

## مقاله تحقیقی

### بیوسنتز نانو ذرات نقره توسط عصاره ی برگ اکالیپتوس و اصلاح شیمیایی آنها به منظور مطالعه ی جذب داروی کورکومین

علی اسماعیلی<sup>۱</sup>، الهام منیری<sup>۲</sup>، راحله صفائی جوان<sup>۳\*</sup>، همایون احمدپناهی<sup>۴</sup>

۱. گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات.
۲. گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، واحد ورامین - پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی
۳. گروه بیوشیمی بیوفیزیک، دانشکده علوم زیستی، واحد ورامین - پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی
۴. گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، واحد تهران مرکز، دانشگاه آزاد اسلامی

\*مسئول مکاتبات: گروه بیوشیمی بیوفیزیک، دانشکده علوم زیستی، واحد ورامین - پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی. پست الکترونیک: [safaeijavan@gmail.com](mailto:safaeijavan@gmail.com)  
محل انجام تحقیق: دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات تهران

تاریخ پذیرش: ۹۵/۶/۲۶

تاریخ دریافت: ۹۵/۵/۲۳

#### چکیده

در این پژوهش جذب داروی کورکومین بر روی نانو ذرات نقره اصلاح شده که با استفاده از عصاره ی برگ اکالیپتوس *Eucalyptus globulus* سنتز شد، بررسی گردید. همچنین به منظور افزایش زیست پایداری نانو ذرات نقره و ایجاد تعامل مناسب بین نانو ذرات و جذب دارو، سطح نانو ذرات به وسیله تری پتید گلوکوتایون از لحاظ شیمیایی مورد اصلاح قرار گرفت. بررسی تأیید سنتز نانو ذرات با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر و نیز موفولوژی و اندازه ی آنها با استفاده از میکروسکوپ الکترونی عبوری TEM انجام گرفت. نانو ذرات اغلب به صورت کروی بودند و اندازه ی آنها بین ۱۰ تا ۸۰ نانومتر تخمین زده شد. اتصال گلوکوتایون به سطح نانو ذرات نقره انجام گردید و تأیید اتصال لیگاند مورد نظر از طریق دستگاه طیف سنج مادون قرمز FT-IR و تست آنالیز عنصری CHN صورت پذیرفت. سپس فرآیند جذب و بارگذاری داروی کورکومین بر روی نانو ذرات عامل دار شده از لحاظ pH، زمان و غلظت، بهینه سازی گردید و بررسی فرآیند تأیید جذب دارو بر روی نانو ذرات توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۸۰ نانومتر انجام گرفت.

**واژه های کلیدی:** نانو ذرات نقره، سنتز سبز، گلوکوتایون، کورکومین، جذب

#### مقدمه

گرفته است. اخیراً تولید نانو ذرات فلزی با روش شیمی سبز و استفاده از عصاره گیاهان (فیتونانوتکنولوژی)<sup>۱</sup> مطرح گردیده که از مزایای زیادی همچون تولید ساده و کم هزینه، دوست دار محیط زیست بودن<sup>۲</sup> و زیست پایداری بالا برخوردار می باشد. و نیز به خاطر داشتن خصوصیات ماندند پایداری و زیست سازگاری در سیستم های بیولوژیکی، در شاخه های علمی همچون زیست فناوری و

فناوری نانو به عنوان یکی از امیدبخش ترین فناوری ها در علوم مختلف مطرح گردیده است و کاربردهای بسیاری در شاخه های علمی مختلف دارد. تولید نانو ذرات فلزی که یکی از دستاوردهای مهم در نانوتکنولوژی محسوب می شود، به دلیل گستره ی کاربردی فراوان در فعالیت های زیست پزشکی و زیست فناوری مورد توجه بسیاری قرار

