



Comparison of the anticancer effects of cerium nanoparticles produced by two methods, sol-gel and green synthesis by aqueous extract of *Xanthium strumarium* leaves, on the breast cancer cell line MDA-MB-231

Tayyebi khorrani F^a, Hanachi P^{* b}, Mamani L^{* c}, Ramezani R^d, Heidari koholi N^e

^a Master in Biophisic, Department of Biotechnology, Faculty of Biological Sciences, Alzahra University, Tehran, Iran.

^b Associate Professor of Biochemistry, Department of Biotechnology, Faculty of Biological Sciences, Alzahra University, Tehran, Iran.

^c Assistant Professor, Department of Nanotechnology, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran, Karaj, Iran

^d Assistant Professor of Biotechnology, Department of Family Therapy, Women Research Center, Alzahra University, Tehran, Iran.

^e PhD student in microbial Biotechnology, Department of Biotechnology, Faculty of Biological Sciences, Alzahra University, Tehran, Iran.

Original Article

Use your device to scan and read the article online



Citation: Tayyebi khorrani F, Hanachi P, Mamani L, Ramezani Rd, Heidari koholi N. Comparison of the anticancer effects of cerium nanoparticles produced by two methods, sol-gel and green synthesis by aqueous extract of *Xanthium strumarium* leaves, on the breast cancer cell line MDA-MB-231. Journal of Cell and Tissue. 2025; 16(1): 90-112.

<https://doi.org/10.61882/JCT/16..1.90>

KEYWORDS

Breast cancer
Cerium nanoparticle
Green synthesis
Sol-gel
Xanthium strumarium

EXTENDED ABSTRACT

Introduction: Metal nanoparticles exhibit a broad range of properties and have made substantial contributions to the field of biomedicine, particularly concerning targeted drug delivery systems. These nanoparticles function effectively as carriers for a variety of therapeutic agents, including but not limited to antibodies, nucleic acids, chemotherapeutic agents, and peptides. Metals such as silver, gold, zinc, copper, and cerium display remarkable optical characteristics that augment their functional capabilities. Furthermore, their surfaces can be readily modified via hydrogen bonding, covalent bonding, or electrostatic interactions, facilitating their application with bioactive molecules for specific targeting endeavors. The advancement of numerous nanomedicines aimed at tumor treatment has underscored the potential of cerium oxide nanoparticles (CONPs) as a viable therapeutic agent in oncological therapy. Empirical studies suggest that CONPs possess cytotoxic properties against neoplastic cells, inhibit their invasiveness, and enhance their susceptibility to radiation and chemotherapeutic interventions. Additionally, CONPs exhibit minimal toxicity to healthy tissues and contribute to the reduction of reactive oxygen species (ROS) production. *Xanthium strumarium*, despite its high toxicity, is acknowledged for its medicinal properties. All

* Corresponding author: Tel.: 021-8844040 Fax: 021-88058912

E-mail address: p.hanachi@alzahra.ac.ir, leila.mamani@abii.ac.ir

DOI: <https://doi.org/10.61882/JCT/16.1.90>

Received: 15 Feb. 2025; Received in revised form: 25 Mar. 2025; Accepted: 3 Apr. 2025

Original Article

© Author



constituents of the plant contain toxic compounds in varying concentrations and are utilized in the treatment of various ailments, including malaria, cancer, rheumatism, arthritis, tuberculosis, and respiratory allergies, in addition to their analgesic effects. Its roots, fruits, leaves, and other aerial parts possess significant medicinal value. The technique of green synthesis, which employs natural extracts, is utilized for the production of metal or metal oxide nanoparticles.

Aim: The objective of this research is to examine the impact of cerium oxide nanoparticles synthesized through sol-gel and green synthesis techniques utilizing *Xanthium strumarium* extract on MDA-MB-231 cancer cells.

Materials and Methods: For the green synthesis approach, Zardineh plants, specifically *Xanthium* classified under the *strumarium* category with the ALUH 38785 code, were collected from regions adjacent to the Alborz mountains. The leaves of the plant were separated and ground into a fine powder. The resulting powder was extracted and purified using a reflux method. This extract served as a reducing agent for cerium nitrate metal ions. In the sol-gel method, cerium nitrate and cetyltrimethylammonium bromide were used. Characterization of the nanoparticles was conducted using FTIR, EDAX, SEM, and AFM techniques. Furthermore, the MTT assay was used to assess and compare the cytotoxic effects of cerium oxide nanoparticles synthesized on MDA-MB-231 cancerous cells.

Results: AFM analysis indicated that the size of the green synthesized nanoparticles was 10 and Sol-gel method nanoparticles were 13 nm. SEM and EDAX analysis revealed that the synthesized cerium nanoparticles exhibited a nearly spherical shape, with those produced via the sol-gel method showing uniform accumulation and dispersion. The MTT assay results demonstrated that the cytotoxic effect of cerium oxide nanoparticles synthesized on MDA-MB-231 cancerous cells increased with both time and concentration. Notably, the lethal effect of nanoparticles synthesized through the green method was found to be more pronounced than nanoparticles produced via the sol-gel method.

Conclusion: Cerium oxide nanoparticles (CONPs) exert toxicity in cancerous cells, inhibit invasion, and enhance the sensitivity of cancerous cells to radiotherapy and chemotherapy. The green synthesis method uses biological extracts, such as plant materials, in place of industrial chemical agents to reduce metal ions and generate valuable nanoparticles. This approach offers several advantages over traditional chemical synthesis, including cost-effectiveness, reduced environmental pollution, and improved safety for both the environment and human health.



مقایسه اثر ضد سرطانی نانوذرات سریوم تولید شده به روش سل-ژل و روش سنتز سبز با استفاده از عصاره آبی برگ گیاه زردینه (*Xanthium strumarium*) بر روی سلول‌های سرطان پستان رده MDA-MB-231

فاطمه طیبی خرمی^۱، پریچهر حناچی^{۲*}، لیلا مامنی^{۳*}، ریحانه رضانی^۴، نسترن حیدری کهلی^۵

^۱ کارشناس ارشد، گروه بیوتکنولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه الزهرا، تهران، ایران

^۲ دانشیار بیوشیمی، گروه بیوتکنولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه الزهرا، تهران، ایران P.hanachi@alzahra.ac.ir

^۳ استادیار بخش تحقیقات نانوتکنولوژی، پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی، کرج، البرز Leila.mamani@abrii.ac.ir

^۴ استادیار گروه خانواده درمانی، پژوهشکده زنان، دانشگاه الزهرا، تهران، ایران Re.ramezani@alzahra.ac.ir

^۵ دانشجوی دکتری رشته بیوتکنولوژی میکروبی، گروه بیوتکنولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه الزهرا، تهران، ایران

واژگان کلیدی	چکیده
گیاه زردینه (<i>Xanthiumstrumarium</i>) سنتز سبز نانوذرات سریوم سل-ژل سرطان پستان	هدف: بررسی اثر نانوذرات سریوم ساخته شده به دو روش سل - ژل و زیستی با استفاده از عصاره گیاه زردینه بر روی سلول سرطانی رده MDA-MB-231. مواد و روش‌ها: از گیاه زردینه، با نام علمی <i>Xanthium strumarium</i> و در رده <i>Strumarium</i> با کد ALUH 38785، استفاده شد. برگ گیاه جدا و خشک شد سپس پودر شد و به روش رفلاکس عصاره‌گیری و خالص شد. این عصاره برای کاهش یون فلزی سریوم نیترات استفاده شد. برای روش سل - ژل از نیترات سریوم و ستیل تری متیل آمونیوم بروماید استفاده شد. دستگاه‌های RITF، MES، XADE و MFA برای بررسی ویژگی‌های نانوذرات سنتز شده استفاده شدند. همچنین تست TTM برای بررسی و مقایسه میزان کشندگی نانوذرات سنتز شده بر روی سلول سرطانی MDA-MB-231 مورد استفاده قرار گرفت. نتایج: اندازه نانوذرات سبز در آنالیز MFA با میانگین ۱۰ نانومتر و سل-ژل ۱۳ بود و در آنالیز XADE و MES شکل نانوذرات سریوم سنتز شده در هر دو روش تقریباً کروی مشاهده شد. نتایج TTM نشان دادند که با افزایش زمان و افزایش غلظت، اثر کشندگی افزایش می‌یابد. علاوه بر این، مشخص شد که تاثیر کشندگی نانوذرات سنتز شده به روش سبز بر روی سلول‌های MDA-MB-231 بیشتر از تاثیر نانوذرات تهیه شده به روش سل-ژل می‌باشد. نتیجه‌گیری: spNeCها برای سلول‌های سرطانی سمی هستند، از تهاجم جلوگیری می‌کنند و سلول‌های سرطانی را به پرتودرمانی و شیمی‌درمانی حساس می‌نمایند. سنتز سبز نانوذرات با استفاده از عصاره‌های گیاهی سودمندتر از استفاده از عوامل شیمیایی است، زیرا هزینه کم‌تری دارد، آلودگی را کاهش می‌دهد و ایمنی محیط زیست و سلامت انسان را بهبود می‌بخشد.
تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۱/۲۷	
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۴/۰۱/۰۵	
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۲/۰۳	

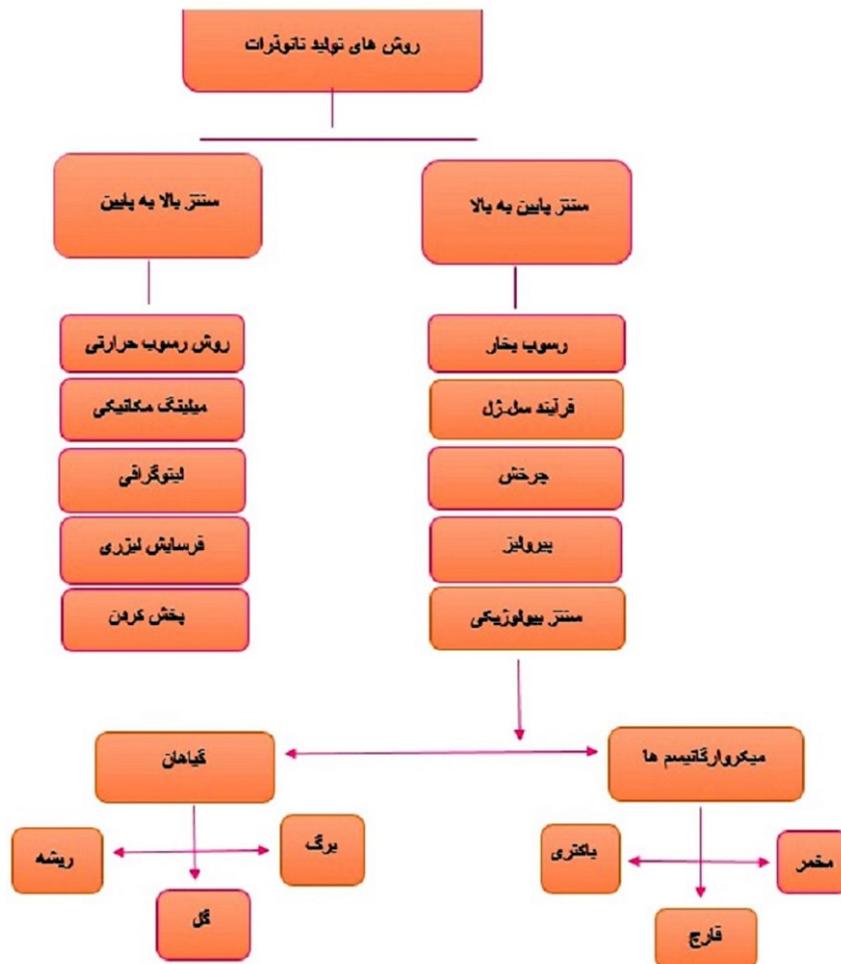
۱- مقدمه

واژه «نانو» از کلمه لاتین به معنای «کوتوله» گرفته شده است که نشان‌دهنده یک میلیاردم واحد است، یعنی نانومتر یک میلیارد متر است. نانو تکنولوژی یک علم، فناوری و کار مهندسی است که در مقیاس نانو بین ۱ تا ۱۰۰ نانومتر انجام می‌شود. فناوری نانو شامل مطالعه و کاربرد ساختارهای بسیار کوچک است که می‌توانند در زمینه‌های مختلف علمی از جمله زیست‌شناسی، علم مواد، فیزیک، شیمی و مهندسی مورد استفاده قرار گیرند (۱). در واقع واژه نانو تکنولوژی عمدتاً در زمینه‌های علمی مانند الکترونیک، فیزیک و مهندسی در دهه‌های گذشته مورد استفاده قرار می‌گرفت که بعداً به حوزه‌های زیست‌پزشکی و دارویی گسترش یافته است. کاهش اندازه یک عملیات اساسی با کاربردهای قابل توجه در توسعه دارو است. مطالعات اخیر بر روی سیستم‌های زیستی در مقیاس نانو و پیشرفت‌های نانو تکنولوژی، ارتباطات پویا را در رشته‌های مختلف مانند علوم فیزیکی، مهندسی مولکولی، زیست‌شناسی، زیست‌فناوری و پزشکی تقویت کرده است. این زمینه به درک عمیق‌تر سیستم‌های زنده، پیشرفت‌ها در فرآیندهای بیوتکنولوژیکی، ساخت داروهای جدید، و تحویل هدفمند آن‌ها، و همچنین پیشرفت در مهندسی پزشکی کمک کرده است. با توجه به مزایای متعدد آن، انتظار می‌رود پذیرش فناوری نانو در آینده افزایش یابد. کاهش ذرات دارو به سطوح زیر میکرون به طور قابل توجهی سرعت انحلال را افزایش می‌دهد و در نتیجه فراهمی زیستی را بهبود می‌بخشد. تحویل هدفمند دارو به بافت‌های بیمار جنبه مهمی از سیستم‌های دارورسانی مدرن است. نانوداروها در بدن برای محدود کردن دسترسی دارو به مکان‌های خاص و اطمینان از انتشار کنترل‌شده و پایدار در این مکان‌ها استفاده شده‌اند. پلیمرهای مختلفی در فرمولاسیون نانوذرات در تحقیقات تحویل دارو به منظور افزایش کارایی درمان و در عین حال به حداقل رساندن عوارض جانبی وارد شده است (۲، ۳).

