها برای تیمار به تراکم ۸۰ درصد برسند. سمیت سلولی نانوذرات اکسید آهن کوت‌شده با عصاره آبی جلبک قهوه‌ای بر روی سلول‌های سرطان تخمدان A2780cp با استفاده از روش MTT (شرکت Applichem، آلمان) مورد ارزیابی قرار گرفت. این روش بر اساس فعالیت دهیدروژنازهای میتوکندریایی است که از جمله مارکرهای مهم در بقاء به‌شمار می‌روند. برای این منظور سلول‌ها در تراکم  $10^4$  سلول در هر چاهک پلیت ۹۶ خانه کشت داده شدند. ۲۴ ساعت پس از کشت محیط رویی سلول‌ها تعویض شده و با غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسید آهن کوت‌شده با عصاره آبی جلبک قهوه‌ای (۲/۵، ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) به مدت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت تیمار شدند. پس از این مدت مورفولوژی سلول‌ها در زیر میکروسکوپ معکوس بررسی شده و سمیت سلولی توسط روش MTT مورد ارزیابی قرار گرفت.

#### آزمون اکریدین اورنج/ پروپودیوم یداید و DAPI

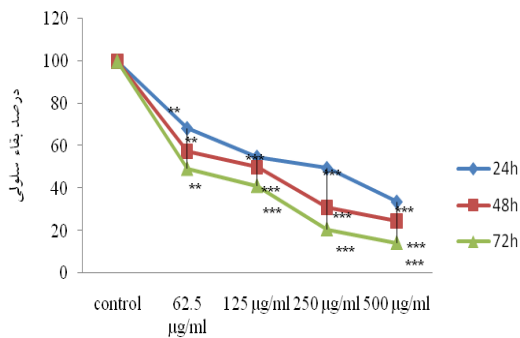
از این رنگ‌آمیزی جهت ارزیابی نوع مرگ سلولی القا شده توسط نانوذرات سنتز شده استفاده شد. رنگ‌آمیزی اکریدین اورنج/ پروپودیوم یداید برای تشخیص سلول‌های زنده، آپوپتوزی و نکروزه به‌کار می‌رود؛ به‌طوری که سلول‌های زنده به