<sup>۱</sup> -Phytonanotechnology

<sup>۲</sup> - Eco-friendly

### مواد و روش ها

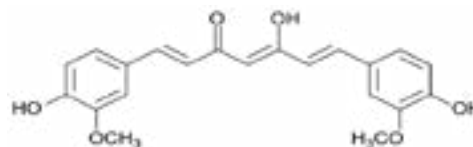
مواد استفاده شده در این تحقیق شامل نیترات نقره ساخت شرکت مرک آلمان و فرم کاهش یافته تری پیتید گلوکاتایون G4251 از شرکت سیگما آلدریج آمریکا می باشد. کورکومین C-1386 از شرکت سیگما آلدریج تهیه گردید. در ساخت کلیه محلول ها از آب مقطر دوبار تقطیر استفاده شده است. تجهیزات استفاده شده در این پژوهش نیز شامل دستگاه اسپکتوفوتومتر UV Visible مدل Cary 300، میکروسکوپ الکترونی عبوری مدل Philip, EM، 2008 Manufacture Specification دستگاه طیف سنج مادون قرمز مدل thermo nicolet nexus870 و دستگاه CHN Analyzer مدل EURO EA 3000 می باشد.

### بیوسنتز نانو ذرات نقره

برگ های تازه اکالیپتوس از پارک محلی در تهران جمع آوری شد و توسط متخصص گیاه شناسی مورد تایید قرار گرفت. سطح برگ ها با آب معمولی و با آب مقطر شستشو داده شد و به مدت ۴۸ ساعت در مکانی تاریک قرار گرفت تا خشک شود. بعد از خشک شدن کامل، برگ ها آسیاب شدند. برای عصاره گیری مقدار ۰/۵ گرم از پودر برگ با ۵۰ میلی لیتر آب مقطر مخلوط شد و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد جوشانده شد و از کاغذ صافی واتمن عبور داده شد. سپس جهت سنتز نانوذرات مقدار ۱۰ میلی لیتر از عصاره آبی را به ۵۰ میلی لیتر نیترات نقره ۱۰ میلی مولار افزوده و به مدت ۲۴ ساعت روی شیکر قرار گرفت. سپس محلول نانو ذرات با دور ۱۴۰۰۰ آر پی ام به مدت ۱۰ دقیقه برای جداسازی نانوذرات از عصاره سانتریفیوژ گردید. به منظور حذف باقی مانده عصاره، نانوذرات ۲ بار با آب مقطر شستشو داده و سانتریفیوژ شد. رسوب به دست آمده در دمای اتاق خشک گردید و در شیشه در بسته برای مراحل بعدی کار نگهداری شد (۲).

### بررسی نانو ذرات تولید شده

زیست پزشکی اهمیت زیادی پیدا کرده است (۱). استفاده از عصاره گیاهی برای تولید نانو ذرات بر خلاف روشهای شیمیایی هیچگونه اثر سمیتی در سیستم های بیولوژیکی ندارد و میتوان از آنها در زمینه های مختلف علمی مانند زیست فناوری، پزشکی و محیط زیست بهره برد. عصاره اکالیپتوس دارای ترکیباتی از جمله آلدئید<sup>۳</sup> و کتون<sup>۴</sup> است مانند پینوکارون<sup>۵</sup>، کریپتون<sup>۶</sup>، وربنون<sup>۷</sup>، کاروتاناستون<sup>۸</sup>، پیرپیتون<sup>۹</sup> و ایندانون<sup>۱</sup> که به طور بالقوه می توانند به عنوان عوامل کاهنده و کاهش یون نقره و سنتز نانو ذرات نقره استفاده شود (۲). از دیگر کاربردهای مهم نانو ذرات می توان به استفاده از نانو ذرات به عنوان حامل در رسانش داروهای مختلف به بافت های مختلف مانند بافت سرطان اشاره نمود. برای افزایش ماندگاری و نیز پایداری نانو ذرات و از بین بردن پتانسیل های منفی و کاهش اثرات نامطلوب نانو ذرات بر روی سلامت انسان، می بایست سطح نانو ذرات را از لحاظ شیمیایی با استفاده از مولکولهای زیستی مناسب مانند آمینو اسیدها و ... مورد اصلاح قرار داد. این امر سبب افزایش ماندگاری و اثر بخشی دارو می گردد و همچنین نانو ذرات حامل دارو، تنها بافت مورد نظر و یا سلولهای سرطانی را مورد هدف قرار می دهند بدون آنکه سلول های سالم آسیب قابل توجهی ببینند (۳). کورکومین یکی از ترکیبات مهم با منشأ گیاهی می باشد و خواص درمانی زیادی دارد و مهمترین آن کاربرد آن در درمان بیماری سرطان است (۴و۵) (شکل ۱). همچنین خواص قابل ملاحظه ای از کورکومین یافت شده است که تاثیر زیادی بر مسیر های مختلف بیولوژیکی از جمله، تنظیم چرخه سلولی، آپوپتوز، متاستاز، و نیز اثر ضدتکثیری سلول تومور در بسیاری از سرطان ها را دارا می باشد (۶).