نانوسیستم‌های دارویی شامل نانولوله‌های کربنی (۴)، نقاط کوانتومی (۵)، دندیم‌ها (۶)، نانوذرات پلیمری (۷) و نانوذرات فلزی هستند. نانوذرات فلزی طیف وسیعی از خواص را از خود نشان می‌دهند و راه را برای پیشرفت‌های متعدد، به‌ویژه در سیستم‌های دارورسانی هدفمند هموار کرده‌اند. مساحت بزرگ سطح نانوذرات فلزی به دلیل واکنش‌پذیری بیشتر، آن‌ها را به کاندیدای ایده‌آل برای سیستم‌های دارورسانی تبدیل کرده است (۸). این نانوذرات به طور گسترده به عنوان حامل‌های دارویی برای عوامل درمانی مختلف از جمله آنتی‌بادی‌ها، اسیدهای نوکلئیک، داروهای شیمی‌درمانی، پپتیدها و غیره مورد استفاده قرار می‌گیرند. تحقیقات نشان می‌دهد فلزاتی مانند نقره (۹)، طلا (۸)، پالادیوم (۱۰)، مس (۱۱)، تیتانیوم (۱۲)، روی (۱۳) و سریم (۱۴) دارای خواص نوری قابل توجهی هستند که کارایی آن‌ها را به عنوان حامل‌های دارویی افزایش می‌دهد. علاوه بر این، سطوح آن‌ها را می‌توان به راحتی از طریق پیوند هیدروژنی، پیوند کووالانسی، و برهمکنش‌های الکترواستاتیکی عامل‌دار کرد که این کار به آن‌ها اجازه می‌دهد به عنوان ملکول‌های زیستی فعال با کاربرد هدف‌گیری انتخابی و انتقال دارو استفاده گردند (۱۵).

روش‌های مختلفی برای سنتز نانوذرات وجود دارد. این روش‌ها را می‌توان به دو شاخه کلی روش‌های بالا به پایین و پایین‌به‌بالا دسته‌بندی کرد. شکل ۱ انواع روش‌های تولید نانوذرات را نشان می‌دهد.

روش بالا به پایین با مواد با اندازه بزرگ‌تر شروع می‌شود که اندازه آن‌ها با روش‌هایی مانند برش‌دادن، تکه‌تکه شدن یا شکستن کاهش می‌یابد. در طی این فرایندها، انرژی حرارتی، مکانیکی یا شیمیایی برای تبدیل مواد به نانوذرات استفاده می‌شود. از این روش برای تولید حجم زیادی از نانوذرات استفاده می‌شود؛ اما نسبت به روش‌های از پایین به بالا غیرقابل کنترل هستند. استفاده از آسیاب گلوله‌ای، روش‌های فرسایش لیزری و تجزیه حرارتی نمونه‌ای از روش بالا به پایین تولید نانوذرات هستند.



شکل ۱: انواع روش های تولید نانوذرات (۱۶)

روش آسیاب گلوله‌ای: آسیاب گلوله‌ای یک روش آسیاب است که نانولوله‌ها را به پودرهای بسیار ریز تبدیل می‌کند. در طی فرایند آسیاب گلوله‌ای، در برخورد بین گوی‌های سفت و ریز فشار بالایی ایجاد می‌شود که عمل سایش را انجام می‌دهد. به‌منظور بهبود پراکندگی یکنواخت ذرات و ایجاد گروه‌های عاملی بر روی سطح نانولوله، می‌توان مواد شیمیایی انتخابی را در طی این فرایند در ظرف آسیاب گنجانند. عواملی که بر کیفیت پراکندگی تاثیر می‌گذارند عبارت است از: زمان آسیاب، سرعت چرخش، اندازه گلوله‌ها. در شرایط خاص فرایند، ذرات را می‌توان تا ۱۰۰ نانومتر آسیاب کرد.

روش فرسایش لیزری: فرسایش لیزری یک تکنیک ساده برای تولید نانوذرات با استفاده از محلول‌های مختلف است. در این روش، یک پرتو لیزر به‌سمت فلزات غوطه‌ور در یک محلول هدایت می‌شود که منجر به انتشار پلاسمای متراکم و متعاقب آن تشکیل نانوذرات می‌گردد. نانوذرات تولید شده از طریق این فرایند عموماً بسیار پایدار هستند و به محلول‌های اضافی یا عوامل تثبیت‌کننده نیاز ندارند. استفاده از این روش بالا به پایین برای تولید نانوذرات بسیار کمک‌کننده و سودمند است.

روش تجزیه حرارتی: این روش یک فرایند گرمازا است که در آن تجزیه توسط گرما انجام می‌شود، جایی که پیوندهای شیمیایی در ساختار ماده توسط گرما شکسته می‌شود. دمای تجزیه را می‌توان به‌عنوان دمایی که در آن عناصر از نظر شیمیایی شکسته می‌شوند تعریف کرد؛ بنابراین، طبق این تعریف، نانوذرات حاصل تجزیه شیمیایی فلزات در دمای معینی هستند (۱۶). روش‌های پایین به بالا نیز از جمله روش‌های سنتز نانوذرات به‌شمار می‌روند و به آن روش‌های سازنده نیز می‌گویند.

روش‌های پایین به بالا شامل سرهم کردن سازه‌های کوچک‌تر و تشکیل ساختارهای بزرگ‌تر تحت شرایط خاص است. در این رویکرد، نانوساختارها از ترکیب اتم‌ها یا مولکول‌های منفرد تشکیل می‌شوند. به‌طور کلی، دو روش اساسی در رویکرد پایین به بالا استفاده می‌شود: سنتز فاز گازی و تشکیل فاز مایع. برخی از روش‌های مورد استفاده در رویکرد پایین به بالا شامل فرایند رسوب بخار شیمیایی، پیرولیز، روش سل - ژل، و سنتز سبز است.

رسوب بخار شیمیایی: این روش شامل قراردادن یک لایه‌نازک از واکنش‌دهنده‌های گازی بر روی یک بستر در یک محفظه شیمیایی است. این فرایند از طریق یک واکنش شیمیایی رخ می‌دهد، جایی که گازها با یک بستر گرم شده تعامل دارند. این واکنش منجر به تشکیل یک لایه‌نازک بر روی سطح بستر می‌شود که سپس برای استفاده جمع‌آوری می‌شود. یکی از مزایای کلیدی این روش توانایی آن در تولید نانوذرات سخت، بادوام، همگن و بسیار خالص است. با این حال، یک اشکال قابل توجه تولید گازهای بسیار سمی یا محصولات جانبی خاص در طول فرایند است.

روش پیرولیز: متداول‌ترین روش برای سنتز نانوذرات، پیرولیز است. در این روش سنتز، پیش‌ساز نانوذرات توسط شعله سوزانده می‌شود. این پیش‌ماده می‌تواند در فاز مایع یا گاز باشد. پیش‌ساز به یک کوره با فشار بالا منتقل می‌شود و نانوذرات بازیافت می‌شوند. استفاده از لیزرهای زمان‌دار یا پلاسما به‌جای شعله، دمای بسیار بالایی ایجاد می‌کند که باعث می‌شود مواد به‌راحتی تبخیر شوند. از مهم‌ترین مزایای این روش می‌توان به کارآمد بودن، اقتصادی بودن، ساده بودن و فرایند پیوسته با راندمان بسیار بالا اشاره کرد.

روش سل - ژل: فرایند سل - ژل یک روش شیمیایی تر (روش شیمیایی مرطوب) است که برای سنتز نانوساختارهای مختلف به‌ویژه نانوذرات اکسید فلز استفاده می‌شود. روش ساخت سل - ژل به دو دسته محلول و نامحلول تقسیم می‌شوند. روش‌های نامحلول دارای مزیت‌هایی نسبت به روش‌های محلول هستند. برای مثال افزایش کریستالینه شدن در ساختار نانوذرات و یا کاربرد در تولید گستره وسیعی از ترکیبات ساختاری محصول تولید شده را می‌توان به‌عنوان دو نمونه از مزیت‌های نانوذرات تولید شده ذکر کرد. مسیر سل - ژل غیرمحلول شامل واکنش پیش‌ماده‌هایی مانند هالید فلزی، استات فلزی، استیل استون فلزی و آلکوکسید فلزی با حلال‌های آلی و یا مخلوطی از حلال‌های آلی با سورفاکتانت است که این واکنش با گرمادهی در محدوده دمایی ۰.۵ تا ۰.۵۲ درجه سانتی‌گراد همراه است بر اساس درجه حرارت واکنش، می‌توان از حمام روغن، اتوکلاو و یا رآکتور مایکروویو استفاده کرد. در این روش، یک پیش‌ساز مولکولی (معمولاً یک آلکوکسید فلز) در آب یا الکل حل می‌شود و از طریق حرارت دادن و هم زدن، تحت هیدرولیز و متراکم شدن قرار می‌گیرد تا ژل تشکیل شود. از آنجایی که ژل به‌دست‌آمده از فرایند هیدرولیز/تراکم مرطوب است، باید با استفاده از روش‌های مناسب بر اساس خواص و کاربردهای مورد نظر خشک شود. پس از خشک شدن، ژل‌های به‌دست آمده به‌صورت پودر در آمده و سپس کلسینه می‌شوند. روش سل - ژل مقرون به صرفه است و به دلیل دمای پایین واکنش، کنترل عالی بر روی ترکیب شیمیایی محصولات ایجاد می‌کند. یک روش تکنیکی است که به‌طور گسترده در صنعت برای سنتز نانوذرات با ترکیبات شیمیایی متنوع مورد استفاده قرار می‌گیرد. نکته اصلی روش سل - ژل شامل تولید یک سل همگن از پیش‌سازها و تبدیل آن به ژل است. پس از آن، حلال داخل ژل حذف می‌شود و ژل خشک شده باقی می‌ماند. خواص ژل خشک شده به‌طور قابل توجهی به روش خشک کردن اعمال شده بستگی دارد (۱۶).

سنتز سبز: سنتز سبز روشی است که از عصاره‌های طبیعی برای تولید نانوذرات فلزی یا اکسید فلزی استفاده می‌کند. نانوذرات تولید شده از طریق سنتز سبز به‌طور قابل توجهی با نانوذرات تولید شده از طریق روش‌های فیزیکی یا شیمیایی متفاوت است. سنتز سبز از یک رویکرد پایین به بالا پیروی می‌کند، شبیه به کاهش شیمیایی که در آن یک عامل کاهنده شیمیایی گران‌قیمت با یک عصاره طبیعی، مانند برگ درختان یا محصولات کشاورزی جایگزین می‌شود. تولید نانوذرات سازگار

با محیط زیست و غیرسمی برای اکوسیستم از اهمیت بالایی برخوردار است. در نتیجه، تحقیقات به طور فزاینده‌ای به سمت توسعه نانوذرات بدون استفاده از هیچ‌گونه ماده شیمیایی در پروتکل‌های تولید آن‌ها هدایت می‌شود. این تغییر منجر به تمرکز فزاینده بر روش‌های بیولوژیکی برای سنتز نانوذرات شده است. گیاهان منبع ارزشمندی برای استخراج داروهای طبیعی برای درمان بیماری‌های مختلف در نظر گرفته می‌شوند. استفاده از محصولات گیاهی برای اهداف دارویی به طور پیوسته در حال افزایش است، به طوری که تقریباً ۸۰ درصد از افراد در کشورهای توسعه یافته به داروهای سنتی یا مشتق شده از گیاهان متکی هستند. در دهه گذشته، مطالعات متعدد در کشورهای مختلف پتانسیل بسیاری از گیاهان دارویی را نشان داده است. بیوسنتز نانوذرات به‌عنوان یک جایگزین مقرون‌به‌صرفه و سازگار با محیط زیست برای روش‌های فیزیکی و شیمیایی مرسوم ظاهر شده است. سنتز نانوذرات با واسطه گیاهان یک رویکرد شیمی سبز است که فناوری نانو را با گیاهان مرتبط می‌کند (۱۶-۱۸).