منظور تثبیت حالت هموزن محلول، بایستی از یک عامل طبیعی استفاده شود تا هم حالت احیاکننده داشته باشد و هم پوشش قدرتمندی برای نانوذرات اکسید آهن ایجاد کند [۱۰]. روش‌های مختلف فیزیکوشیمیایی برای سنتز نانوذرات شناخته شده‌اند که نسبتاً گران و سمی بوده و بر روی محیط زیست اثرات مخربی دارند [۱۱]. سنتز سبز توسط عوامل طبیعی و زیست‌تخریب‌پذیر مثل عصاره‌های گیاهی به‌عنوان عوامل کاهنده و اسیرکننده (گیر اندازنده) در ترکیب با فلزاتی مثل آهن می‌تواند در نانوتکنولوژی مورد توجه و ارزشمند باشد. این تکنولوژی در مقایسه با سایر استراتژی‌های مکانیکی ایمن، ساده، غیر سمی و کارا می‌باشد [۱۲]. روش سنتز سبز نانوذرات با استفاده از مواد گیاهی معمولاً واکنش تک مرحله‌ای و موثری است که بدون نیاز به سورفکتانت و سایر عوامل اسیرکننده سنتز را انجام می‌دهد. مواد و ترکیبات فعال زیستی در عصاره‌های گیاهی از جمله متابولیت‌های فعال محلول در آب می‌توانند در یک استراتژی تک مرحله‌ای برای احیاء یون‌های فلزی به نانوذرات در دمای اتاق مورد استفاده قرار گیرند [۱۳]. محیط دریایی منبعی غنی از فلور و فون دریایی است که فرآورده‌های طبیعی به‌دست آمده از آنها دارای خواص و کاربردهای درمانی منحصر به‌فرد هستند [۱۴]. جلبک قهوه‌ای به‌عنوان یک زیر گروه از جلبک‌ها، از جمله منابع غذایی هستند که به‌طور سنتی در بسیاری از کشورها از جمله آسیای غربی میانی مصرف داشته و متعلق به زیرگروه فتوفیت‌ها هستند [۱۵]. جلبک‌های قهوه‌ای به‌طور بالقوه دارای سویسترای فعال بیولوژیک مثل پلی ساکارید، پروتئین، لیپید، ویتامین، فیبر محلول و مواد معدنی هستند که کاربردهای پزشکی متعددی در درمان سرطان [۱۶]، التهاب، آلرژی، دیابت، ترومبوز، کاهش چاقی توسط پایین آوردن ارزش کالری وعده غذایی، کاهش جذب لیپید و بیماری‌های قلبی عروقی، کاهش فشار خون و سایر بیماری‌های تحلیل‌برنده و مخرب دارند [۱۷، ۱۸]. کاربردهای زیست‌پزشکی جلبک قهوه‌ای به‌طور عمده به‌دلیل وجود گروه‌های عملکردی موجود در آنهاست که به‌عنوان عامل اسیرکننده در فرایند تک مرحله‌ای سنتز سبز عمل می‌کنند [۱۹، ۲۰]. پلی‌ساکاریدها جزء اصلی بیوپلیمرهای موجود در عصاره آبی جلبک قهوه‌ای هستند که مشخص شده است دارای اثرات تثبیت‌کنندگی قوی و افزایش سازگاری زیستی هستند [۲۱]. در آزمایشات قبلی این گروه تحقیقاتی، نانوذرات اکسید آهن کوت‌شده با عصاره آبی جلبک قهوه‌ای با روش سنتز سبز تولید و اثبات گردید [۵]. تا به امروز مطالعاتی بر روی اثر ضد سرطان نانوذرات اکسید آهن سنتز شده به‌روش سبز بر روی چندین دودمان سرطانی صورت گرفته، اما بررسی در مورد اثر سمیت

## نتایج

### آزمون سمیت سلولی

نتایج MTT نشان داد که سلول‌های مقاوم A2780cp در حضور غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسید آهن کوت شده با عصاره آبی جلبک قهوه‌ای (۶۲/۵، ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰ μg/ml) اثر ضد تکثیری وابسته به دوز و زمان نشان می‌دهد. غلظت‌های بالای نانوذرات اکسید آهن کوت شده در دوزهای بالاتر از ۲۵۰ میکرو-گرم بر میلی‌لیتر اثر سمیت چشم‌گیری بر روی سلول‌های سرطان تخمدان نشان داد. شکل شماره ۱ نشان می‌دهد که IC<sub>50</sub> نانوذرات اکسید آهن کوت شده با عصاره آبی جلبک قهوه‌ای در ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از تیمار به ترتیب ۶۲/۵، ۱۲۵، ۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر می‌باشد.



غلظت (میکروگرم بر میلی لیتر)

شکل شماره ۱- اثر سیتوتوکسیک غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسید آهن کوت شده با عصاره آبی جلبک قهوه‌ای بر روی تکثیر سلولی سرطان تخمدان در مقایسه با کنترل با روش MTT. سلول‌های سرطان تخمدان A2780cp تیمار نشده (کنترل) یا تیمار شده با غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسید آهن کوت شده پس از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت از تیمار  $P < 0.05$ ،  $P < 0.01$ ،  $P < 0.001$  (\*\*\*  $\bar{X} \pm SE$ )

رنگ‌آمیزی اکریدین اورنج/ پروپودیوم یداید و تست DAPI همان‌گونه که در شکل شماره ۲ مشاهده می‌شود سلول‌های گروه کنترل (فاقد تیمار) به رنگ سبز درآمده که نشان‌دهنده سلول‌های زنده بوده و سلول‌های سرطانی تیمار شده با غلظت‌های موثره نانوذرات سنتز شده رنگ سبز مایل به زرد و زرد مایل به نارنجی را نشان داده که معرف مرگ سلولی آپوپتوزی می‌باشد. در نتیجه تیمار سلول‌های سرطان تخمدان A2780cp با غلظت‌های موثره نانوذرات اکسید آهن دربرگرفته شده با عصاره آبی جلبک قهوه‌ای القا کننده مرگ برنامه‌ریزی شده در این سلول‌هاست. هم-چنین، رنگ‌آمیزی DAPI نشان داد که تیمار سلول‌های سرطان