شکل ۱ - ساختار شیمیایی کورکومین.

- 7- Verbenone  
8- Carvotanacetone  
9- Piperitone  
1 - Indanone

- 3- Aldehyde  
4- ketone  
5- Pinocarvone  
6- Cryptone

در این آزمایش یک گرم نمونه نانوجاذب اصلاح شده آماده شد و برای اندازه گیری مقدار کربن و هیدروژن مورد آزمایش قرار گرفت.

### ارزیابی عوامل مختلف برای جذب بهینه داروی کورکومین بر روی سطح نانو جاذب

محلول های اولیه ۵۰۰ پی پی ام و ثانویه ۵۰ پی پی ام از کورکومین تهیه شد. طیف جذبی از محلول دارو به منظور تعیین لاندا ماکس دارو توسط دستگاه اسپکترومتر گرفته شد و لاندا ماکس یا حداکثر جذب کورکومین تعیین گردید. سپس به ترتیب عوامل مؤثر بر جذب کورکومین مانند: pH، زمان و غلظت بهینه سازی گردید. در ابتدا فرآیند جذب در بافرهای<sup>۱</sup> pH های مختلف ۳ الی ۱۰ انجام شد. سپس جذب در pH بهینه و با متغییر زمانی ۲ الی ۱۲۰ دقیقه به منظور تعیین زمان مناسب جذب انجام گرفت و در نهایت جذب در غلظت های مختلف ۰/۵ الی ۱۰۰ پی پی ام انجام شد. در مرحله تعیین pH و زمان بهینه، ۰/۰۰۵ گرم نانو جاذب با ۱۵ میلی لیتر محلول ۲۰ پی پی ام کورکومین به همراه ۲/۵ میلی لیتر بافر ترکیب و بطور جداگانه مدت یک ساعت روی همزن قرار گرفتند. در مرحله تعیین غلظت بهینه، ۰/۰۰۵ گرم نانو جاذب با ۱۵ میلی لیتر محلول کورکومین با غلظت های ۰/۵ الی ۱۰۰ پی پی ام به همراه ۲/۵ میلی لیتر بافر بهینه ترکیب گردید و یک ساعت روی همزن قرار گرفت. سپس هر مرحله با دور ۲۰۰۰ آر پی ام سانتریفیوژ گردید و فاز روئی محلول جدا و جذب نمونه در لاندا ماکس مربوط توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر به منظور مقایسه با جذب استاندارد گرفته شد. در همه ی مراحل از بافر رقیق شده به عنوان شاهد و محلول ۲۰ پی پی ام کورکومین برای pH و زمان بهینه به عنوان استاندارد استفاده گردید، و برای تعیین ظرفیت جذب از محلول های با غلظت های مورد نظر به عنوان استاندارد استفاده شد. به منظور تأیید مراحل جذب، میزان جذب نمونه می بایستی کمتر و یا حداکثر برابر با استاندارد باشد. غلظت کورکومین جذب نشده بر روی سطح نانوجذب از طریق معادله حاصل از غلظت های استاندارد (در دامنه غلظتی ۰،۱ تا ۱۲۰ پی پی ام) محاسبه شده و از غلظت کورکومین اولیه که برای تهیه هر نمونه استفاده گردید

