بررسی قابلیت آنتی اکسیدانی نانوذرات سنتز شده نقره از جلبک دریایی *Laurencia caspica* بر روی رده سلولی سرطان کبد (HepG2)

شهریار تقی پور کوه بنه*[۱]، محبوبه رادمهر [۲]

[۱]باشگاه پژوهشگران و نخبگان، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران، صندوق پستی ۱۶۱۶.
[۲] گروه زمین شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران، صندوق پستی ۱۶۱۶.

نویسنده مسول:Tagheipour@gmail.com

چکیده:

مقدمه: هپاتوسل کارسینوم یک نوع سرطان کبدی می باشد که اکثرا پس از ابتلا ء فرد به هپاتیت ویروسی B و Cیا سیروز که در بیشتر موارد بعلت مصرف الکل می باشد رخ می دهد.

هدف و اهمیت پژوهش: امروزه در سراسر دنیا یافتن ترکیبات طبیعی از موجودات دریایی به ویژه جلبکها همچنین نانوذرات که دارای اثرات ضدباکتریایی، ضدویروسی و ضدسرطانی هستند از اهمیت ویژه ای برخوردار است. هدف از این پژوهش برر سی قابلیت آنتی اکسیدانی نانوذرات سنتز شده نقره با جلبک دریایی *Laurencia caspica* بر روی رده سلولی سرطان کبد (HepG2) می باشد.

روش پژوهش: در این مطالعه تجربی(مداخله‌ای) رده های سلولی HepG2 را در محیط کشت RPMI1640 مکمل شده با ۱۰ درصد سرم جنینی گوساله ، ۲ میلی مولار گلوتامین، ۱۱۰ u/mپنی سیلین، ۱۰۰ میکروگرم برمیلی لیتر، ۰/۱ میلی مولار ا سیدآمینه های غیر ضروری و ۱ میلی مولار پیروات سدیم کشت داده شدند. پس از جمع آوری نمونه *L. caspica* از سواحل جنوبی دریای خزر، عصاره ی هیدروالکلی جلبک به روش پرکولاسیون با استفاده از حلال متانول ۵۰ درصد بدست آمد.سلول ها در فواصل زمانی ۲۴ ساعت تحت تاثیر نانو ذره نقره و عصاره جلبک *L. caspica* قرار گرفتند.

نتایج: این مطالعه نشان داد که ترکیب نانوذره نقره در عصاره جلبکی *L. caspica* تاثیر معنی داری بر کاهش رده سلولی سرطان کبد (HepG2) دارد. با افزایش غلظت های ترکیب نانوذره ی نقره به همراه عصاره ی اثرات ضد سرطانی قابل ملاحظه ای که در ترکیب مورد بررسی مشاهده شد.

کلمات کلیدی: آنتی اکسیدانی، نانو ذرات نقره ، عصاره جلبک،*Laurencia caspica* ،کبد

مقدمه:

تو سعه سریع علوم نانو و نانوتکنولوژی در سالهای اخیر، افق جدیدی به روی بسیاری از صنایع و بخش های مختلف گشوده است(Rather et al.,2011). پیشرفت فناوری نانو و کاربردهای وسیع نانو ذرات در صنایع مختلف باعث شده است که بررسی اثرات مخرب نانو مواد بر روی موجودات اهمیت زیادی داشته باشد (Chambers et al.,1962).در میان آلاینده های فلزی، یون نقره بسیار سمی است و سمی بودن آن برای طیف وسیعی از میکروارگانیسم ها همچنین سمیت کم آن برای انسان منجر به تو سعه تعداد زیادی از محصولات بر پایه نقره شده است(Boenigk et al., 2014).یون نقره به طور گسترده در مراقبت های بهداشتی برای کنترل میکروارگانیسمها و عمدتاً، به دلیل خواص فیزیکی و شیمیایی ویژگیهای که از خود نشان میدهد در مصارف دارویی و بهداشتی کاربرد فراوان دارد (Gong et al., 2007). نیترات نقره به عنوان عامل ایجاد کننده گروه های فعال اکسیژنی شناخته شده و به وسیله مکانیسمهای متنوع، شامل برهم کنش با گروههای سولفیدریل پروتیینها و آنزیمها به سلول آسیب میرساند(تربالی ،۱۳۹۱). نانو ذرات نقره با تولید بنیان های فعالی هم چون یون های اکسیژن و هیدروکسید، با تخریب ساختارهای آلی و برهم کنش شدید با پروتئین ها و آنزیم های سیستم انتقال الکترون، اقدام به مختل نمودن متابولیسم، تکثیر و تنفس میکروارگانیسم نموده و قادر است در شرایط آزمایشگاهی ۹۹/۹ درصد، بیش از ۶۵۰ نوع از باکتری های گرم مثبت و گرم منفی مقاوم به آنتی بیوتیک های رایج را از بین می برد (مهدوی راد و همکاران، ۱۳۹۳).تعامل الکتروا ستاتیکی نانو ذرات باعث جذب آنها به سلول های هدف شده است. نانوذرات با بار مثبت به سلول های سرطانی که دارای درصد بالایی از فسفولیپیدهای آنیونی و گروهای خاصی از پروتئین های باردار و کربو، هیدرات ها را در سطح بیرونی خود دارند جذب می شوند(Wang,2004 , Weisheng et al,2009). تاکنون ترکیبات زیستی متعددی با گستره ی کاربردی متنوعی همچون اثرات آنتی بیوتیکی، ضدویروسی، ضدقارچی و ضدسرطانی از جلبکهای پرسلولی شناسایی و استخراج شده است و بسیاری از متابولیت‌های اولیه و یا ثانویه این جانداران می تواند به مواد زیست فعال مورد استفاده در صنایع دارویی تبدیل شود(Tuney et al.,2006).محصولات طبیعی جلبکهای دریایی دارای پتانسیلی برای استفاده در داروهای ضدسرطانی و داروهای ضدالتهابی هستند (Lee et al., 2013).

هپاتوسل کارسینوم(Hcc)یک نوع سرطان کبدی می باشد که اکثرا پس از ابتلا فرد به هپاتیت ویروسی B و C یا سیروز که در بیشتر موارد بعلت مصرف الکل می باشد رخ می دهد(Kumar et al,.2003). هپاتوسل کارسینوما مانند سرطان‌های دیگر زمانیکه یک موتاسیون در ماشین سلولی به تکثیر بی رویه سلول ها و یا نا شی از پرهیز سلول از پدیدهی آپوپتوزیس ایجاد می شود. در مورد هپاتیتهای B ، C و علت عمده(Hcc) حمله سیستم ایمنی خود فرد به سلولهای کبدی که آلوده به ویروس هستند می باشد(افشاری و همکاران ،۱۳۸۹). امروزه در سراسر دنیا یافتن ترکیبات طبیعی از موجودات دریایی به ویژه جلبکها که دارای اثرات ضدباکتریایی، ضدویروسی و ضدسرطانی هستند از اهمیت ویژه ای برخوردار است(بهرامیان،۱۳۸۸). از جمله این جلبکها میتوان به شاخه جلبکهای قرمز اشاره کرد که دارای مصارف کاربردی زیادی هستند(Sharma,1986). اعضای این گروه پرسلولی هستند و اغلب سلولهای آنها بیش از یک هسته دارند. این گروه معمولا از طریق جنسی تولیدمثل میکنند(دیار کیانمهر،۱۳۷۱). با توجه به فراوانی این گونه در برخی از مناطق ساحلی دریایی خزر استفاده از این جلبک به همراه ترکیبات ضد سرطانی نانوذرات نقره بر روی رده سلولی سرطان کبد (HepG2) قابل توجه می باشد.

در ایران تا کنون مطالعاتی تو سط قندهاری و همکاران(۱۳۹۷) با برر سی اثرات آنتی اکسیدانی و سمیت نانوذرات نقره سنتز شده به روش سبز توسط عصاره ی آبی گیاه روناس بر سلول های سرطانی کبد(HepG2)در مقایسه با سلول نرمال فیبروبلا ست پو ستی(HDF)، شالی و همکاران(۱۳۹۷) برر سی اثر سمیت سلولی و خواص آنتی اکسیدانی نانوذرات نقره ی سنتز شده به روش سبز از ریشه ی گیاه انجبار بر سلول های سرطانی کبد(HepG2) انجام شده است.