رنگ سبز، سلول‌های آپوپتوزی به رنگ زرد و نارنجی و سلول‌های نکروزه به رنگ قرمز قابل افتراق هستند. برای این منظور، ۲۴ ساعت پس از کشت سلول‌ها درون پلیت، محیط رویی سلول‌ها تعویض شده و با غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسید آهن کوت شده با عصاره آبی جلبک قهوه‌ای (۶۲/۵، ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) به مدت ۲۴ ساعت تیمار شدند. سپس، سلول‌های گروه کنترل و تیمار، تریپسین شده و به آنها ۱۰ میکرولیتر اکریدین اورنج و ۱۰ میکرولیتر پروپودیوم یداید اضافه شده و پس از پینتاژ در زیر میکروسکوپ فلورسنت مورد بررسی قرار گرفتند. رنگ‌آمیزی DAPI که به منظور بررسی مورفولوژی هسته به کار می‌رود، از دیگر روش‌های ردیابی سلول‌های آپوپتوزی است. جهت انجام تست DAPI، پس از ۲۴ ساعت از تیمار به سلول‌های گروه کنترل و تیمار متانول جهت تثبیت افزوده شده و سپس در معرض رنگ DAPI (۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) قرار گرفته و در زیر میکروسکوپ فلورسنت مورد بررسی قرار گرفتند.

### تست اندازه‌گیری فعالیت کاسپاز ۳ و ۹

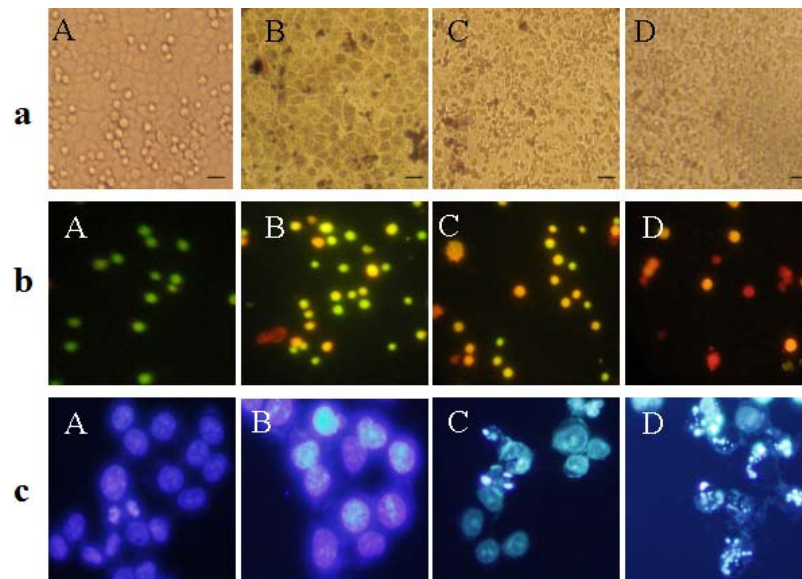
جهت انجام این روش از کیت‌های رنگ سنجی کاسپاز شرکت Abcam (ab39401 و ab65608) به ترتیب برای اندازه‌گیری فعالیت کاسپاز ۳ و ۹) استفاده گردید؛ به این صورت که بعد از گذشت ۲۴ ساعت از تیمار، سلول‌های گروه کنترل و تیماری از کف چاهک‌های پلیت جدا و سانتریفوژ شده، بعد از اتمام سانتریفوژ، محیط رویی برداشته شده و به هر نمونه ۵۰ میکرولیتر از بافر لیزکننده سلولی موجود در کیت افزوده شده و نمونه‌ها به اپندورف منتقل شده و ۱۰ دقیقه بر روی یخ قرار داده، سپس در دور ۱۰۰۰۰ به مدت ۲ دقیقه سانتریفوژ گردیده و از محیط رویی برای تعیین غلظت پروتئین استفاده گردید. در این مرحله ۵۰ میکرولیتر از DDT و 2x buffer و ۵ میکرولیتر از سوسترای کاسپاز ۹ (LEHD-p-NA) و سوسترای کاسپاز ۳ (DEVD-p-NA) به هر نمونه اضافه شده و به مدت ۲ ساعت درون انکوباتور انکوبه شدند. سپس، جذب هر نمونه بر طبق دستورالعمل کیت در طول موج ۴۰۰ یا ۴۵۰ نانومتر توسط اسپکتروفوتومتر اندازه‌گیری شد.