علی‌رغم وجود آنتی‌اکسیدان‌های مختلف در پلاسما سیستم دفاعی که بدن ایجاد می‌کند نمی‌تواند رادیکال‌های آزادی که در بدن ایجاد می‌شود را از بین ببرد، هم‌چنین توانایی از بین بردن همه‌ی سلول‌های سرطانی با این مکانسیم ایمنی امکان‌پذیر نمی‌باشد. آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی موجود در گیاه زردینه می‌تواند گزینه‌ی مناسبی باشد که اثر مخرب آنتی‌اکسیدان‌های ساختگی مثل بوتیل هیدروکسی تولوئن، بوتیل هیدروکسی آنیزول، پروپیل گالات (PG) و ترت بوتیل هیدروکینون ندارد مورد استفاده قرار می‌گیرند. این ترکیبات موجود در گیاه خاصیت ضدالتهابی و ضد سرطانی دارند. گیاه زردینه با نام علمی *Xanthium strumarium* و در رده‌ی *Strumarium* با ALUH 38785 وجود دارد. این گیاه از خانواده نعناعیان است و در آسیای جنوب غربی و مرکزی رشد می‌کند. گیاهی است یکساله که در کشتزارها و دشت‌ها به‌عنوان علف هرز می‌روید. این گونه بسیار سمی جزو گیاهان دارویی محسوب می‌گردد. کلیه اندام‌های گیاه حاوی ماده سمی به نسبت‌های متفاوت است که آنرا به‌عنوان مسکن و درمان مالاریا، سرطان، رماتیسم و ورم مفاصل، سل و آلرژی‌های تنفسی استفاده می‌کنند. ریشه، میوه، دانه و دیگر اندام‌های هوایی آن کاربرد دارویی دارد (۱۹).

با توسعه نانوداروهای متعددی که برای درمان تومور طراحی شده‌اند، قابلیت‌های کاربردی نانوذرات اکسید سریوم محققان را تشویق کرده است تا از آن‌ها به‌عنوان یک عامل درمانی برای درمان سرطان استفاده کنند. داده‌های تحقیقاتی نشان می‌دهد که نانوذرات اکسید سریوم اثرات سیتوتوکسیک بر سلول‌های سرطانی نشان می‌دهند، تهاجم آن‌ها را مهار می‌کنند و آن‌ها را نسبت به پرتودرمانی و شیمی‌درمانی حساس می‌کنند. سریوم در ترکیبات می‌تواند با دو ظرفیت وجود داشته باشد: $Ce^{3+}(Ce_2O_3)$ و $Ce^{4+}(CeO_2)$. وجود این انواع ظرفیت با خواص مختلف قابل استفاده برای کاتالیز و کاربردهای زیست پزشکی، به‌ویژه برای محافظت رادیویی از بافت‌های سالم در طول پرتودرمانی (Ce^{4+}) یا برای حمایت از اثر سمی درمان رادیونکولوژیکی (Ce^{3+}) مرتبط هستند (۲۰). علاوه بر این، نانوذرات اکسید سریوم حداقل سمیت را برای بافت‌های طبیعی نشان می‌دهند و به جلوگیری از تولید گونه‌های مختلف اکسیژن واکنش‌گر (ROS) کمک می‌کنند. این نانوذرات به‌عنوان یک نانودارو بالقوه برای درمان سرطان، نویدبخش هستند، همان‌طور که مطالعات فعلی با تمرکز بر نانوذرات اکسید سریوم به‌عنوان یک رویکرد درمانی نوآورانه مورد توجه است. نانوذرات اکسید سریوم که از یک هسته احاطه شده توسط یک شبکه اکسیژن تشکیل شده‌اند، پتانسیل قابل توجهی در درمان سرطان نشان می‌دهد. اکثر نانوداروها با خواص منحصر به فرد خود، با افزایش سطح ROS و هدف قرار دادن هسته‌ها و اندامک‌های سلولی، باعث مرگ سلول‌های سرطانی می‌شوند. با اصلاح ریزمحیط سلول سرطانی و استروما، این نانوذرات می‌توانند از رشد و متاستاز سلول‌های سرطانی جلوگیری کنند. رادیوتراپی، درحالی‌که بر روی سلول‌های سرطانی موثر است، بر سلول‌های سالم نیز تأثیر می‌گذارد و اغلب باعث جهش در بافت‌های طبیعی می‌شود. ترکیب نانوذرات اکسید سریوم در رادیوتراپی خواص آنتی‌اکسیدانی را در سلول‌های سالم افزایش می‌دهد. این ظرفیت آنتی‌اکسیدانی افزایش یافته سلول‌های

سالم را از آسیب ناشی از گونه‌های فعال اکسیژن محافظت می‌کند و ایمنی و کارایی بهتری را در طول درمان سرطان تضمین می‌کند (۲۱). همچنین در مطالعه دیگر توانایی نانوذرات اکسیدسزیم برای خنثی کردن رادیکال‌های آزاد، به‌ویژه گونه‌های اکسیژن فعال و سرکوب تولید واسطه‌های التهابی در ماکروفاژهای J774A.1 موش نشان داده شد. یافته‌ها نشان دادند که سلول‌ها به طور موثر نانوسریا (Nanoceria) را به درون خود وارد می‌کنند، این درمان غیرسمی است و استرس اکسیداتیو همراه با بیان پروتئین نیتریک اکسید سنتاز القایی پیش‌التهابی را کاهش می‌یابد. آزمایش‌های درون‌تنی تجمع نانوسریا را در بافت‌های موش بدون ایجاد اثرات بیماری‌زا نشان می‌دهند. در مجموع، این پژوهش بیان می‌کند که نانوذرات اکسید سزیم به‌خوبی در موش‌ها تحمل و در ساختارهای سلولی گنجانده می‌شوند.

علاوه بر این، نانوسریا ممکن است ظرفیت کاهش تولید ROS را در طول شرایط التهابی داشته باشد و این پتانسیل را به‌عنوان یک رویکرد درمانی جدید برای التهاب مزمن ارائه دهد (۲۲). آسیدنژاد و همکاران (۲۳) در پژوهشی با استفاده از عصاره برگ گیاه *Origanum majorana L.* و نیترات سزیم $(\text{Ce}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O})$ نانوذرات اکسید سزیم را به روش سبز ساختند و خواص آنتی‌اکسیدانتی و اثرات سیتوتوکسیک CeO-NP در سلول‌های سرطان پستان انسان (رده سلولی MDA-MB-231) و سلول‌های اندوتلیال ورید ناف انسان (HUVEC) به‌عنوان سلول‌های طبیعی مورد بررسی قرار دادند. یافته‌های این پژوهش نشان داد که نانوذرات کروی شکل به فنول و فلاونوئیدهای عصاره برگ *O. majorana L.* متصل می‌شوند. CeO-NP های سنتز شده به‌روش سبز خواص آنتی‌اکسیدانتی را از طریق مهار رادیکال‌های آزاد در برابر رادیکال‌های HPPD و ABTS نشان دادند اما این فعالیت آنتی‌اکسیدانتی به‌طور قابل‌توجهی کمتر از هیدروکسی آنیزول بوتیل به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدانت مرجع بود. همچنین اثرات سیتوتوکسیک CCeO-NP در برابر سلول‌های سرطانی MDA-MB-231 در مقایسه با سلول‌های طبیعی HUVEC بیشتر بود. علاوه بر این، این نانوذرات بیان ژن‌های کلیدی مرتبط با آنتی‌اکسیدانت‌ها مانند کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز را افزایش دادند. در نتیجه اثرات سیتوتوکسیک CeO-NPs بر روی سلول‌های سرطان پستان، در مقایسه با سلول‌های طبیعی، پتانسیل آن‌ها را به‌عنوان یک عامل ضد سرطان نشان می‌دهد. البته این اثرات نیاز به بررسی بیشتر دارد.

در پژوهش فروتن و همکاران (۲۴) نانوذرات اکسید سزیم با استفاده از عصاره برگ *Caccinia macranthera* به‌عنوان تثبیت‌کننده و عامل کاهنده و همچنین نمک نیترات سزیم به‌عنوان منبع تامین‌کننده سزیم سنتز شدند. نانوذرات با Temozolomide (TMZ) به‌عنوان یک داروی ضد سرطان از طریق تعامل الکترواستاتیک بارگذاری شدند و نانو داروی تولید شده CeO₂-TMZ به سلول‌های تومور گلیوبلاستوما چندشکلی منتقل شد. مطابق با مشاهدات، محتوای بارگذاری دارو و بازده بارگذاری دارو (CeO₂-TMZ(DLE)) به‌ترتیب حدود ۸۹.۱۰ و ۲۰.۲۹ بود. در مقایسه با داروی ZMT، نتایج بررسی‌های آزمایشگاهی فعالیت‌های ضد تکثیر بالاتر، توقف چرخه سلولی، آپوپتوزیس و بیان p53 را توسط نانوذرات نشان داد که توانایی امیدوارکننده این دارو را به‌عنوان یک عامل دارویی برای درمان سرطان ثابت می‌کند.

هدف از این تحقیق، سنتز سبز نانوذرات اکسید سزیم با استفاده از عصاره گیاه زردینه و روش سل - ژل و بررسی اثرات ضدسرطانی آن‌ها بر روی سلول‌های سرطانی رده MDA-MB-231 است.

۲- مواد و روش‌ها

تهیه عصاره گیاه زردینه: گیاه زردینه از نزدیکی کوه‌های البرز جمع‌آوری شد. این گیاه با نام علمی *Xanthium strumarium* و در رده *Strumarium* با کد ALUH 38785 وجود دارد. این گیاه پس از شسته شدن به‌مدت دو هفته در هوای

آزاد و دمای اتاق قرار گرفت تا خشک شود. پس از خشک شدن کامل، برگ‌ها از گیاه جدا شدند. سپس توسط آسیاب برقی صنعتی برگ‌ها به‌طور کامل پودر شدند. از این پودرها برای عصاره‌گیری به‌روش رفلاکس استفاده شد. به این‌صورت که اول ۵ گرم از پودر با ترازو وزن شد و سپس با ۱۵۰ میلی‌لیتر آب درون بالن سربسته با فویل (برای جلوگیری از تبخیر آب درون عصاره) روی هیتر استیرر با دمای ۸۰ درجه‌ی سانتی‌گراد و دور ۱۴۰۰ دور بر دقیقه قرار گرفت. گرمادهی و هم‌زدن به‌مدت دو ساعت به طول انجامید. هم‌زدن به این دلیل بود که دما یکنواخت در مایع توزیع شود و پودر گیاه درون بالن رسوب نکند و عصاره‌گیری به‌خوبی انجام گیرد. بعد از تهیه عصاره، ناخالصی آن به‌وسیله‌ی پمپ خلأ صاف شد و عصاره خالص و شفاف به‌دست آمد.

تهیه نانوذرات سریوم به روش زیستی: مقدار ۵۰۰ میلی‌گرم سریوم نیترات را در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر بدون دما دهی حل شد. در نهایت میزان ۲۰ میلی‌لیتر عصاره به این محلول اضافه شد سپس به‌مدت دو ساعت و نیم، در دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد و دور ۱۴۰۰ rpm رفلاکس شدند. سپس ترکیب به‌دست‌آمده در فالکن ریخته شد و با دور ۵۰۰۰ دور بر دقیقه به‌مدت زمان ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد و عصاره رویی دور ریخته شد. فالکن‌هایی که رسوب در آن‌ها وجود داشت به‌مدت ۲۴ ساعت در آن خلا قرار داده شد تا آب‌گیری آن به‌طور کامل انجام شود. پس از خشک شدن کامل، رسوب‌ها درون بوتله چینی قرار گرفتند و سپس به کوره با دمای ۵۰۰ درجه سانتی‌گراد انتقال یافتند. پس از گذشت ۲ ساعت کوره خاموش و پس از سرد شدن کوره بوتله چینی‌ها خارج شدند. رسوب با هاون به‌طور کامل آسیاب شد تا به‌صورت پودر شوند. این کار سه بار تکرار شد

تهیه نانوذرات سریوم به روش سل - ژل: ۱۰ میلی‌گرم Cetyltrimethylammonium bromide) در ۲.۷۴ میلی‌لیتر آب مقطر حل شد، پس از حل شدن کامل ۱۰ میلی‌لیتر آمونیاک ۲۵ درصد به آن اضافه شد سپس ۴۶۵ میلی‌گرم سریوم نیترات حل شده در ۱۰ میلی‌لیتر آب به آن اضافه شد. سپس، محلول به‌دست‌آمده را درون بشر ریخته شد، روی هیتر استیرر به‌مدت دو ساعت قرار گرفت و دمای آن خاموش شد (در این مرحله به محلول دما داده نشد و آزمایش در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، دمای اتاق، انجام شد) دور هیتر استیرر روی ۱۴۰۰ تنظیم شد. سپس به‌مدت ۳۰ دقیقه در حالت سکون قرار گرفت. تغییر رنگ پس از گذر زمان از رنگ سفید به شیری مشاهده شد که نشان‌دهنده این است که نانوذرات سریوم سنتز شده است. سپس ترکیب به‌دست‌آمده درون چند تا فالکن ریخته شد و با دور ۵۵۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد تا رسوب تشکیل شود. بعد از تشکیل رسوب محلول رویی دور ریخته شد. در مرحله بعد به رسوب آب مقطر اضافه شد و فالکن هم‌زده شد تا ترکیب درون فالکن در آب مقطر حل شود و کف کند. بعد از آن دوباره سانتریفیوژ شد تا رسوب ته‌نشین شود. ریختن آب مقطر، سانتریفیوژ و خالی کردن محلول رویی رسوب در فالکن در ۵ مرحله انجام شد تا کفی که حاصل از CTAB است، به‌طور کامل شسته شود و CTAB از درون رسوب کامل خارج شود. سپس روی فالکنی که حاوی رسوب نانوذرات بود، پارافیلیم کشیده شد و روی آن سوراخ ایجاد شد و به آن خلا انتقال داده شد. رک حاوی فالکن به‌مدت ۲۴ ساعت درون آن خلا قرار گرفت تا رسوب آن به‌طور کامل خشک شود و پس از خشک شدن کامل آن به‌وسیله هاون کاملاً پودر شد.