مواد و روش ها:

پس از جمع آوری نمونه*L.caspica* از سواحل جنوبی دریای خزر نمونه ها به آزمایشگاه انتقال داده شدند. در آنجا پس از شستشو با آب مقطر به مدت یک هفته در زیر سایه قرار داده شدند تا خشک شوند(Singaravelu et al.,2007) نمونه های خشک شده توسط گریندر به شکل پودر در آورده شدند؛ برای تهیه عصاره متانولی، ۱۰گرم از پودر خشک شده جلبک با

۴۰سی سی متانول مخلوط شـــــــده و به مدت ۱۰ ســـــــاعت به حالت سکون ماند. سپس عصاره ها به مدت ۲۵ دقیقه با سـرعتrpm ۴۰۰۰ دوبار سانتریفیوژ گردید و محلول رویی با استفاده از کاغذ صافی واتمن 1.NO ، فیلتر شد. جهت حذف حلال عصاره از اپراتور تحت خلاء اســتفاده گردید. برای ســنتز نانوذرات نقره از محلول نیترات-نقره به عنوان دریافت کننده یا پیشساز استفاده شد. مقدار ۱۷میلی گرم نیترات نقره در ۱۰۰ سی سی آب مقطر حل شد. به منظور احیاء یونهای+ Ag ۱۰، سی سی عصاره جلبک به ۹۰ سی سی محلول نیترات نقره ۱میلی مولار اضافه شد(Jegadeeswaran et al.,2012). در نهایت برای تعیین ویژگیها و اطمینان از تولید و کیفیت نانوذرات نقره ی سنتز شده از آزمایشات اسپکتروفوتومتری UV-VIS، XRD، FT-IR و SEM استفاده شد.

کشت سلولی:

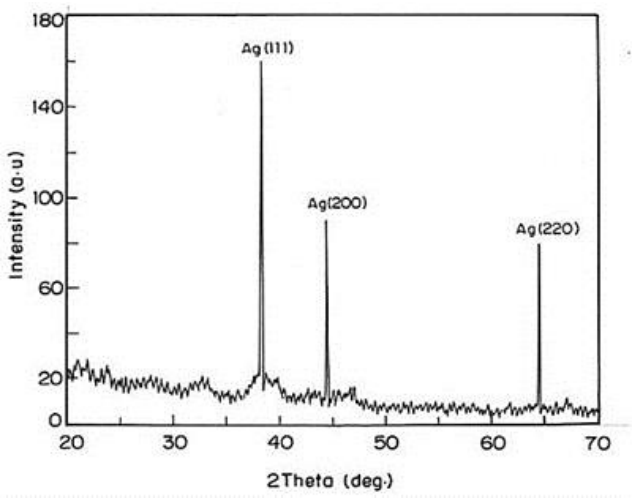
این مطالعه رده سلولی سرطانی کبد انسان از بانک سلولی انستیتو پاستور تهران خریداری شد. از پاساژهای سلولی بین ۲۶ تا ۳۱ در محیط کشتDMEM با ۱۰ درصد سرم جنین گوساله (FBS) سدیم پیروات ۱۰۰ میلی مولار ۱/۵ سدیم بیکربنات و ۱ درصد آنتی بیوتیک پنی سیلین استرپتومایسین که درco_2 انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و رطوبت کافی و میزان۵ در صد دی اکسید کربن استفاده شد . برای انجام تست های مختلف، زمانی که سلول ها حداقل به۷۰ در صد رشد سلولی رسیدند توسط تریپسین اتیلن دی آمین تترا استیک اسید(EDTA) از ته فلاسک جدا و در دور ۱۵۰۰rpmبه مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند. رسوب سلولی در یک سی سی محیط کشت به حالت سوسپانسیون تهیه شد ، درصد زنده بودن سلول های موجود در سوسپانسیون با مخلوط شدن نسبت مساوی از تریپان بلو با استفاده از لام هموسایتومتر و بررسی با میکروسکوپ نوری تعیین شد . پس از حصول اطمینان از عدم آلودگی سلول ها، از سلول های با درصد زنده بودن بالای ۹۰ درصد برای انجام تست استفاده شد.(رفرنس)