### آزمون آماری

داده‌های آماری حاصل توسط نسخه ۱۶ نرم‌افزار SPSS و آزمون آماری ANOVA و در سطح ( $P < 0.05$ ) تجزیه و تحلیل شدند.

تخمندان با غلظت‌های موثره نانوذرات سنتز شده موجب قطعه

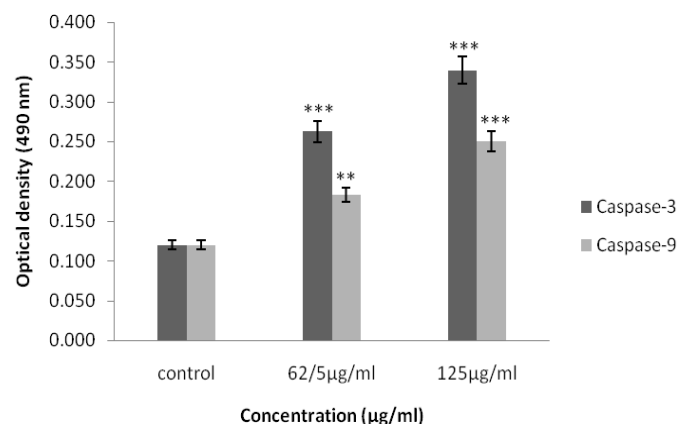
قطعه شدن DNA گردیده که از نشانه‌های آپوپتوز است.



شکل شماره ۲- (a) فتومیکروگراف میکروسکوپ معکوس از سلول‌های سرطان تخمدان A2780cp. (b) رنگ‌آمیزی اکریدین اورنج / پروپودیوم یداید نشان‌دهنده القاء آپوپتوز در غلظت‌های ۶۲/۵ و ۱۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر نانوذرات اکسید آهن کوت‌شده است. (c) رنگ‌آمیزی DAPI نیز قطعه شدن DNA تحت تیمار با نانوذرات اکسید آهن کوت‌شده را نشان می‌دهد. (A) سلول‌های بدون تیمار (گروه کنترل). (B) سلول‌هایی که تحت تاثیر تیمار ۶۲/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر، (C) ۱۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر، (D) ۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر قرار گرفته‌اند.

نانوذرات اکسید آهن کوت‌شده با عصاره آبی جلبک قهوه‌ای از طریق مسیر آپوپتوز وابسته به کاسپاز (۳ و ۹) موجب القاء اثرات توکسیک بر روی سلول‌های سرطان تخمدان گردیده و همچنین افزایش جذب کاسپاز ۹ معرف این موضوع است که مسیر درونی آپوپتوز در پیش‌برد اثرات سمی نانوذرات سنتز شده نقش به‌سزایی داشته است.

تست فعالیت کاسپاز ۳ و ۹ جهت تعیین مسیر آپوپتوزی القا شده توسط غلظت‌های موثره نانوذرات اکسید آهن کوت‌شده با عصاره آبی جلبک قهوه‌ای از تست فعالیت کاسپاز ۳ و ۹ استفاده گردید. همان‌طور که در شکل شماره ۳ نشان داده شده است، تیمار با نانوذرات سنتز شده بیشتر موجب افزایش جذب کاسپاز ۳ در مقایسه با کاسپاز ۹ در سلول‌های سرطان تخمدان شده و نشان‌دهنده این مطلب است که