بررسی ویژگی‌های نانوذرات: برای بررسی ویژگی‌های نانوذرات سنتز شده از روش‌های FTIR، میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM: scanning electron microscope)، EDAX و میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM: Atomic force microscopy) استفاده شد.

طیف‌سنجی فوریه - مادون قرمز (FTIR): یکی از مهم‌ترین تکنیک‌های تحلیلی که در دسترس دانشمندان امروزی است، طیف‌سنجی مادون قرمز است. طیف‌سنجی مادون قرمز این مزیت را دارد که می‌تواند تقریباً هر نمونه را در هر حالتی مطالعه کند. با روش نمونه‌برداری مناسب، مایعات، محلول‌ها، خمیرها، پودرها، فیلم‌ها، الیاف، گازها و سطوح همگی قابل آزمایش هستند. روش تبدیل فوریه فرسوخ (FTIR) نوعی طیف‌سنجی است که می‌تواند تغییرات در ترکیب کل مولکول‌های زیستی را با تعیین تغییرات در گروه‌های عاملی تشخیص دهد. ارتعاش و چرخش مولکول‌ها تحت‌تأثیر تابش مادون قرمز در یک طول موج خاص با استفاده از FTIR اندازه‌گیری می‌شود. این روش تفاوت‌های ساختاری در اتصالات مولکولی را شناسایی می‌کند که می‌تواند جزئیاتی را در مورد وجود برهم‌کنش‌های آن‌ها آشکار کند (۲۵).

نمونه‌های پودری از طریق خردکردن ماده جامد و تبدیل آن به پودر و ترکیب پودر نمونه با پودر مواد بی‌اثر در برابر تابش پرتو IR تهیه می‌شوند. فرایند آماده‌سازی قرص‌های نمونه و پتاسیم برمید (KBr) پودر شد تا اندازه ذرات پودری به کم‌تر از $2 \mu\text{m}$ برسد، سپس نمونه جامد را همراه با 100 mg ماتریس پتاسیم برمید (KBr) پودر شد تا اندازه ذرات پودری به کم‌تر از $2 \mu\text{m}$ برسد، سپس مخلوط پودری را تحت فشار 10000 PSI تا 15000 PSI فشرده شد و آن را در محیط خلاء به‌صورت قرصی شفاف به قطر 1.2 cm درآمد. قرص‌های تهیه شده را برای خوانش تابش طیف RI در محل نمونه دستگاه قرار گرفت. در این آزمایش از دستگاه مدل FTIR IR Spirit استفاده شد.

میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM): میکروسکوپ الکترونی روبشی یکی از روش‌های رایج برای تصویربرداری از ریزساختار و مورفولوژی مواد است. در SEM یک پرتو الکترونی با انرژی کم به ماده تابیده می‌شود و سطح نمونه را اسکن می‌کند. چندین برهم‌کنش مختلف با رسیدن پرتو و ورود آن به ماده رخ می‌دهد که منجر به گسیل فوتون‌ها و الکترون‌ها از سطح نمونه یا نزدیک آن می‌شود. به‌منظور تشکیل یک تصویر، سیگنال‌های دریافتی تولید شده از برهم‌کنش‌های الکترون - نمونه با انواع مختلف آشکارسازها بسته به حالت SEM مورد استفاده شناسایی می‌شوند (۲۶).

برای تصویربرداری توسط SEM، $1 \mu\text{g}$ میکروگرم پودر نانوذرات سرب در متانول حل شد و سپس به‌مدت 30 دقیقه تحت سونیکاسیون قرار گرفت. سپس یک بستر را روی نوار دوطرفه رسانای کربن قرار گرفت و یک قطره از نانوذرات سرب را روی بستر ریخته شد تا خشک شود سپس عکس‌برداری انجام شد. در این پژوهش از SEM مدل SU3500 استفاده شد.

میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM): میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM) یک تکنیک قدرتمند است که تصویربرداری تقریباً از هر نوع سطحی از جمله پلیمرها، سرامیک‌ها، کامپوزیت‌ها، شیشه‌ها و نمونه‌های بیولوژیکی را امکان‌پذیر می‌کند. برای اندازه‌گیری و بومی‌سازی نیروهای مختلف از جمله قدرت چسبندگی، نیروهای مغناطیسی و خواص مکانیکی استفاده می‌شود. AFM از یک نوک تیز با قطر تقریبی 10 تا 20 نانومتر تشکیل شده است که به یک کنسول متصل است. نوک‌ها و کنسول‌های AFM از Si یا Si_3N_4 میکرو ساخته شده‌اند. نوک در پاسخ به فعل و انفعالات نوک-سطح حرکت می‌کند و این حرکت با تمرکز پرتو لیزر با دیود نوری اندازه‌گیری می‌شود. یک AFM در دو حالت اصلی مانند حالت تماس و ضربه زدن کار می‌کند. در حالت تماس، نوک AFM در تماس مداوم با سطح است. در مقابل، در حالت ضربه زدن، کنسول AFM در بالای سطح نمونه ارتعاش می‌یابد به‌طوری که نوک آن تنها در تماس متناوب با سطح قرار می‌گیرد. این فرایند به کاهش نیروهای برشی مرتبط با حرکت نوک کمک می‌کند. حالت ضربه زدن حالت توصیه شده‌ای است که معمولاً برای تصویربرداری AFM استفاده می‌شود. حالت تماس فقط برای کاربردهای خاص مانند اندازه‌گیری منحنی نیرو استفاده می‌شود. برخلاف میکروسکوپ الکترونی که یک تصویر دوبعدی یا تصویری دوبعدی از نمونه را ارائه می‌کند، AFM یک نمایه سطح سه‌بعدی واقعی را ارائه

می‌کند. علاوه بر این، نمونه‌هایی که توسط AFM مشاهده می‌شوند، نیازی به تیمار خاصی (به‌عنوان مثال پوشش‌های فلزی/کربنی) ندارند که به‌طور غیرقابل برگشتی باعث تغییر یا آسیب به نمونه شود. درحالی‌که یک میکروسکوپ الکترونی برای عملکرد مناسب به یک محیط خلاء گران‌قیمت نیاز دارد، اکثر حالت‌های AFM می‌توانند به خوبی در هوای محیط کار کنند. در اصل، AFM می‌تواند وضوح بالاتری نسبت به SEM ارائه دهد. میکروسکوپ نیروی اتمی می‌تواند تصویری سه‌بعدی از نانوذرات توزیع شده روی سطح صاف را نشان دهد. این دستگاه می‌تواند اطلاعات کمی و کیفی در مورد خواص فیزیکی نانوذرات از جمله اندازه، مورفولوژی، بافت سطح و زبری ارائه دهد. برای اندازه‌گیری و بومی‌سازی نیروهای مختلف از جمله قدرت چسبندگی، نیروهای مغناطیسی و خواص مکانیکی استفاده می‌شود. از AFM می‌توان برای تعیین کمیت مقدار، محتوای زیست مولکول‌ها، بیومکانیک و ساختار آگزوزوم‌ها به‌صورت جداگانه استفاده کرد (۲۷).

نحوی آماده‌سازی نمونه به این شکل است که یک سوسپانسیون در آب با غلظت ۰/۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر ساخته می‌شود و سپس یک برش تازه از میکا با جدا کردن نوار چسب ایجاد می‌گردد، یک قطره از سوسپانسیون را روی سطح میکا ریخته می‌شود و ۵ دقیقه انکوبه می‌شود سپس قطره‌ی اضافی با جریان هوا برداشته می‌شود. مدل دستگاه BIRISK ساخت ایران می‌باشد.

تجزیه و تحلیل پراش انرژی اشعه ایکس (EDX): تجزیه و تحلیل پراش انرژی اشعه ایکس یا EDX یک تکنیک تحلیلی است که معمولاً برای تجزیه و تحلیل ترکیبات شیمیایی استفاده می‌شود. این روش اشعه ایکس ساطع شده از یک ماده را در هنگام برخورد تابش الکترومغناطیسی تجزیه و تحلیل می‌کند. در یک سیستم EDX، یک پرتو پراش انرژی بر روی نمونه مورد مطالعه متمرکز می‌شود. یک اتم درون نمونه حاوی الکترون‌های تحریک نشده در سطوح انرژی گسسته یا لایه‌های الکترونی متصل به هسته است. پرتو فرودی ممکن است یک الکترون را در یک پوسته داخلی تحریک کند و درحالی‌که یک حفره الکترونی ایجاد می‌کند، آن را از پوسته بیرون می‌اندازد. الکترون‌ها و حفره‌ها با کمک یک میدان الکتریکی قوی به طرف‌های مخالف آشکارساز جذب می‌شوند. اندازه پالس جریان تولید شده به تعداد جفت الکترون - حفره ایجاد شده بستگی دارد. این به نوبه خود به انرژی اشعه ایکس ورودی بستگی دارد که توسط ترکیب نمونه کنترل می‌شود؛ بنابراین، می‌توان طیف اشعه ایکس را به‌دست آورد که اطلاعاتی در مورد ترکیب عنصری ماده مورد بررسی ارائه می‌دهد. با حرکت پرتو الکترونی در سراسر ماده می‌توان تصویری از هر عنصر در نمونه به‌دست آورد (۱۷ و ۲۸).

آزمایش سلولی

آماده‌کردن سلول‌ها: محیط کشت مورد استفاده، DMEM (شرکت DNABioTech) است که به‌همراه ۱۰ درصد FBS (Fetal bovine serum) (شرکت DNABioTech) و آنتی‌بیوتیک ۱ درصد پنی‌سیلین / استرپتومایسین (strep/pen) (شرکت DNABioTech) برای کشت سلول‌ها مورد استفاده قرار گرفتند. همچنین بافر مورد استفاده بافر فسفات (PBS): برای تهیه این بافر مقادیر ۸ گرم کلرید سدیم، ۰/۲ گرم کلرید پتاسیم، ۱/۴۴ گرم Na_2HPO_4 ، ۰/۲۴ گرم KH_2PO_4 و ۱ میلی‌لیتر TWEEN۲۰ مخلوط شده با آب مقطر به حجم ۱ لیتر رسانده شد pH محلول حاصل ۷/۵ بود.

مراحل کشت سلولی: سوسپانسیون سلولی به‌صورت قطره قطره در لوله حاوی محیط کامل ریخته و به‌آرامی پیتاژ شد. سپس لوله حاوی سلول‌ها به‌مدت ۵ دقیقه با سرعت ۱۲۰۰ rpm سانتریفیوژ شدند. پس از خارج نمودن محیط تازه حاوی FBS به سلول‌ها اضافه شد تا به‌صورت سوسپانسیون درآیند. سلول‌ها شمارش شده و درصد سلول‌های زنده تعیین شدند. پس از شمارش، محیط کشت کامل حاوی FBS، ۲۰ درصد به سلول‌ها اضافه شد و سوسپانسیون تهیه شده در داخل فلاسک و یا پلیت متناسب با تعداد سلول ریخته شد سپس در انکوباتور قرار گرفت. به این ترتیب سلول‌ها روند رشد و تکثیر در داخل

فلاسک / پلیت را آغاز می کنند.

تعیین درصد زنده‌مانی سلول‌ها: تعیین درصد سلول‌های زنده (viability) با رنگ‌آمیزی سلول توسط تریپان بلو انجام می‌شود. سلول‌های زنده نسبت به ورود رنگ نفوذ ناپذیر بوده و حال آن‌که سلول‌های مرده رنگ را جذب می‌نمایند. در ابتدا سوسپانسیون سلولی در حجم ۱ میلی‌لیتر تهیه شد. حجم ۲۰ میکرولیتر از تریپان بلو ۲۵ درصد و همان حجم از سوسپانسیون سلولی در یک حفره پلیت ۹۶ خانه‌ای ریخته و با هم به آرامی پیتاژ شدند. در حدود ۱۰ میکرولیتر از مخلوط روی لام نئوبار قرار داده شده و به زیر میکروسکوپ انتقال داده شد. با استفاده از لام نئوبار تعداد سلول‌های زنده و مرده در هر چهار سری خانه‌های شانزده‌تایی شمارش و میانگین گرفته شد.