### مشاهده تغییر رنگ و بررسی توسط طیف سنجی UV-VIS

مشاهده و بررسی تغییر رنگ محلول از زرد کم رنگ به قهوه ای تیره تا سیاه نشان دهنده ی تولید نانو ذرات نقره بوده است. سپس جهت اطمینان از تولید این ذرات، از دستگاه اسپکتوفوتومتر UV Visible در دمای محیط استفاده شد. میزان جذب نمونه در محدوده طول موج ۲۰۰ تا ۸۰۰ نانومتر اسکن گردید.

### بررسی توسط میکروسکوپ الکترونی عبوری

جهت تعیین اندازه و بررسی مورفولوژی سطح نانوذرات از TEM استفاده گردید. از آنجا که پودر خشک نانوذرات چسبیده بوده و برای تصویربرداری مناسب نیستند، از محلول کلونیدی سونیکیت شده آنها در اتانول خالص استفاده شد و سپس بر روی گرید های مخصوص دستگاه قطره گذاری گردید و پس از خشک شدن، گریدها برای عکس برداری در ستون میکروسکوپ الکترونی عبوری قرار داده شد و با استفاده از عدسی های چشمی دستگاه مورد بررسی قرار گرفت و عکس ها تهیه شد.

### اصلاح سطحی

به منظور اصلاح سطح ذرات از تری پتید گلوکوتایون به عنوان لیگاند مناسب استفاده شد. مقدار ۰/۰۱۰ گرم نانو ذرات نقره به محلول ۰/۵ درصد گلوکوتایون افزوده و در شرایط تاریکی به مدت ۲ ساعت روی همزن قرار گرفت، سپس نمونه به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۱۲۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ شد و نانو ذرات اصلاح شده از آن جدا گردید.

### بررسی و تأیید اتصال گلوکوتایون به نانوذرات نقره

#### بررسی توسط طیف سنجی FT-IR

نمودار جذب گلوکوتایون و نانوجاذب تولید شده با استفاده از FT-IR جهت بررسی و تأیید این اتصال مورد مطالعه قرار گرفت.

### آنالیز عنصری CHN

3-Magic buffer

۵۰۰- نانومتر می باشد که در محدوده ی ۴۴۰ نانومتر روئیت گردید (شکل ۲).

کاسته شد تا غلظت کورکومین جذب شده بر روی سطح نانو جاذب بدست آید.

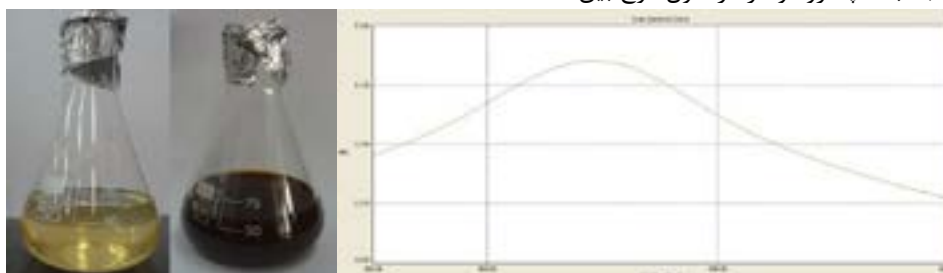
### نتایج میکروسکوپ الکترونی عبوری

بررسی و تعیین اندازه و شکل نانو ذرات نقره با استفاده از میکروسکوپ الکترونی عبوری صورت گرفت. نانو ذرات تولید شده کروی بودند و اندازه آنها بین ۱۰ تا ۸۰ نانومتر تخمین زده شد (شکل ۳).