شکل شماره ۳- اثر تیمار با غلظت‌های موثره نانوذرات اکسید آهن کوت‌شده بر فعالیت کاسپاز ۳ و ۹ در سلول‌های سرطان تخمدان A2780cp.

$$(\bar{X} \pm SE \quad *** P < 0.001, ** P < 0.01, * P < 0.05)$$

می‌کند [۹]. در یک مطالعه دیگر از نانوذرات اکسید آهن سوپر پارامگنتیت سنتز شده به روش شیمیایی رسوب‌دهی توام کوت- شده با ریوفلاوین حامل پروتئین مونونوکلئوتید فلاوین استفاده نموده و متوجه شدند که پوشش ریوفلاوین موجب القاء خواص فلورسانت و مختص هدف می‌شود. پژوهشگران سپس سازگاری زیستی نانوذرات اکسید آهن فلورسنت کوت‌شده با فلاوین مونونوکلئوتید را با استفاده از سه آزمون بقاء متفاوت بر روی دودمان‌های سلولی PC-3, DU-145, LnCap و سلول‌های اندوتلیالی فعال شده (HUVEC) مورد بررسی قرار داده که نتایج آنها نشان داد که فلاوین مونونوکلئوتید شاید روش مناسبی برای حفظ نانوذرات فلورسانت و افزایش میزان نشان‌دار کردن سلول‌های سرطانی و سلول‌های اندوتلیالی فعال شده باشد [۲۶]. پژوهش‌های اخیر نشان داده‌اند که روش‌های مختلف کوت کردن نانوذرات اکسید آهن موجب القاء فعالیت بیولوژیک متنوعی در نانوذرات می‌شود. Novotna و همکاران اثر نانوذرات اکسید آهن را بر روی سلول‌های مزانشیمی استرومایی مغز استخوان انسان در دو مرحله مورد بررسی قرار داده‌اند. در ابتدا سلول‌های بنیادی مزانشیمی ۷۲ ساعت در معرض نانوذرات قرار گرفتند و در مرحله بعد سلول‌ها به مدت ۷۲ ساعت در عدم حضور نانوذرات تکثیر یافتند. نتایج آنها نشان داد که سلول‌های مزانشیمی استرومایی مغز استخوان انسان به دلیل مهار قوی فعالیت تکثیری حساسیت بیشتری به اثر سمی نانوذرات اکسید آهن دارند [۲۷]. در یک مطالعه دیگر نیز اثر سمیت سلولی نانوذرات آهن سنتز شده به روش شیمیایی سل-ژل بر روی سلول‌های سرطان اپی‌تلیالی ریه انسانی A549 و سلول‌های فیروبلاست طبیعی ریوی IMR-90 مورد ارزیابی قرار گرفته است. در این پژوهش سلول‌های سرطانی و طبیعی در معرض غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسید آهن ۱ تا ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت قرار گرفتند و نتایج نشان داد که نانوذرات مگنتیت اکسید آهن به‌عنوان عوامل ضد سرطان فعالیت سمیت سلولی چشم‌گیری بر روی سلول‌های سرطان ریوی A549 داشته اما تاثیر آنها بر روی فیروبلاست‌های طبیعی چشم‌گیر نبود [۲۸]. به‌منظور اثبات مفید بودن کوت کردن نانوذرات مگنتیت، Sathishkumar و همکاران سعی بر بیوسنتز نانوذرات نقره با استفاده از عصاره *Cinnamon zeylanicum* کردند. آنها گزارش کردند که بخش‌های آلی محلول در آب در عصاره گیاهی به‌عنوان عوامل کاهنده سنتز نانوذرات نقره عمل می‌کند. غلظت  $EC_{50}$  آن در مقابل سویه BL-21 باکتری اشریشیاکلی ۱۱+۱/۷۲ میلی‌گرم بر لیتر بود که نشان‌دهنده