تعداد سلول‌های زنده در ۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون سلولی = تعداد سلول‌های زنده شمارش شده در محدوده استاندارد مربوط به شمارش سلول‌ها در لام نئوبار $\times 10^4$.

روش MTT: جهت بررسی اثر سمیت نانوذرات تهیه شده با عصاره آبی برگ و سل - ژل بر رشد و تکثیر سلول‌های سرطانی و تعیین IC50 این ترکیبات، از روش رنگ‌سنجی MTT استفاده شد. نمک MTT یک نمک تترازولیوم محلول در آب است و هنگامی که این ترکیب در محیط کشت فاقد فنول رد یا بافر PBS حل می‌شود، ترکیب زرد رنگی را نشان می‌دهد. اساس این سنجش شکستن نمک MTT توسط آنزیم سوکسینات دهیدروژناز میتوکندریایی سلول‌های زنده است. نتیجه این فعالیت ایجاد بلورهای نامحلول فورمازان ارغوانی رنگ است که توسط دی متیل سولفوکساید به صورت محلول درآمده است. هر چه سلول‌ها فعال تر و تعدادشان بیشتر باشد میزان رنگ ایجاد شده بیشتر خواهد بود. رنگ ارغوانی ظاهر شده در طول موج ۵۴۰ نانومتر با استفاده از روش الایزا اندازه‌گیری می‌شود (۱۷ و ۲۴)

در این آزمایش از کیت MTT شرکت DNABioTech استفاده شد. ۲۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون سلولی با غلظت 8×10^6 cell/ml به هر چاهک از پلیت ۹۶ خانه افزوده شد. پس از گذشت ۲۴ ساعت، غلظت‌های مختلف نانوذرات به هر چاهک افزوده و در دوره‌های زمانی متفاوت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت انکوبه شدند. سپس، مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از محلول MTT آماده شده افزوده و به مدت ۲ ساعت دیگر در انکوباتور نگهداری می‌شود. سپس محلول رویی از هر چاهک حذف و مقدار ۱۰۰ میکرولیتر DMSO به هر چاهک افزوده شده و بلورهای فورمازان توسط سوسپانسیون به‌طور کامل حل و سرانجام جذب نوری در طول موج ۵۴۰ نانومتر توسط دستگاه (Cytation^{MT} Biotek, USA) Multi-Mode Microplate Reader اندازه‌گیری شد. درصد سلول‌های زنده با استفاده از کنترل از روش فرمول زیر محاسبه می‌شود.

درصد سلول‌های زنده = (میانگین جذب نوری سلول‌های تیمار شده با دارو / میانگین جذب نوری سلول‌های کنترل) $\times 100$

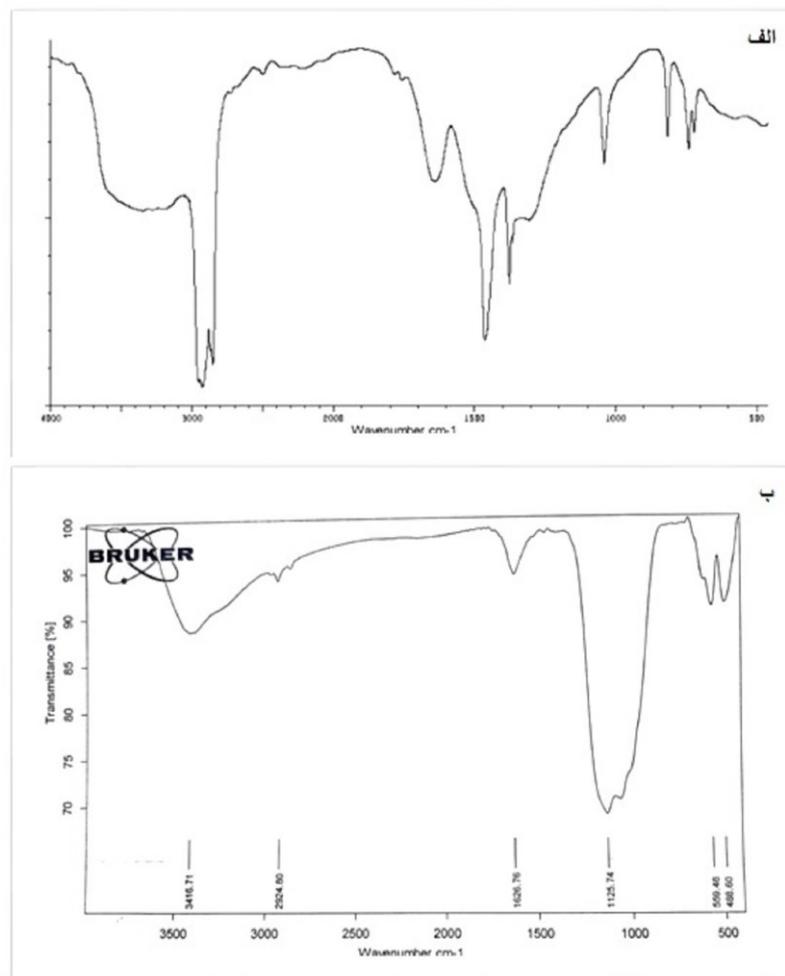
۳- آنالیز آماری

تمام آزمایش‌های انجام شده در این پژوهش بر اساس طرح آماری بلوک‌های کاملاً تصادفی در سه تکرار طراحی شده‌اند. بعد از انجام هر آزمون داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۴ در سطح احتمالی $p < 0.05$ مورد بررسی قرار گرفتند. بر حسب نوع عامل‌هایی که در آزمایش مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند، از واریانس یک‌طرفه برای طرح یک عامل ANOVA و تجزیه واریانس دو طرفه برای طرح‌های دو یا چندعاملی میانگین استفاده شد. مقایسه‌ی بین میانگین‌ها و معنادار بودن اختلاف بین آن‌ها تعیین شد و داده‌ها به کمک آزمون چند دامنه‌ای دانکن گروه بندی شد. همچنین برای نتایج روش MTT از نرم‌افزار GraphPad Prism استفاده شده است.

۴- نتایج

تعیین ویژگی نانو ذرات سریوم سنتز شده با عصاره آبی برگ گیاه *Xanthium strumarium* و سل-ژل توسط طیف سنجی فوریه - مادون قرمز (FTIR)

شکل ۲ طیف FTIR سریوم نیترات و نانو ذرات سنتز شده با عصاره آبی برگ گیاه زردینه (*Xanthium strumarium*) را نشان می‌دهد. شکل ۲-الف مربوط به پیک سریوم نیترات است و این پیک در شکل ۲-ب تغییر کرده است. در شکل ۲-ب نمودار به سمت راست حرکت کرده است که نشان‌دهنده این می‌باشد که نانو ذرات سریوم توسط عصاره برگ پوشانده شده‌اند. در طیف FTIR شکل ۲-ب دیده می‌شود که گروه‌های عاملی هیدروکسیل و آمید مسئول کاهش نانو ذرات سریوم به روش سبز هستند. نوار جذب در محدوده $3000-3500 \text{ cm}^{-1}$ مشاهده شد که مربوط به گروه‌های هیدروکسیل ترکیبات گیاهی مانند الکل‌ها و پلی فنل‌ها هستند. در محدوده $3413-3461 \text{ cm}^{-1}$ مربوط به ارتعاشات کششی آمین و 2123 cm^{-1} (کششی آزید)، 1739 cm^{-1} (کششی استرهای لیپید)، 1714 cm^{-1} (کشش استرها در اسیدهای نوکلئیک) و 1636 cm^{-1} ارتعاش کششی آمید II و آمید I ساختار آلفا هلیکس‌ها است. وجود باند در محدوده 500 cm^{-1} مربوط به Ce-O می‌باشد.



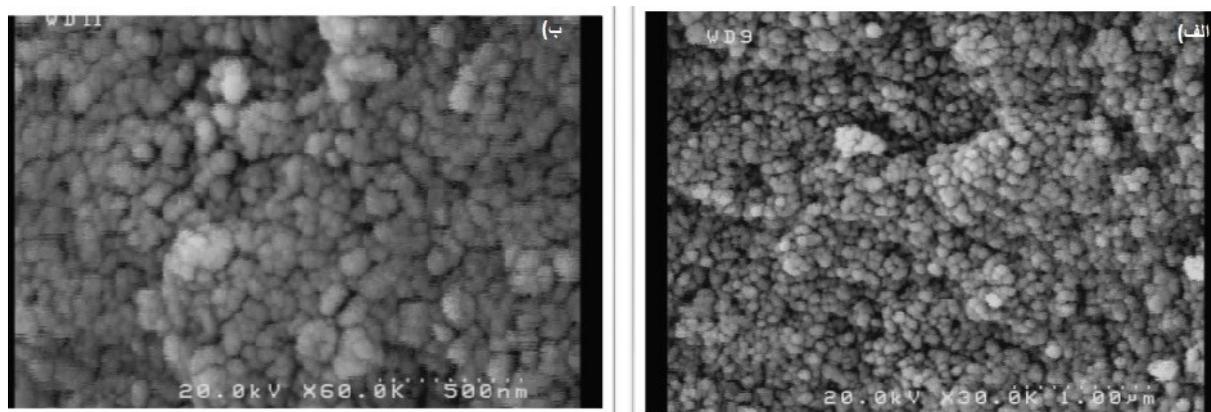
شکل ۲: طیف FTIR سریوم نیترات و عصاره آبی برگ گیاه زردینه (*Xanthium strumarium*). الف) طیف FTIR سریوم نیترات. ب) طیف نانو ذرات سریوم تهیه شده از عصاره آبی برگ گیاه زردینه (*Xanthium strumarium*)

نتایج SEM نانوذرات سریوم تهیه شده با عصاره آبی برگ گیاه زردینه (*Xanthium strumarium*) و روش سل - ژل

ژل

شکل ۳ تصویر نانوذرات سریوم ساخته شده به روش زیستی و سل-ژل را نشان می‌دهد. شکل ۳-الف) مربوط به تصویر SEM از نانوذرات تهیه شده به روش سل-ژل است. همان‌طور که در شکل دیده می‌شود نانوذرات سریوم به شکل تقریباً گرد درآمده است و روی هم انباشته هستند. ذرات به صورت فیلامنتی در کنار یکدیگر قرار نگرفته‌اند و یکنواخت هستند. بزرگ‌نمایی این تصویر یک میکرومتر است.

شکل ۳-ب) مربوط به SEM که از نانوذره پوشیده شده با عصاره برگ گرفته شده است را نشان می‌دهد بزرگ‌نمایی به اندازه ۵۰۰ نانومتر است. اینجا مشاهده می‌شود که پوشانده شدن نانوذره سریوم توسط عصاره آبی برگ آن را از شکل کاملاً گرد درآورده است و شکل نامنظمی دارد. نانوذراتی که در روش سل-ژل تشکیل شده بودند به صورت گرد و یکنواخت هستند.

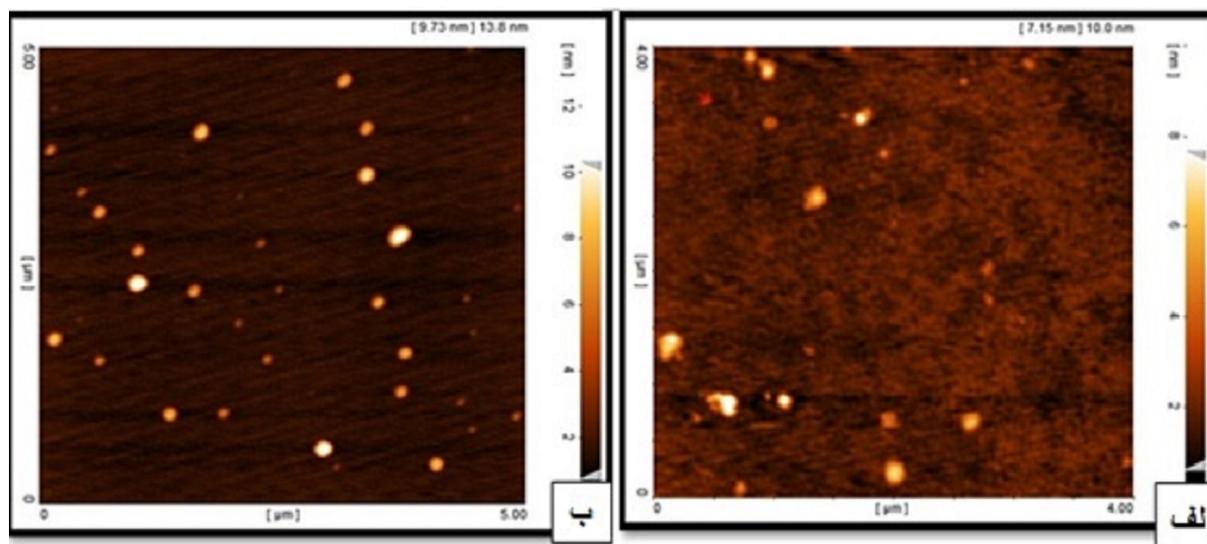


شکل ۳: تصاویر SEM نانوذرات سریوم سنتز شده توسط عصاره آبی برگ گیاه زردینه (*Xanthium strumarium*) و روش سل-ژل. الف) تصویر SEM نانوذرات سریوم به دست آمده از روش سل-ژل و با بزرگ‌نمایی ۱ μm. ب) تصویر SEM نانوذرات سریوم سنتز شده توسط عصاره آبی برگ گیاه *Xanthium* با بزرگ‌نمایی ۵۰۰ nm.