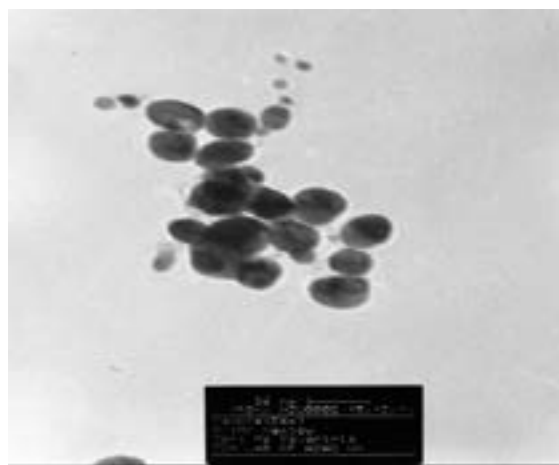
### نتایج و بحث

#### نتایج مشاهده تغییر رنگ و بررسی توسط طیف سنجی UV-VIS

اولین علامت تغییر رنگ محلول از زردکمرنگ به قهوه ای تیره می باشد نشان دهنده شکل گرفتن نانو ذرات می باشد. سپس جذب اسپکتروفوتومتر در طول موج بین ۴۰۰



شکل ۲ - عکس سمت چپ تغییر رنگ محلول و سمت راست طیف جذبی نانوذرات.



شکل ۳ - عکس میکروسکپ الکترونی عبوری TEM از نانوذرات نقره.

در طیف حاصل از گلوکاتایون پیک مشاهده شده در ناحیه 3433 مربوط به گروه OH، پیک مشاهده شده در ناحیه 1715,71  $\text{cm}^{-1}$  مربوط به گروه C=O، پیک مشاهده شده در ناحیه 1603,80  $\text{cm}^{-1}$  مربوط به گروه CH<sub>2</sub> و پیک مشاهده شده در ناحیه 1240,61  $\text{cm}^{-1}$  مربوط به گروه C-O، پیک مشاهده شده در 2522  $\text{cm}^{-1}$  مربوط به SH موجود در گلوکاتایون می باشد. این اتصال از طریق پیوند تیولات بین گروه شیمیایی تیول موجود در ساختار شیمیایی

### نتایج طیف سنجی مادون قرمز

پس از سنتز نانوذرات نقره اقدام به اصلاح سطحی نانوذرات بوسیله ی تریپتید گلوکاتایون شد. اتصال گلوکاتایون به نانو ذرات با دستگاه طیف سنج مادون قرمز FT-IR نقره به دو صورت جداگانه ابتدا گلوکاتایون خالص و سپس گلوکاتایون متصل به نانو ذرات مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت.

مشاهده گردید. عوامل مؤثر بر فرآیند جذب داروی کورکومین بر روی نانو ذرات عامل دار شده بهینه سازی شد در آغاز برای تعیین pH بهینه فرآیند جذب کورکومین در pH های ۳ الی ۱۰ بررسی شد. نتایج حاصل نشان داد بیشترین جذب با توجه ساختار شیمیایی کورکومین در pH=4 در لاندماکس ۴۸۰ نانومتر روئیت گردید و با افزایش pH میزان جذب نیز کاهش یافت. در ادامه میزان جذب کورکومین در pH بهینه با متغییر زمانی بین ۲ الی ۱۲۰ دقیقه به منظور تعیین زمان بهینه جذب انجام شد و با توجه به نتایج حاصل حداکثر جذب در ۳۰ دقیقه ی اول مشاهده گردید و با افزایش زمان میزان جذب روند یکنواختی از خود نشان داد. در نهایت مقدار جذب کورکومین در غلظت های ۰/۵ الی ۱۰۰ پی پی ام در pH ۷ زمان بهینه مورد بررسی قرار گرفت و بیشترین جذب در غلظت ۱۰۰ پی پی ام مشاهده گردید که نشان دهنده ی ظرفیت جذب بالای دارو توسط نانو جاذب تولید شده می باشد (شکل ۵).