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که سنتز سبز نانوذرات اکسید آهن توسط جلبک قهوه‌ای موجب القاء اثرات سمی بر روی سلول‌های سرطان تخمدان مقاوم به درمان دارویی A2780cp می‌شود. با وجود درمان‌های رایج در رابطه با سرطان تخمدان، یکی از راه‌کارها جهت بهبود اثرات داروهای شیمی درمانی به‌کارگیری ترکیباتی از جمله فراورده‌های طبیعی است که ضمن کاهش عوارض جانبی بتواند تاثیر قوی بر روی سلول‌های سرطانی ایفا کند [۲۳]. در مطالعه دیگری ما نشان دادیم که جلبک قهوه‌ای گزینه مناسبی برای سنتز سبز نانوذرات اکسید آهن به‌شمار رفته و دارای اثر سمیت چشم‌گیری بر روی سلول‌های سرطانی خون است [۲۲]. وجود فراورده‌های طبیعی متنوع از نظر ساختاری همچون فیکوکلوئیدهای آگار، آلژینیک اسید و کاراگینان دارای فعالیت‌های بیولوژیک متعدد جلبک‌های دریایی را کاندید مناسبی برای کاربردهای زیست‌پزشکی می‌سازد. مطالعات اخیر این حقیقت را تأیید کرده‌اند که ترکیبات فعال زیستی حاصل از جلبک‌ها می‌تواند فرصت کشف عوامل دارویی جدید و متنوع را که در تحقیقات سرطان، تشخیص و درمان کارآمد آن حائز اهمیت است، افزایش دهند [۲۴]. در زمینه کاربرد نانوذرات اکسید آهن در درمان سرطان Ling و همکارانش نانوکریستال‌های اکسید آهن سوپرپارامگنتیت را همراه با داروی ضد سرطان دکوتاکسل استفاده کرده و کارایی آن را به‌عنوان عامل درمان سرطان مورد ارزیابی قرار دادند. اثر مهار کننده تکثیر این نانوذرات هدف‌گیری شده در سلول‌های سرطان پروستات PC3 توسط آزمون سمیت سلولی مشاهده شد.  $IC_{50}$  نانوذرات اکسید آهن استفاده شده با دکوتاکسل ۱/۴۶ و ۱/۵۷ مرتبه پایین‌تر از دکوتاکسل پس از ۴۸ و ۷۲ ساعت از تیمار بود. از این گذشته، این نانوذرات به‌تنهایی هیچ‌گونه اثر سمیت سلولی چشم‌گیری بر روی سلول‌های PC3 نشان ندادند. بنابراین، نتایج آنها نشان داد که نانوذره مذکور همراه با دارو موجب افزایش سمیت سلولی به‌صورت وابسته به دوز و زمان می‌شود که نشان‌دهنده مفید بودن دارو بر روی کارایی نانوذره سنتز شده است [۲۵]. هم‌چنین، Schweigera در سال ۲۰۱۱ نانوذرات مگنتیت اکسید آهن سنتز شده به‌روش شیمیایی رسوب‌دهی توام را با پلی‌اتیلن ایمین- پلی‌اتیلن گلیکول و پلی‌اتیلن ایمین منشعب تثبیت کرده و اثر سمیت سلولی پلیمر کوت‌کننده نانوذرات مگنتیت اکسید آهن را بر روی سلول‌های اپی‌تلیالی آدنوکارسینوما ریوی A549 مورد بررسی قرار دادند. یافته‌های آنها نشان داد که ترکیب پلی‌اتیلن آمین و نانوذرات اکسید آهن در مقایسه با پلیمر پلی‌اتیلن آمین سمیت سلولی چشم‌گیری را ایجاد

## نتیجه‌گیری

در این مطالعه یافته‌های حاصل از آزمون سمیت سلولی نشان داد که نانوذرات اکسید آهن کوت‌شده با عصاره آبی جلبک قهوه‌ای *Sargassum muticum* دارای اثر سمیت وابسته به دوز و زمان بر روی سلول‌های سرطان تخمدان A2780cp بوده و باعث ایجاد آپوپتوز در آنها می‌شود.

## تشکر و قدردانی

از همکاران محترم مرکز تحقیقاتی بیولوژی کاربردی پژوهشکده خوارزمی که در اجرای این پژوهش همکاری داشتند صمیمانه سپاسگزاریم.