بررسی میزان سمیت سلولی با روش *MTT assay*:

به منظور بررسی اثر نانوذرات سنتز شده نقره با جلبک دریایی بر سلول های سرطانی از روش رنگ سنجی استفاده شد(Mosmann,1983).این روش یک تست متابولیک رقابتی میتوکندریایی است و بر اساس شکستن نمک تترازولیوم توسط آنزیم سوکسینات دهیدروژناز میتوکندریایی سلول های زنده استوار است . در این روش میزان ۱۰۰میکرولیتر محیط کشت حاوی تعداد 10^4 سلول در هر خانه پلیت ۹۶ خانه قرار داده شد. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون غلظت های۲۵، ۵۰ ، ۱۰۰، ۲۰۰ و۴۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر از نانوذرات سنتز شده ی نقره با جلبک دریایی به سلول ها اضافه شد و به ترتیب طی زمان های ۲۴ ساعت انکوبه شدند، پس از طی زمان های مذکور به هر خانه پلیت ۲۰ میکرولیتر MMT با غلظت ۵ میلی گرم برمیلی لیتر اضافه شد و به مدت ۴ ساعت دیگر در تاریکی و دمای ۳۷ درجه انکوبه شد . پس از طی زمان لازم محیط کشت حاوی به دقت خارج شد و به هر خانه پلیت میزان میکرولیتر ایزوپروپانول اسیدی شده جهت حل کردن فورمازان ارغوانی رنگ اضافه شد. پس از ۱۵ دقیقه انکوباسیون در دمای اتاق ، جذب نوری هر چاهک با استفاده از دستگاه الایزا در طول موج ۵۷۰ نانومتر در برابر طول موج رفرنس ۶۹۰ نانومتر قرائت شد. نتایج غلظتی که **IC**۵۰ (حاصله به صورت میزان بقای سلولی و سبب مهار رشد سلولی تا میزان ۵۰ درصد می شود) براساس منحنی غلظت (میکروگرم بر میلی لیتر) گزارش شدند(Arechabala et al.,1999).

فلو سایتومتری: سلول ها در پلیت های شش خانه کشت داده می شوند. سپس با نانوذره ی مجاور می شوند. پس از ۲۴ ساعت میزان بقای سلول ها به وسیله فلوسایتومتری بررسی می گردد.

نتایج:

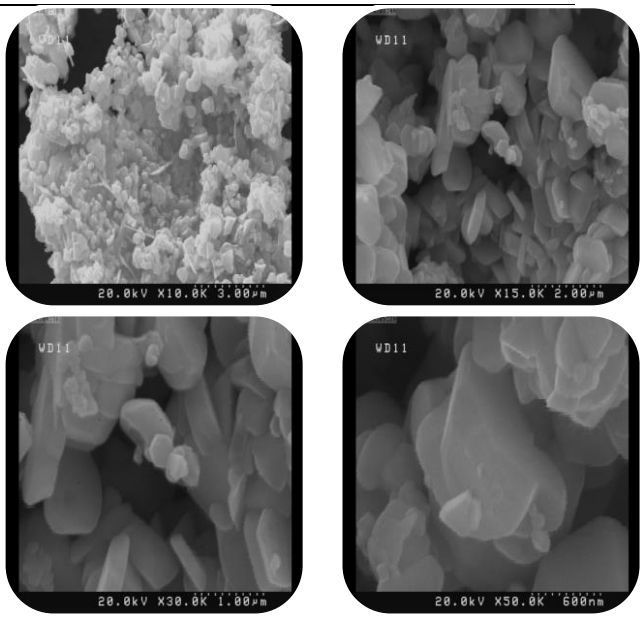


شکل ۱: طیف XRD **نانوذره نقره سنتز شده از جلبک دریایی** *Laurencia caspica*

همانطورکه شکل (۱) نشان می دهد نانوذره نقره سنتز شده از ۳پیک پراش در نواحی عددی ۳۸ ، ۴۴ و ۶۴ می باشند. نتایج فوق از نظر مقایسه محل و شدت پیک های پراش با محل پیک و شدت های نسبی پیک مرجع(**Sharma et al.,2018**) مورد تایید می باشد. نانوذره نقره سنتز شده از نظر رنگ سفید ،کروی شکل و اندازه **nm** ۱۸۷ می باشد(جدول ۱)

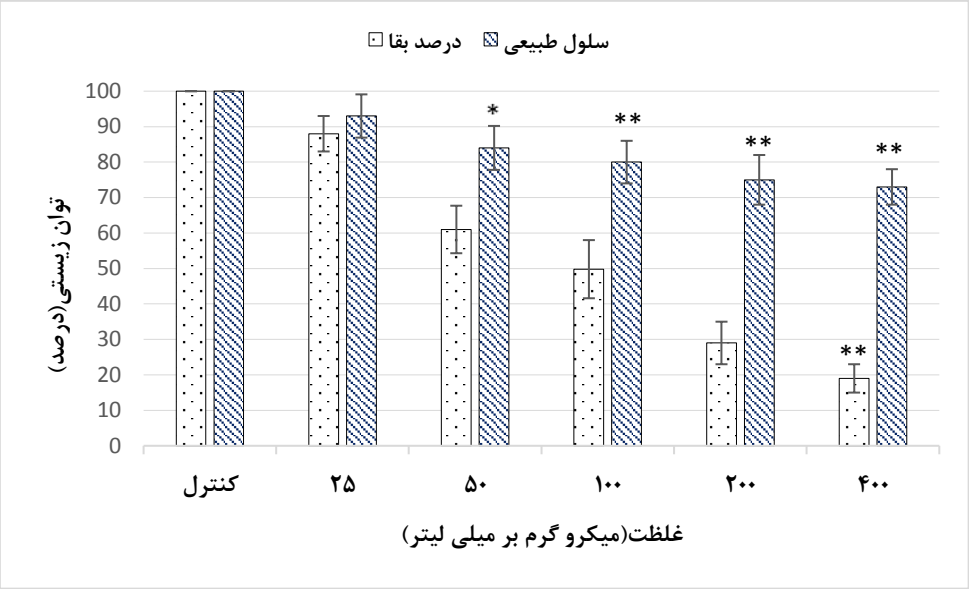
جدول ۱: مشخصات کلی **نانوذره نقره سنتز شده از جلبک دریایی** *Laurencia caspica*

پارامترها	درصد خلوص	رنگ	شکل ذرات	اندازه ذرات(**nm**)
مقادیر	>۹۹	سفید	کروی	۱۸۷



شکل ۲: تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی (**SEM**) از نانوذرات نقره مورد استفاده در این تحقیق.

بررسی اثر سمیت سلولی نانوذره سنتز شده بر سلول های سرطانی در مقایسه با سلول های نرمال:



شکل ۳: درصد بقای سلول های طبیعی و سرطانی دربرابر ترکیب غلظت نانودرات نقره و عصاره جلبکی *Laurencia caspica* در مدت زمان ۲۴ ساعت(اختلاف معنی دار در سطح ۰/۰۵ >**p:*** , ۰/۰۱ >**p:****).

میزان سمیت نانوذره بر دو رده سلول های سرطانی در مقایسه با سلول های نرمال مورد ارزیابی قرار گرفت.ترکیب نانوذره نقره به همراه عصاره جلبکی *L. caspica* تاثیر معنی داری بر کاهش رده سلولی سرطان کبد (HepG2) دارد. با افزایش غلظت های ترکیب نانو ذره نقره به همراه عصاره جلبکی *L. caspica* اثرات ضد سرطانی قابل ملاحظه ای در ترکیب مورد برر سی مشاهده شد(شکل ۳). میزان حیات سلولی سرطان کبد (HepG2) در محدوده غلظت های بیش از ۵۰ میکروگرم برمیلی لیتر از ترکیب نانوذره نقره با عصاره جلبکی *L. caspica* پس از ۲۴ ساعت روند کاهشی دارد کاهش زیادی را در مقایسه با غلظت های کمتر از خود نشان می دهند.