گلوتاتیون به سطح نانو ذرات صورت گرفت. بررسی طیف حاصل از نانوذرات اصلاح شده، ناپدید شدن پیک موجود در ناحیه  $2522\text{ cm}^{-1}$  را نشان می دهد که درگیر شدن این گروه عاملی در پیوند با نانوذرات را تایید می کند (شکل ۴).

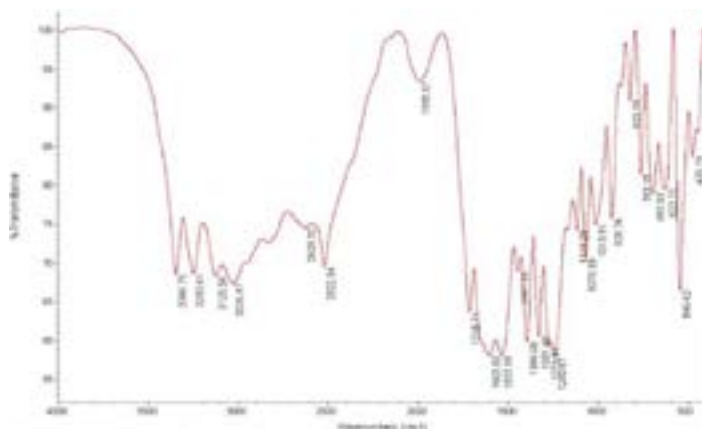
#### نتایج تست آنالیز عنصری (CHN)

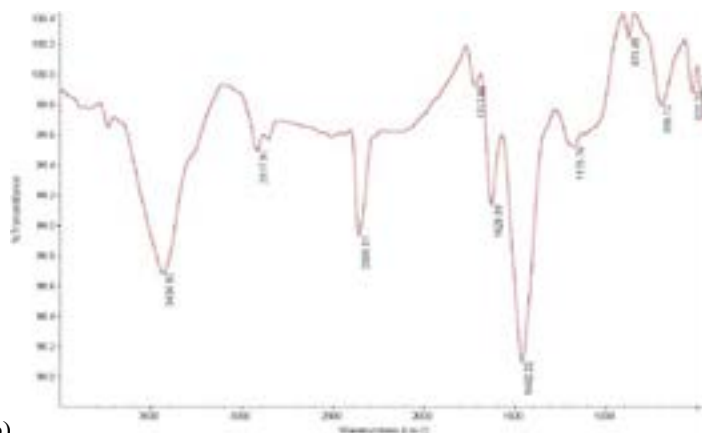
به منظور تأیید اتصال گلوتاتیون به نانو ذرات نقره تست آنالیز عنصری انجام گرفت. نتایج حاکی از حضور کربن، هیدروژن، نیتروژن و گوگرد در نمونه اصلاح شده بود در حالی که نقره به تنهایی فاقد این عناصر است. در این تست جرم کربن، هیدروژن، نیتروژن و گوگرد اندازه گیری شد. باقی مانده ی جرم مربوط به نانو ذرات نقره می باشد (جدول ۱).

#### نتایج بهینه سازی پارامترهای جذب کورکومین بر روی سطح نانوجاذب

طیف جذبی دارو توسط دستگاه اسپکترومتر گرفته شد و حداکثر جذب کورکومین در ناحیه ۴۸۰ نانومتر

a)





b)

شکل ۴ - (a) طیف جذبی FT-IR از گلوپتایون خالص. (b) طیف جذبی FT-IR از گلوپتایون متصل به نانو ذرات نقره و حضور گروههای شیمیایی.