نتایج AFM نانوذرات سریوم سنتز شده با عصاره آبی برگ گیاه *Xanthium strumarium* و روش سل - ژل

شکل ۴ تصاویر AFM نانوذرات سریوم سنتز شده با عصاره آبی برگ گیاه *Xanthium strumarium* و روش سل-ژل را نشان می‌دهد. شکل ۴-الف) تصویر AFM نانوذرات سریوم پوشانده شده با عصاره برگ را نشان می‌دهد. اندازه‌ی نانوذرات در بالای تصویر نوشته شده است که در این‌جا حدود ۰۱ نانومتر می‌باشد. شکل ۴-ب) تصویر SFM نانوذرات سریوم پوشانده شده با عصاره سل-ژل است. همان‌طور که در بالای تصویر مشاهده می‌کنید اندازه نانوذرات به دست آمده در حدود ۱۳/۸ است.

طبق نتایج AFM اندازه نانوذرات سریوم به دست آمده به روش زیستی به طور میانگین ۱۰ نانومتر هستند و نانوذرات به دست آمده به روش سل - ژل اندازه‌ای در حدود ۱۳/۸ نانومتر است. همان‌طور که در تصاویر مربوط به AFM مشاهده می‌کنید نانوذرات به شکل کروی مشاهده می‌شوند. همان‌طور که گفته شد تصاویر حاصل از AFM به صورت سه‌بعدی هستند و نسبت به SEM، تصاویر با جزئیات بیشتر ارائه می‌دهند.



شکل ۴: الف). تصویر AFM نانوذرات سریوم پوشانده شده با عصاره آبی برگ گیاه *Xanthium strumarium* (شکل ب). تصویر AFM نانوذرات سریوم ساخته شده به روش سل-ژل

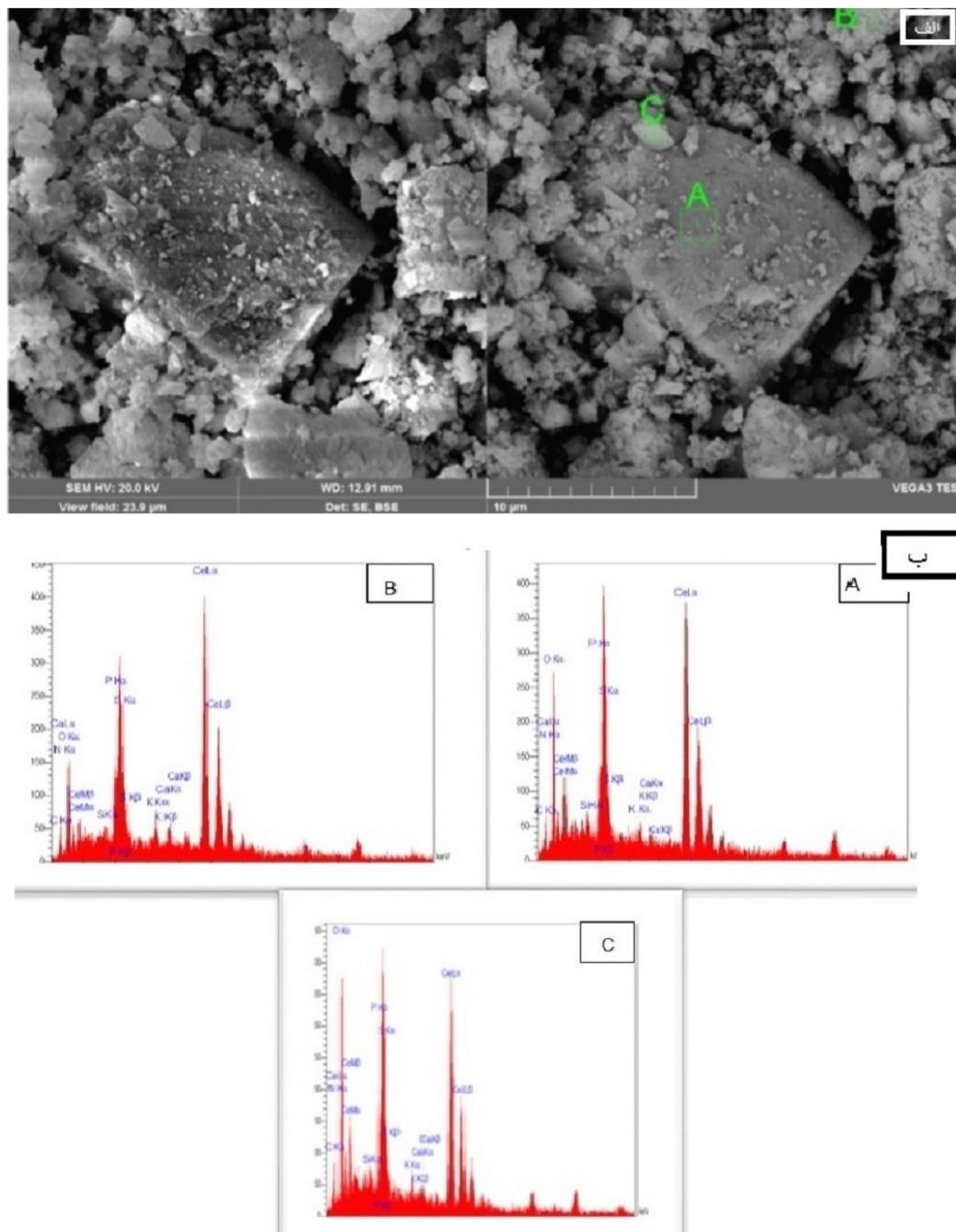
آنالیز EDAX مربوط به نانوذرات تهیه شده با عصاره آبی برگ گیاه *Xanthium strumarium* و روش سل - ژل

برای بررسی نانوذرات سریوم تولید شده با عصاره آبی برگ گیاه *Xanthium strumarium* با EDX سه منطقه مختلف از عکس SEM برای تعیین ترکیبات آن قسمت انتخاب شد و برای شناسایی هر عنصر از پیک شناساگر استفاده شد و درصد آن‌ها در هر یک از نقاط A، B و C تعیین شد. نتایج شکل ۵ نشان می‌دهد که بیشترین پیک مربوط به سریوم است که نشان‌دهنده این است که قسمت عمده ترکیب سنتز شده به روش زیستی مربوط به نانوذره سریوم است. وجود ترکیبات دیگری مثل کلسیم، گوگرد، فسفر و نیتروژن نشان‌دهنده ترکیبات گیاهی در این نمونه است. پیک عناصر در شکل C شباهت نزدیکی با پیک عناصر A و B دارد که نشان می‌دهد پراکندگی عناصر در این سه نقطه تقریباً به یک صورت بوده است پس می‌توان نتیجه گرفت که عصاره برگ گیاه زردینه به صورت تقریباً یکنواخت روی نانوذرات سریوم را پوشانده است و نانوذرات سریوم جدا از عصاره به یکدیگر نچسبیده‌اند.

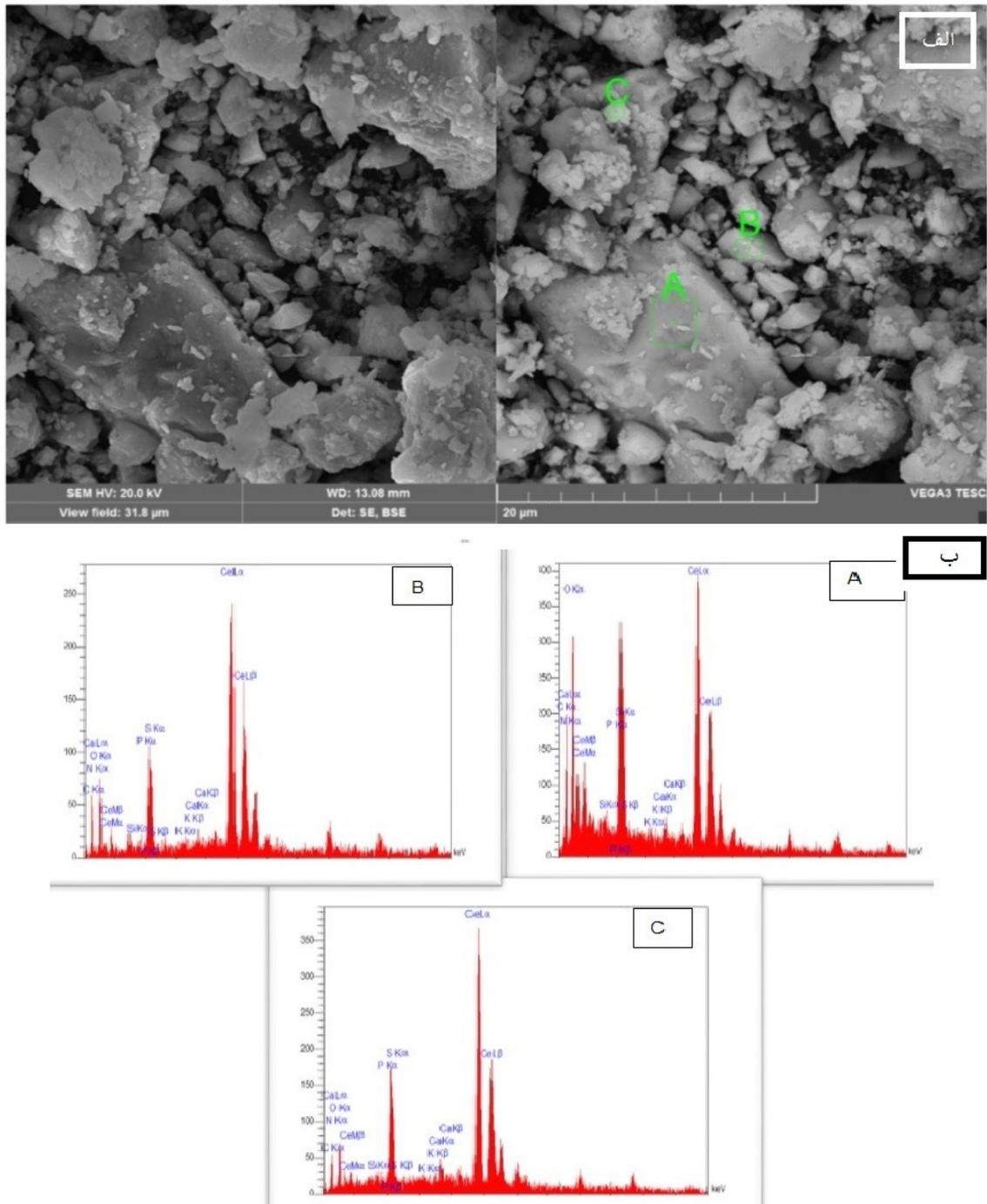
برای بررسی نانوذرات تهیه شده به روش سل - ژل نیز به همین ترتیب عمل شد که نتایج در شکل ۶ دیده می‌شود. نتایج شکل ۶ ترکیبات عناصر مختلف در نقاط A، B و C را نشان می‌دهد.

در هر دو شکل ۵ و ۶ با توجه به ارتفاع پیک‌ها می‌توان گفت که سریوم آلفا بیشتر از سریوم بتا است. تمایز بین آلفا و بتا سریوم در طیف EDAX نانوذرات سریوم در درجه اول به حالت‌های اکسیداسیون منحصر به فرد و ویژگی‌های ساختاری آن‌ها مرتبط است. آلفا سریوم به‌طور کلی با سریوم در حالت اکسیداسیون $(+3eC)$ مطابقت دارد، در حالی که سریوم بتا با حالت اکسیداسیون $(+4eC)$ مرتبط است. این حالت‌های اکسیداسیون به‌طور قابل توجهی بر ساختار الکترونیکی و شیمی سطح نانوذرات سریوم تاثیر می‌گذارد که می‌توان آن‌ها را از طریق طیف‌های EDAX آنالیز کرد. بر روی سطح نانوذرات اکسید سریوم، هر دو آلفا سریوم و سریوم بتا وجود دارند که نسبت آن‌ها نقشی کلیدی در تعیین خواص مواد دارند. روش سنتز، اعم از سل-ژل یا رسوب شیمیایی، بر مورفولوژی نانوذرات و در نتیجه توزیع آلفا و بتا سریوم تاثیر می‌گذارد (۲۰). نانوذرات سریوم توانایی

شگفت‌انگیزی برای انجام واکنش‌های اکسیداسیون و کاهش با تبدیل بین حالت‌های اکسیداسیون Ce^{3+} و Ce^{4+} از خود نشان می‌دهند. وجود فضای خالی اکسیژن بر روی سطح نانوذرات امکان این فعالیت اکسایش و کاهش را فراهم می‌کند. هنگامی که در معرض شرایط کاهش قرار می‌گیرند، یون‌های Ce^{4+} (بتا سریم) به Ce^{3+} (آلفا) کاهش می‌یابند و در نتیجه جای خالی اکسیژن ایجاد می‌شود. برعکس، در شرایط اکسید کننده، یون‌های Ce^{3+} به Ce^{4+} اکسید می‌شوند که منجر به از بین رفتن جای خالی اکسیژن می‌شود (۲۹). با توجه به این مطالب نتایج EDAX نشان‌دهنده کاهش سریم و تولید نانوذرات می‌باشد.