فعالیت ضد باکتریایی این نانوذرات بود [۲۹]. در رابطه با کاربرد فراورده‌های طبیعی فلور دریایی در ترکیب با نانوذرات به-خصوص جلبک دریایی El-Rafiea و همکاران از پلی‌سا-کاریدهای محلول در آب استخراج شده از جلبک دریایی به-عنوان عوامل کاهنده برای سنتز نانوذرات نقره استفاده کردند. این پژوهشگران اثر ضد میکروبی را مورد بررسی قرار داده و نشان دادند که نوع درمان، گونه جلبک و ضخامت نانوذره سنتز شده مهمترین عامل در میزان فعالیت ضد میکروبی است [۳۰] که هم راستا با نتایج به‌دست آمده در این پژوهش نشان‌دهنده کارایی بالای فراورده‌های طبیعی دریایی برای سنتز پایدار نانوذرات می‌باشد.

## References:

- [1] Deraco M, Virzi S, Iusco DR, Puccio F, Macri A, Famulari C, et al. Secondary cytoreductive surgery and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy for recurrent epithelial ovarian cancer: a multi-institutional study. *BJOG* 2012; 119(7): 800-9.
- [2] Kim PS, Djazayeri S, Zeineldin R. Novel nanotechnology approaches to diagnosis and therapy of ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 2011; 120(3): 393-03.
- [3] Wang LS, Chuang MC, Ho JA. Nanotheranostics-a review of recent publications. *Int J Nanomedicine* 2012; 7: 4679-95.
- [4] Mahdavi M, Ahmad MB, Haron MJ, Namvar F, Nadi B, Rahman MZ, et al. Synthesis, Surface Modification and Characterisation of Biocompatible Magnetic Iron Oxide Nanoparticles for Biomedical Applications. *Molecules* 2013; 18(7): 7533-48.
- [5] Mahdavi M, Namvar F, Ahmad MB, Mohamad R. Green Biosynthesis and Characterization of Magnetic Iron Oxide (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) Nanoparticles Using Seaweed (*Sargassum muticum*) Aqueous Extract. *Molecules* 2013; 18(5): 5954-64.
- [6] Santhosh PB, Ulrich NP. Multifunctional superparamagnetic iron oxide nanoparticles: promising tools in cancer theranostics. *Cancer Lett* 2013; 336(1): 8-17.
- [7] Suh WH, Suslick KS, Stucky GD, Suh YH. Nanotechnology, nanotoxicology, and neuroscience. *Prog Neurobiol* 2009; 87(3): 133-70.
- [8] Kumar CS, Mohammad F. Magnetic nanomaterials for hyperthermia-based therapy and controlled drug delivery. *Adv Drug Deliv Rev* 2011; 63(9): 789-808.
- [9] Schweiger C, Pietzonka C, Heverhagen J, Kissel T. Novel magnetic iron oxide nanoparticles coated with poly(ethylene imine)-g-poly(ethylene glycol) for potential biomedical application: synthesis, stability, cytotoxicity and MR imaging. *Int J Pharm* 2011; 408(1-2): 130-7.
- [10] Dias AM, Hussain A, Marcos AS, Roque AC. A biotechnological perspective on the application of iron oxide magnetic colloids modified with polysaccharides. *Biotechnol Adv* 2011; 29(1): 142-55.
- [11] Kharisova OV, Rasika Dias HV, Kharisov BI, Olvera Perez B, Jimenez Perez VM. The greener synthesis of nanoparticles. *Trends Biotechnol* 2013; 31(4): 240-8.
- [12] Hasna AS, Rajiv P, Kamaraj M, Jagadeeswaran P, Sangeetha G, Rajeshwari S. Plants: Green Route for Nanoparticle Synthesis. *Inter Res J Biological Sci* 2012; 1(5): 85-90.
- [13] Mittal AK, Chisti Y, Banerjee UC. Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts. *Biotechnol Adv* 2013; 31(2): 346-56.
- [14] Thakur NL, Jain R, Natalio F, Hamer B, Thakur AN, Müller WE. Marine molecular biology: An emerging field of biological sciences. *Biotechnol Adv* 2008; 26(3): 233-45.
- [15] Sithranga Boopathy N, Kathiresan K. Anticancer Drugs from Marine Flora: An Overview. *J Oncol* 2010; 2010: 214186.
- [16] Namvar F, Tahir PM, Mohamad R, Mahdavi M, Abedi P, Fathi Najafi T SRH, et al. Biomedical Properties of Edible Seaweed in Cancer Therapy and Chemoprevention Trials: A Review. *Nat Prod Commun* 2013; 8(12): 1811-20.
- [17] Wada K, Nakamura K, Tamai Y. Seaweed intake and blood pressure levels in healthy pre-school Japanese children. *Nutr J* 2011; 10: 83-8.
- [18] Zuercher AW, Fritsché R, Corthésy B, Mercenier A. Food products and allergy development, prevention and treatment. *Curr Opin Biotechnol* 2006; 17(2): 198-03.
- [19] Namvar F, Mohamad R, Baharara J, Zafar-Balanejad S, Fargahi F, Sulaiman Rahman H.