بحث:

تاکنون ترکیبات زیستی متعددی با گستره کاربردی متنوعی همچون اثرات آنتی بیوتیکی، ضدویروسی، ضدقارچی و ضدسرطانی از جلبکهای پرسلولی شناسایی و استخراج شده است و بسیاری از متابولیتهای اولیه و یا ثانویه این جانداران می تواند به مواد زیست فعال مورد استفاده در صنایع دارویی تبدیل شود(Tuney et al.,2006).محصولات طبیعی جلبکهای دریایی دارای پتانسیلی برای استفاده در داروهای ضدسرطانی و داروهای ضدالتهابی هستند (lee et al., 2013).

یافته ها نشان داد که میزان حیات سلولی سرطان کبد (HepG2) در محدوده غلظت های بیش از ۵۰ میکروگرم برمیلی لیتر از ترکیب نانوذره نقره با عصاره جلبکی *L. caspica* پس از ۲۴ ساعت روند کاهشی دارد و کاهش زیادی را در مقایسه با غلظت های کمتر از خود نشان می دهند ، این روند کاهشی متناسب با غلظت نانوذرات با عصاره جلبکی می باشد به طوری که در غلظت های بالا میزان حیات سلولی، کاهش زیادی را در مقایسه با غلظت های کمتر از خود نشان می دهند. Zaleta و همکاران(۲۰۱۴) نیز *Laurencia pacifica* نشان داده شد که ترکیبات موجود در این عصاره قادر به مهار تکثیر سلولهای سرطانی معده، پستان، کولون، تخمدان، ریه، پانکراس، پروستات، پوست و نوروبلاستوما می گردد.در مطالعه ای که Dellai و همکارانش (۲۰۱۳) بر روی عصاره هیدروالکلی جلبک قرمز *Laurencia obtuse* جدا شده از سواحل مدیترانه نشان دادند که این عصاره دارای فعالیت ضدتکثیری روی سه رده سرطانی MCF ،و HCT15 ،A549 ،7 در انسان است. شفقی و همکاران (۱۳۹۵) با بررسی اثرات ضدسرطانی عصاره جلبک قرمز *L. caspica* بر روی رده سلول سرطانی پستان (T47D) نشان دادند که عصاره جلبک، رشد سلولهای T47D را کاهش می دهد. همچنین مطالعات صورت گرفته مهدوی راد و

همکاران (۱۳۹۳) با عنوان اثرات ضد سرطانی نانوکامپوزیت اکسید روی و ترکیب نانویی نقره با اکسید روی بر سلول های رده سرطانی بدخیم ملانوما (A-375) نشان دادند که با افزایش غلظت حیات سلولی کاهش زیادی را در مقایسه با غلظت های کمتر از خود نشـــان می دهند. یافته های این پژوهش با نتایج این محققین همســـو می باشـــد. در واقع ترکیب نانوذره نقره به همراه عصاره جلبکی *L. caspica* تاثیر معنی داری بر کاهش رده سلولی سرطان کبد (HepG2) دارد.

منابع:

۱) بهرامیان پ .،۱۳۸۸. بررســـی اثر ضـــدباکتریایی عصـــاره جلبک ســـبز، گونه کالرپا ســـرتولاریوایدز پایان نامه .(***Caulerp sertularioides***) دکترای حرفهای پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات درمانی بوشهر.صفحه ۸۵.

۲) تربالی ن ،بهاور م، عین اللهی ن، نباتچیان ف .،۱۳۹۱. بررســـی اثر نیترات نقره بر فعالیت آنزیم پرا کســـیداز ترب کوهی، مجله علمی پژوهشی فیض، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، شماره ۷، صفحات ۷۱۳-۷۱۴.