شکل ۵: EDAX ترکیب شده با SEM نانوذرات سریم تولید شده با عصاره آبی برگ گیاه *Xanthium strumarium*. (الف) عکس SEM نانوذرات سریم تولید شده با عصاره آبی برگ گیاه *Xanthium strumarium* با بزرگ‌نمایی ۱۰ میکرومتر. (ب) نتیجه‌ی آنالیز EDAX مکان A، B و C نانوذرات پوشانده شده با عصاره برگ گیاه *Xanthium strumarium* را نشان می‌دهد.



شکل ۶: EDAX ترکیب شده با SEM نانوذرات سریوم تولید شده به روش سل-ژل. شکل الف) SEM نانوذرات سریوم تولید شده به روش سل-ژل با بزرگ نمایی ۲۰ میکرومتر. ب) نتیجه‌ی آنالیز EDAX مکان A، B و C نانوذرات سریوم تهیه شده با روش سل-ژل را نشان می‌دهد.

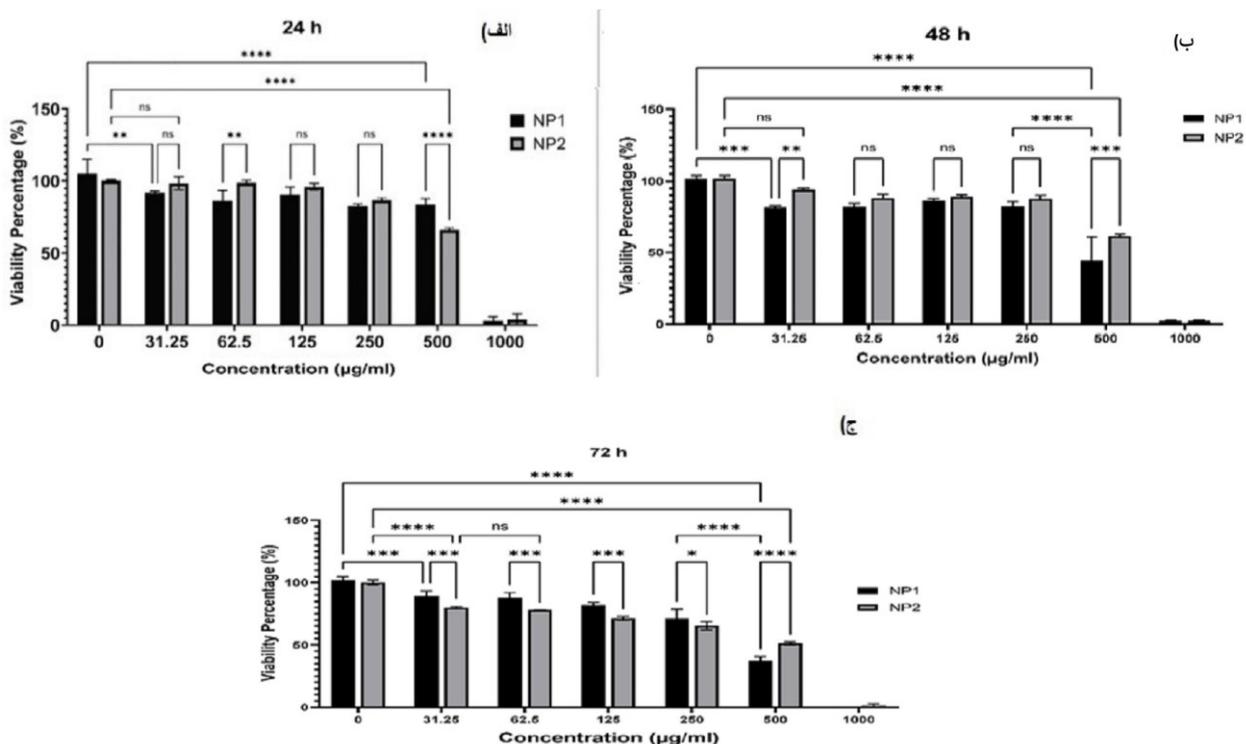
بررسی نتایج تست آنالیز MTT

با استفاده از تست MTT تاثیر غلظت‌های مختلف از نانوذره سریوم تولید شده با عصاره آبی برگ و نانوذره سریوم سنتز شده به روش سل-ژل بر روی رده سلولی MDA-MB-231 بررسی شد. در این آزمایش درصد زنده‌مانی سلول‌ها پس از تیمار با نانوذره‌های سنتز شده مورد بررسی قرار گرفت. نتایج به‌دست‌آمده نشان‌دهنده این بود با افزایش غلظت و گذشت زمان اثر

کشندگی نانوذرات بر روی سلول‌های سرطانی MDA-MB-231 افزایش یافته است. نمودار ۱ نشان می‌دهد که هرچه غلظت بیشتر می‌شود اثر کشندگی هر دو نوع نانوذره افزایش می‌یابد؛ ولی در غلظت‌های کمتر از ۵۰۰ میکروگرم بر لیتر و در ۲۴ و ۴۸ ساعت این اثر معنی‌دار نیست. اثر کشندگی غلظت‌های مختلف در مقایسه با نمونه کنترل (غلظت صفر) اثر معناداری را نشان می‌دهد و در غلظت ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر این اثر کشندگی بیشتر است.

بین دو نوع نانوذره، نانوذره تهیه شده به روش زیستی (NP1) و نانوذرات تهیه شده به روش سل - ژل (NP2)، اختلاف معناداری در میزان اثر کشندگی بر سلول‌ها در غلظتی پایین‌تر از ۵۰۰ وجود ندارد ولی این اختلاف در غلظت ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر دیده شد. در غلظت ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و پس از گذشت ۲۴ ساعت از اثر نانوذرات، میزان کشندگی نانوذرات تهیه شده به روش سل - ژل (NP2) بیشتر از میزان کشندگی نانوذره تهیه شده به روش زیستی (NP1) بود. اما با گذشت زمان و در ۴۸ ساعت بعد و ۷۲ ساعت بعد میزان اثر کشندگی نانوذرات تولید شده به روش زیستی بیشتر از نانوذرات تولید شده به روش سل - ژل است. در غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر هر دو نانوذره در هر سه بازه زمانی اثر کشندگی نزدیک صد در صد قابل مشاهده است.

به‌طور کلی میزان اثر کشندگی نانوذرات بر سلول‌ها پس از ۷۲ ساعت در تمام غلظت‌ها بیشتر از میزان کشندگی سلول‌ها در ۲۴ ساعت (نمودار ۱-الف) و ۴۸ ساعت (نمودار ۱-ب) در غلظت‌های مشابه است. در واقع هرچه درصد زنده‌مانی کمتر باشد میزان کشندگی بیشتر است.



نمودار ۱: اثر سایتوتوکسیک غلظت‌های مختلف نانوذره سربوم سنتز شده با عصاره برگ گیاه *Xanthium strumarium* و سل-ژل بر روی رده سلولی MDA-MB-231 (الف) بعد از گذشت ۲۴ ساعت. (ب) بعد از گذشت ۴۸ ساعت. (ج) بعد از گذشت ۷۲ ساعت. در تمامی نمودارها **** نشان‌دهنده اختلاف معنادار غلظت‌ها در سطح $P < 0.0001$ می‌باشد و * نشان‌دهنده اختلاف بین غلظت‌ها در سطح $p < 0.01$ می‌باشد. ns نشان‌دهنده اختلاف بین غلظت‌ها در سطح $p > 0.05$ می‌باشد. NP1 نانوذرات سربوم تهیه شده با عصاره برگ و NP2 نانوذرات سربوم تهیه شده با روش سل-ژل را نشان می‌دهد.

۵- بحث

در پژوهش پوتری و همکاران (۳۰) که سنتز CeO_2NPs با استفاده از عصاره برگ *Acalypha indica* انجام شده بود گزارش شد که در آن تجمع نانوذرات نیز اتفاق افتاده است. اندازه نانوذرات تهیه شده به روش سل-ژل و زیستی نزدیک به ۵۰ نانومتر می‌باشد که در روش زیستی نانوذرات تشکیل شده به شکل پهن و کروی وجود دارند که روی هم انباشته شده‌اند. در تحقیق دیگری نشان داده شد که CeO_2-NP های سنتز شده کروی شکل بوده و تجمعات آن‌ها نیز کروی شکل می‌باشد. همچنین، اندازه‌ی ذرات کمتر از ۵۰ نانومتر گزارش شدند (۲۷). در این پژوهش نتایج نشان داد در روش زیستی نانوذرات تشکیل شده به شکل پهن و کروی و تا حدودی نامنظم وجود دارند و نانوذرات ساخته شده به روش سل-ژل به صورت کاملاً گرد و روی هم انباشته هستند که با مطالعات قبلی همخوانی داشتند. علاوه بر این، طبق نتایج AFM اندازه نانوذرات سریوم به دست آمده به روش زیستی بطور میانگین ۱۰ نانومتر هستند و نانوذرات به دست آمده به روش سل-ژل اندازه‌ای در حدود ۱۳/۸ نانومتر دارد.

طیف FTIR در پژوهش فروتن و همکاران (۲۴) که بررسی خواص نانوحامل بودن نانوذرات سریم ساخته شده با استفاده از عصاره برگ گیاه *Caccinia macranthera* در سه دمای ۳۰۰، ۴۰۰ و ۵۰۰ درجه سانتیگراد رسم شد. نتایج نشان دادند که نوارهای متمایز در 500 cm^{-1} با ارتعاش کششی Ce-O مرتبط بودند، در حالی که نوار شناسایی شده در 3424 cm^{-1} از طریق ارتعاش کششی H_2O جذب شده روی سطح نانوذره مرتبط بود. نوارهای مشاهده شده در 1047 ، 1380 و 1621 cm^{-1} می‌توانند مطابق با ارتعاشات کششی C-O-C، C-O، و C=C، که مربوط به ترکیبات آلی باقی‌مانده عصاره گیاهی هستند، باشد. در پژوهش دیگر که نانوذرات سریوم با استفاده از عصاره برگ گیاه *Origanum majorana L.* ساخته شده بود در طیف FTIR مشاهده شد که قله‌ها در نزدیکی 1592 ، 1592 ، 1383 و 1131 cm^{-1} ظاهر شدند که می‌تواند ناشی از ارتعاشات کششی O-H، آلیفاتیک C-H و C=O گروه‌های فلاونوئیدی و فنلی باشد که نشان‌دهنده حضور گروه‌های آروماتیک همراه با CeO-NP است (23). نتایج طیف FTIR این پژوهش نشان داد نوار جذب در محدوده‌ی $3500-3000\text{ cm}^{-1}$ مشاهده شد و مربوط به گروه‌های هیدروکسیل ترکیبات گیاهی مانند الکل‌ها و پلی‌فنل‌ها هستند. در محدوده‌ی $3461-3413\text{ cm}^{-1}$ مربوط به ارتعاشات کششی آمین و 2123 cm^{-1} (کششی آزید)، 1739 cm^{-1} (کششی استرهای لیپید)، 1714 cm^{-1} (کشش استرها در اسیدهای نوکلئیک) و 1636 cm^{-1} ارتعاش کششی آمید II و آمید I ساختار آلفا هلیکس‌ها است.

در مطالعاتی که توسط آسیدنزاد و همکاران (۲۳) انجام شد، نانوذرات سریوم تولید شده به روش سبز باعث مرگ سلول‌های MDA-MB-231 شدند. سمیت سلولی نانوذرات اکسید سریم سنتز شده با استفاده از عصاره برگ *Origanum majorana* بر روی رده سلولی سرطان پستان (MDA-MB231) و یک سلول طبیعی، سلول‌های اندوتلیال ورید ناف انسان، به نام رده سلولی HUVEC در ساعت‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج این مطالعه اثر بازدارندگی قابل توجهی نانوذره بر رشد سلول‌های سرطانی پستان را به صورت وابسته به دوز نشان داد ($p < 0.01$). در واقع، سلول‌های HUVEC در مقایسه با سایر سلول‌های سرطانی کمتر مستعد حضور CeO-NP بودند. ارزیابی زنده ماندن سلول‌های MDA-MB-231 مقدار IC_{50} را به ترتیب ۵۰، ۶۰، ۱۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر در ۷۲ و ۴۸، ۲۴ ساعت پس از درمان نشان داد.