Antioxidant, Antiproliferative, and Antiangiogenesis Effects of Polyphenol-Rich Seaweed (Sargassum muticum). *Biomed Res Int* 2013; 1-9.

[20] Namvar F, Baharara J, Mahdi AA. Antioxidant and Anticancer Activities of Selected Persian Gulf Algae. *Indian J Clin Biochem* 2014; 29(1): 13-20.

[21] Mohamed S, Hashim SN, Abdul Rahman H. Seaweeds: A sustainable functional food for complementary and alternative therapy. *Trends Food Sci Technol* 2012; 23(2): 83-96.

[22] Namvar F, Sulaiman Rahman H, Mohamad R, Baharara J, Mahdavi M, Amini E, et al. Cytotoxic effect of magnetic iron oxide nanoparticles synthesized via seaweed aqueous extract. *Int J Nanomedicine* 2014; 9: 2479-88.

[23] Zhang Y, Wang C, Wang H, Wang K, Du Y, Zhang J. Combination of Tetrandrine with cisplatin enhances cytotoxicity through growth suppression and apoptosis in ovarian cancer in vitro and in vivo. *Cancer Lett* 2011; 304(1): 21-32.

[24] Liu M, Hansen PE, Lin X. Bromophenols in marine algae and their bioactivities. *Mar Drugs* 2013; 9(7): 1273-92.

[25] Ling Y, Wei K, Luo Y, Gao X, Zhong S. Dual docetaxel / superparamagnetic iron oxide loaded nanoparticles for both targeting magnetic resonance imaging and cancer therapy. *Biomaterials* 2011; 32(39): 7139-50.

[26] Jayapaul J, Hodenius M, Arns S, Lederle W, Lammers T, Comba P, et al. FMN-coated fluorescent iron oxide nanoparticles for RCP-mediated targeting and labeling of metabolically active cancer and endothelial cells. *Biomaterials* 2011; 32(25): 5863-71.

[27] Novotna B, Jendelova P, Kapcalova M, Rossner PJ, Turnovcova K, Bagryantseva Y, et al. Oxidative damage to biological macromolecules in human bone marrow mesenchymal stromal cells labeled with various types of iron oxide nanoparticles. *Toxicol Lett* 2012; 210(1): 53-63.

[28] Imran Khan M, Mohammad A, Patil G, Naqvi SAH, Chauhan LKS, Ahmad I. Induction of ROS, mitochondrial damage and autophagy in lung epithelial cancer cells by iron oxide nanoparticles. *Biomaterials* 2012; 33(5): 1477-88.

[29] Sathishkumar M, Sneha K, Won SW, Cho C, Kim S, Yun YS. Cinnamon zeylanicum bark extract and powder mediated green synthesis of nanocrystalline silver particles and its bactericidal activity. *Colloids Surf B Biointerfaces* 2009; 73(2): 332-8.

[30] El-rafie HM, El-rafie MH, Zahran MK. Green synthesis of silver nanoparticles using polysaccharides extracted from marine macro algae. *Carbohydr Polym* 2013; 96(2): 403-10.