۳) توکل افشاری ج، محقی ن، اعظم بروک ا.، ۱۳۸۹. بررسی اثرتوکسیسیته عصاره الکلی زنجبیل تازه بر سلول های سرطانی کبد. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی همدان،شماره۲، صفحات ۵۶-۵۲.

۴) شالی ر، نعمتی ع، اردلان پ .،۱۳۹۷.بررسی اثر سمیت سلولی و خواص آنتی اکسیدانی نانوذرات نقره سنتز شده به روش سبز از ریشه گیاه انجبار بر سلول های سرطانی کبد**(HepG2)** . مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی ایلام. دوره ۲۶ , شماره ۶ ، ص ۱۳۳-۱۴۲.

۵) شفقی م ، صالحزاده ع، اعظم م شفق ا.،۱۳۹۵. اثرات ضد سرطانی ع صاره جلبک قرمز بر رده سلولی (**T47D**) سرطان پ ستان. فیزیولوژی و بیوتکنولوژی آبزیان، شماره ۱، صفحات ۸۲-۷۰.

۶) مهدوی راد م، نجف زاده ن، نیاپور ع، جعفری ع .،۱۳۹۳. اثرات ضـــد ســـرطانی نانوکامپوزیت اکســـید روی و ترکیب نانویی نقره با اکسیدروی بر سلول های رده سرطانی بدخیم ملانوما(**A-375**). مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک،شماره ۶، صفحات ۷۴-۸۳.

۷) قندهاری س، همایونی تبریزی م، اردالان پ.،۱۳۹۷. بررسی اثرات آنتی اکسیدانی و سمیت نانوذرات نقره سنتز شده به روش سبز توسط عصاره آبی گیاه روناس بر سلول های سرطانی کبد(**HepG2**)در مقایسه با سلول نرمال فیبروبالست پوستی(**HDF**). مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی ایلام. دوره۲۶، شماره۲،ص ۵۷-۶۷.

۸) دیار کیانمهر ه.، ۱۳۷۱ . مبانی جلبک شناسی. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد. صفحه ۲۵۲.

9) Arechabala, B., Coiffard, C., Rivalland, P., Coiffard, L., & de Roeck-Holtzhauer, Y. (1999). Comparison of cytotoxicity of various surfactants tested on normal human fibroblast cultures using the neutral red test, MTT assay and LDH release. Journal of applied toxicology, 19(3), 163-165 .

10) Boenigk, J., Beisser, D., Zimmermann, S., Bock, C., Jakobi, J., Grabner, D., . . . Sures, B. (2014). Effects of silver nitrate and silver nanoparticles on a planktonic community: general trends after short-term exposure. PloS one, 9(4), e95340 .

11) Chambers, C. W., Proctor, C. M., & Kabler, P. W. (1962). Bactericidal effect of low concentrations of silver. Journal (American Water Works Association), 54(2), 208-216 .

12) Cos, P., Vlietinck, A. J., Berghe, D. V., & Maes, L. (2006). Anti-infective potential of natural products: how to develop a stronger in vitro ‘proof-of-concept’. Journal of ethnopharmacology, 106(3), 290-302 .

13) Dellai, A., Laajili, S., Le Morvan, V., Robert, J., & Bouraoui, A. (2013). Antiproliferative activity and phenolics of the Mediterranean seaweed Laurencia obusta. Industrial crops and Products, 47, 252-255 .

14) Fraire, A. E., & Dail, D. H. (2008). Miscellaneous tumors and tumor-like proliferations of the lung Dail and Hammar’s Pulmonary Pathology (pp. 500-541): Springer.

15) Gong, P., Li, H., He, X., Wang, K., Hu, J., Tan, W., . . . Yang, X. (2007). Preparation and antibacterial activity of Fe3O4@ Ag nanoparticles. Nanotechnology, 18(28), 285604 .

16) Jegadeeswaran, P., Shivaraj, R., & Venckatesh, R. (2012). Green synthesis of silver nanoparticles from extract of Padina tetrastromatica leaf. Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures, 7(3), 991-998 .