همچنین در مطالعه دیگر از روش سل-ژل برای سنتز CeO_2-NPs با استفاده از پلی آمین آلی (PAA) به عنوان یک عامل پوشاننده و تثبیت‌کننده استفاده شد. وزن‌های مولکولی مختلف PAA (۱۵۰۰، ۱۷۰۰۰ و ۶۵۰۰۰ گرم بر مول) برای بررسی خواص فیزیکی و شیمیایی و بیولوژیکی نانوذرات مورد استفاده قرار گرفت. به منظور درک عملکرد آن‌ها به عنوان یک عامل ضد سرطان، سه رده سلولی (erythrocyte و HeLa، MCF7) با روش MTT و روش همولیز RBC مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

CeO₂-NPs اثرات ضد سرطانی بر روی زنده ماندن سلول‌های MCF7 و HeLa داشتند. نانوذرات تهیه‌شده با استفاده از PAA65000 سمیت سلولی مشخص در برابر رده‌های سلولی سرطانی نشان دادند و تقریباً باعث لیز گلوبول‌های قرمز نشدند و زیست‌سازگاری خوبی داشتند؛ بنابراین CeO₂-NPs تهیه‌شده با PAA65000، کاندید خوبی برای کاربردهای زیست‌پزشکی، مانند درمان سرطان هستند (۳۱). این پژوهش نشان داد که هر چه غلظت و زمان بیشتر می‌شود اثر کشندگی هر دو نوع نانوذره سنتز شده با عصاره آبی برگ و سل-ژل نیز افزایش می‌یابد. میزان اثر کشندگی نانوذرات بر سلول‌ها پس از ۷۲ ساعت بیشتر از میزان کشندگی در ۲۴ ساعت و ۴۸ ساعت در غلظت‌های مشابه است. غلظت‌های مختلف نانوذره در مقایسه با نمونه کنترل اثر معناداری را روی کشندگی سلول‌های سرطانی نشان می‌دهد مخصوصاً در غلظت ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر این اثر کشندگی محسوس بود. بین دو نوع نانوذره نانوذره تهیه شده به روش زیستی و نانوذرات تهیه شده به روش سل-ژل اختلاف معناداری در میزان اثر کشندگی بر سلول در غلظت‌های پایین‌تر از ۵۰۰ وجود ندارد ولی این اختلاف در غلظت ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر دیده شد. میزان اثر کشندگی نانوذره تهیه شده به روش سل-ژل در ۲۴ ساعت بیشتر از اثر کشندگی نانوذرات تهیه شده به روش زیستی بود و در ۴۸ ساعت و ۷۲ ساعت بعد از تیمار سلول‌ها با نانوذرات، اثر کشندگی نانوذرات سریم ساخته شده به روش زیستی بیشتر بود.

۶- نتیجه‌گیری

مطالعات نشان دادند که نانوذرات سریم می‌توانند به صورت انتخابی باعث القای آپوپتوزیس شوند و از تکثیر سلول‌های سرطانی جلوگیری کنند. نانوذرات سریم می‌توانند از رشد ملانوما جلوگیری کنند. سریم سریع از اندام‌ها حذف می‌شود و سمیت سیستمی کمی را برجای می‌گذارد. به‌طور گسترده گزارش شده است که CeNP ها غیر سیتوتوکسیک هستند و ROS درون سلولی را تعدیل می‌کنند. در پژوهشی عامل دار شدن سطح نانوسریا با هپارین، توانایی مهار ROS این ذرات را تعیین می‌کند. هپارین - نانوسریا در کاهش تکثیر سلول‌های اندوتلیال موثر بود که نشان می‌دهد ممکن است در آینده در کنترل رگ‌زایی در سرطان کاربرد داشته باشد (۳۲) نانوذرات سریم را می‌توان با نانوذرات دیگر ترکیب کرد تا به خواص آن و کمبودهایی که در رابطه با ویژگی‌هایش وجود دارد بهبود بخشید (۱۸).

نانوذرات CeO₂ در زمینه نانوپزشکی مورد بررسی قرار می‌گیرند؛ زیرا نانوذرات CeO₂ هزینه ساخت و سمیت کمی دارند، زیست‌سازگار و نسبتاً پایدار هستند. در گذشته اغلب ساخت نانوذرات CeO₂ معمولاً با روش‌های شیمیایی و یا فیزیکی متعدد انجام می‌شد. متسفانه این روش‌ها به دلیل استفاده از حلال‌های سمی کاهنده در طی فرایند، خطرات مختلفی را برای اکوسیستم و تنوع زیستی ایجاد می‌کردند. علاوه بر این، نانوذرات به دست آمده توسط این فرایندها نیز در طبیعت ناپایدار و سمی هستند، بنابراین از مطلوبیت کمتری برخوردار هستند. روش سنتز سبز که در این مطالعه نیز استفاده شد نانوذرات را از منابع طبیعی مانند گیاهان سنتز می‌کند سازگارتر با محیط زیست و بدن انسان است. فرایند تولید نانوذرات با استفاده از عصاره‌های گیاهی روشی آسان‌تر و ایمن‌تر در نظر گرفته می‌شود. ترکیبات شیمیایی گیاهان مانند آمین‌ها، فنل‌ها، آنزیم‌ها و کتون‌های موجود در عصاره‌های گیاهی، مسئول تثبیت و کاهش نمک‌های مختلف به نانوذرات متناظرشان هستند. مطالعات نشان می‌دهد که نانوذرات CeO₂ دارای خواص ضد سرطانی، ضد میکروبی، فوتوکاتالیستی و آنتی‌اکسیدانتی، هستند که در این مطالعه به خواص ضد سرطانی آن اشاره شد.

مطالعات بیشتری در زمینه تحقیق روی خواص گیاهان به‌عنوان ماده پوشاننده نانوذرات لازم است. همچنین با توجه به اینکه ویژگی نانوذرات سریم به‌طور کامل مورد بررسی قرار نگرفته است، تحقیقات بیشتری در ارتباط با خاصیت سمی روی اندام‌ها و بافت‌های مختلف نیاز است و پیشنهاد می‌شود که نانوذرات سریم به‌عنوان حامل دارو بیشتر مورد مطالعه قرار گیرند تا بتوانند

به صورت تجاری وارد بازار شوند.

۷- تشکر و قدردانی

از اساتید و کارشناسان آزمایشگاه به دلیل همکاری و راهنمایی‌های بی چشم‌داشت ایشان سپاسگزار هستیم.

۸- منابع

1. Phogat N, Kohl M, Uddin I, Jahan A. Interaction of nanoparticles with biomolecules, protein, enzymes, and its applications. In: Precision Medicine. Elsevier; 2018. p. 253–76.
2. Rangasamy M. Nano technology: a review. J Appl Pharm Sci. 2011;(Issue):08–16.
3. Ojha B, Jain VK, Mehra NK, Jain K. Nanotechnology: Introduction and basic concepts. In: Dendrimers in nanomedicine. CRC Press; 2021. p. 1–17.
4. Tran PA, Zhang L, Webster TJ. Carbon nanofibers and carbon nanotubes in regenerative medicine. Adv Drug Deliv Rev. 2009;61(12):1097–114.
5. Iraj M, Salehi M, Malekshah RE, Khaleghian A, Shamsi F. Liposomal formulation of new arsenic schiff base complex as drug delivery agent in the treatment of acute promyelocytic leukemia and quantum chemical and docking calculations. J Drug Deliv Sci Technol. 2022;75:103600.
6. Boas U, Christensen JB, Heegaard PM. Dendrimers: design, synthesis and chemical properties. J Mater Chem. 2006;16(38):3785–98.
7. Begines B, Ortiz T, Pérez-Aranda M, Martínez G, Merinero M, Argüelles-Arias F, et al. Polymeric nanoparticles for drug delivery: Recent developments and future prospects. Nanomaterials. 2020;10(7):1403.
8. Chandrakala V, Aruna V, Angajala G. Review on metal nanoparticles as nanocarriers: Current challenges and perspectives in drug delivery systems. Emergent Mater. 2022;5(6):1593–615.
9. Yaqoob SB, Adnan R, Rameez Khan RM, Rashid M. Gold, silver, and palladium nanoparticles: a chemical tool for biomedical applications. Front Chem. 2020;8:376.
10. Phan TTV. A Review of the Green Synthesis of Palladium Nanoparticles for Medical Applications. J Clust Sci. 2024;35(6):1915–31.
11. Wang ,Ye Y, Zi XY, Su J, Zhang HX, Zhang XR, Zhu HY, et al. Cuprous oxide nanoparticles selectively induce apoptosis of tumor cells. Int J Nanomedicine. 2012;2641–52.
12. Ziental D, Czarczynska-Goslinska B, Mlynarczyk DT, Glowacka-Sobotta A, Stanis B, Goslinski T, et al. Titanium dioxide nanoparticles: prospects and applications in medicine. Nanomaterials. 2020;10(2):387.
13. Nasrollahzadeh MS, Ghodsi R, Hadizadeh F, Maleki M, Mashreghi M, Poy D. Zinc oxide nanoparticles as a potential agent for antiviral drug delivery development: A systematic literature review. Curr Nanosci. 2022;18(2):147–53.
14. Abuid NJ, Gattás-Asfura KM, LaShoto DJ, Poulos AM, Stabler CL. Biomedical applications of cerium oxide nanoparticles: a potent redox modulator and drug delivery agent. In: Nanoparticles for Biomedical Applications. Elsevier; 2020. p. 283–301.

15. Yih TC, Al-Fandi M. Engineered nanoparticles as precise drug delivery systems. *J Cell Biochem.* 2006;97(6):1184–90.
16. Hanachi, Parichehr, Haghghatjoo, Motahareh, Karimi arganeh, Mobina. Biological production of nanoparticles as a solution to the challenge of environmental pollution. Tehran: Nourozi; 2022.
17. Gharari Z, Hanachi P, Walker TR. Green synthesized Ag-nanoparticles using *Scutellaria multicaulis* stem extract and their selective cytotoxicity against breast cancer. *Anal Biochem.* 2022;653:114786.
18. Gao Y, Chen K, Ma J lu, Gao F. Cerium oxide nanoparticles in cancer. *OncoTargets Ther.* 2014;835–40.
19. Raehsi, Hamidreza. Investigation of the physiological characteristics of the medicinal plant *Xanthium strumarium* L. in two different habitats. [Biology Faculty]: Damghan University; 2021.
20. Pizúrová N, Hlaváček A, Kavčiaková Z, Roupcová P, Kuběna I, Buršík J, et al. NANOCERIA PREPARED BY ELECTRON BEAM EVAPORATION. In: *NANOCON Conference Proceedings-International Conference on Nanomaterials.* Tanger Ltd.; 2023. p. 33–8.
21. Xu C, Qu X. Cerium oxide nanoparticle: a remarkably versatile rare earth nanomaterial for biological applications. *NPG Asia Mater.* 2014;6(3):e90–e90.
22. Hirst SM, Karakoti AS, Tyler RD, Sriranganathan N, Seal S, Reilly CM. Anti-inflammatory properties of cerium oxide nanoparticles. *Small.* 2009;5(24):2848–56.
23. Aseyd Nezhad S, Es-haghi A, Tabrizi MH. Green synthesis of cerium oxide nanoparticle using *Origanum majorana* L. leaf extract, its characterization and biological activities. *Appl Organomet Chem.* 2020;34(2):e5314.
24. Foroutan Z, Afshari AR, Sabouri Z, Mostafapour A, Far BF, Jalili-Nik M, et al. Plant-based synthesis of cerium oxide nanoparticles as a drug delivery system in improving the anticancer effects of free temozolomide in glioblastoma (U87) cells. *Ceram Int.* 2022;48(20):30441–50.
25. Berthomieu C, Hienerwadel R. Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy. *Photosynth Res.* 2009;101:157–70.
26. Sridharan M, Kamaraj P, Arockiaselvi J, Pushpamalini T, Vivekanand PA, Kumar SH. Synthesis, characterization and evaluation of biosynthesized Cerium oxide nanoparticle for its anticancer activity on breast cancer cell (MCF 7). *Mater Today Proc.* 2021;36:914–9.
27. Bellotti R, Picotto GB, Ribotta L. AFM measurements and tip characterization of nanoparticles with different shapes. *Nanomanufacturing Metrol.* 2022;5(2):127–38.
28. Turin-Moleavin IA, Fifere A, Lungoci AL, Rosca I, Coroaba A, Peptanariu D, et al. In vitro and in vivo antioxidant activity of the new magnetic-cerium oxide nanoconjugates. *Nanomaterials.* 2019;9(11):1565.
29. Ha HA, Al-Ansari MM, Al-Dahmash ND, Krishnan R, Shanmuganathan R. In vitro analyses of cerium oxide nanoparticles in degrading anthracene/fluorene and revealing the antibiofilm activity against bacteria and fungi. *Chemosphere.* 2023;345:140487.
30. Putri GE, Rilda Y, Syukri S, Labanni A, Arief S. Highly antimicrobial activity of cerium oxide nanoparticles synthesized using *Moringa oleifera* leaf extract by a rapid green precipitation method. *J Mater Res Technol.* 2021;15:2355–64.

31. Hosseini M, Amjadi I, Mohajeri M, Mozafari M. Sol-gel synthesis, physico-chemical and biological characterization of cerium oxide/polyallylamine nanoparticles. *Polymers*. 2020;12(7):1444.
32. Manke A, Wang L, Rojanasakul Y. Mechanisms of nanoparticle-induced oxidative stress and toxicity. *BioMed Res Int*. 2013;2013(1):942916.