17) Lee, J.-C., Hou, M.-F., Huang, H.-W., Chang, F.-R., Yeh, C.-C., Tang, J.-Y., & Chang, H.-W. (2013). Marine algal natural products with anti-oxidative, anti-inflammatory, and anti-cancer properties. Cancer Cell International, 13(1), 55 .

18) Lin, W., Xu, Y., Huang, C.-C., Ma, Y., Shannon, K. B., Chen, D.-R., & Huang, Y.-W. (2009). Toxicity of nano-and micro-sized ZnO particles in human lung epithelial cells. Journal of Nanoparticle Research, 11(1), 25-39 .

19) Mosmann, T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. Journal of immunological methods, 65(1-2), 55-63 .

20) Rather, M., Sharma, R., Aklakur, M., Ahmad, S., Kumar, N., Khan, M., & Ramya, V. (2011). Nanotechnology: a novel tool for aquaculture and fisheries development. A prospective mini-review. Fisheries and Aquaculture Journal, 16(1-5), 3 .

21) Singaravelu, G., Arockiamary, J., Kumar, V. G., & Govindaraju, K. (2007). A novel extracellular synthesis of monodisperse gold nanoparticles using marine alga, Sargassum wightii Greville. Colloids and surfaces B: Biointerfaces, 57(1), 97-101 .\

22) Sharma O.P. 1986. Text Book of Algae. McGraw Hill, New Delhi. 396P.

23) TÜney, İ., Cadirci, B. H., Ünal, D., & Sukatar, A. (2006). Antimicrobial activities of the extracts of marine algae from the coast of Urla (Izmir, Turkey). Turkish Journal of Biology, 30(3), 171-175 .

24) Wang, Z. L. (2004). Zinc oxide nanostructures: growth, properties and applications. Journal of Physics: Condensed Matter, 16(25), R829 .

25) Zaleta-Pinet, D. A., Holland, I. P., Muñoz-Ochoa, M., Murillo-Alvarez, J. I., Sakoff, J. A., van Altena, I. A., & McCluskey, A. (2014). Cytotoxic compounds from Laurencia pacifica. Organic and medicinal chemistry letters, 4(1), 8.

Study of the antioxidant capacity of silver nanoparticles synthesized from *Laurencia caspica* seaweed on liver cancer cell line (HepG2)

Shahryar Tagheipour Kouhbaneh*1, Mahboubeh Radmehr2

[1]Researchers and Elites Club, Lahijan Branch, Islamic Azad University, Lahijan, Iran, PO Box 1616.

[2]Department of Geology, Islamic Azad University, Lahijan, Iran, PO Box 1616

Corresponding author: Tagheipour@gmail.com

Abstract:

Introduction: Hepatocele carcinoma is a type of liver cancer that occurs most often after a person has been infected with viral hepatitis B and C or cirrhosis, which is most often due to alcohol consumption.

Objective and importance of the research: Today, finding natural compounds from marine organisms, especially algae, as well as nanoparticles that have antibacterial, antiviral and anticancer effects is of particular importance around the world. The aim of this study was to investigate the antioxidant capacity of silver nanoparticles synthesized with *Laurencia caspica* seaweed on liver cancer cell line (HepG2).

Research method: In this experimental (interventional) study, HepG2 cell lines were cultured in RPMI1640 medium supplemented with 10% fetal calf serum, 2 mM glutamine, 110 u/m penicillin, 100 µg/ml, 0.1 mM non-essential amino acids and 1 mM sodium pyruvate. After collecting *L. caspica* samples from the southern coast of the Caspian Sea, the hydroalcoholic extract of the algae was obtained by percolation using 50% methanol solvent. The cells were exposed to silver nanoparticles and *L. caspica* algae extract at 24-hour intervals.

Results: This study showed that the combination of silver nanoparticles in *L. caspica* algal extract has a significant effect on the reduction of liver cancer cell line (HepG2). With increasing concentrations of the combination of silver nanoparticles with the extract, significant anticancer effects were observed in the studied combination.

Keywords: Antioxidant, Silver nanoparticles, Algae extract, *Laurencia caspica*, Liver