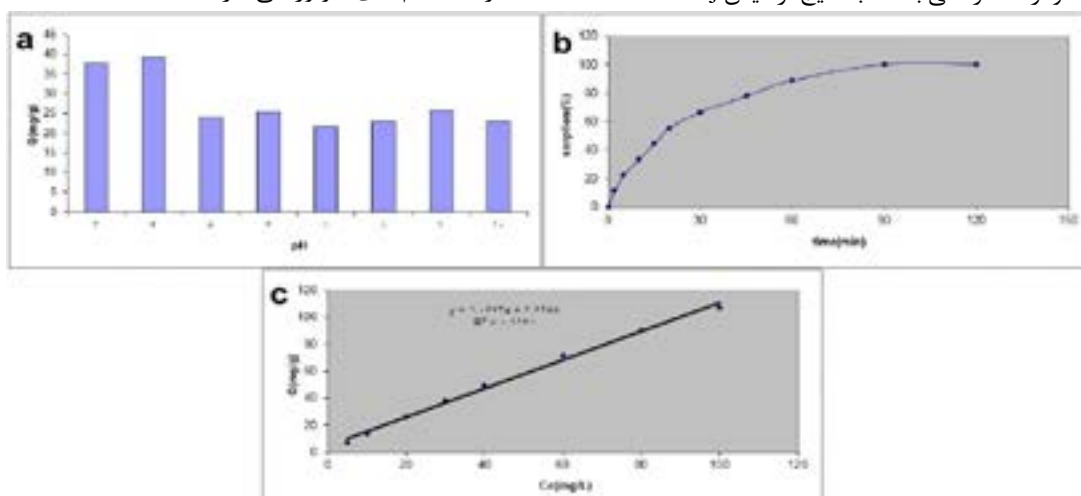
جدول ۱ - نتایج تست آنالیز عنصری نانو ذرات نقره اصلاح شده با گلوپتایون.

گوگرد، %	هیدروژن، %	نیتروژن، %	کربن، %
2/252	2/809	3/334	12/62

و همکاران در سال 2010 و همچنین Tessier و همکاران در سال 2000 مشابهت داشت (۹و۸). در ادامه جذب در ناحیه بین ۴۰۰ تا ۵۰۰ نانومتر مشاهده شد که با توجه به تحقیقات انجام شده جذب در این ناحیه نشان دهنده ی حضور فلز نقره و تأیید سنتز نانو ذرات نقره می باشد (۱۰). در ادامه مطالعات میکروسکوپ الکترونی اندازه زیر ۱۰۰ نانومتری و شکل کروی نانوذرات را تایید کرد. نانوذرات با این اندازه و شکل کارایی مناسب و زیست سازگاری بهتری در سیستم های بیولوژیکی دارد (۱۱).

### بحث و نتیجه گیری

بیوسنتز نانو ذرات نقره با روش سنتز سبز در شرایط بهینه انجام گرفت و نیز عصاره ی آبی برگ اکالیپتوس قابلیت بالایی در سنتز نانو ذرات نقره از خود نشان داد. تأیید سنتز نانو ذرات در سه مرحله پیش رو صورت گرفت (۷). در اولین مرحله مشاهده تغییر رنگ محلول درستی فرایند را تایید نمود. تغییرات رنگی مشاهده شده حین واکنش عصاره با محلول نیترات نقره، که خود اولین گواه سنتز نانوذرات نقره می باشند با نتایج آزمایش Krishna raj



شکل ۵ - (a) نمودار جذب در pH های مختلف. (b) نمودار جذب در زمان های مختلف. (c) نمودار جذب در غلظت های مختلف.

لحاظ شیمیایی در محیط های اسیدی نسبت به محیط خنثی و قلیایی بیشترین پایداری را دارد (۱۶). در نتایج حاصل از این پژوهش بالاترین جذب در pH=4 اتفاق افتاده است که با توجه به پایداری بالاتر دارو در این pH، این نتیجه مطلوب است. زمان بهینه جذب دارو ۳۰ دقیقه به دست آمد که سرعت جذب بالایی است و نیازی به صرف مدت زمان زیاد برای جذب این دارو بر روی نانو جاذب وجود ندارد.

بطور کلی با توجه به خواص ماده ی کورکومین میتوان با استفاده از فناوری نانو و بطور ویژه با استفاده از نانو ذرات، زیست پایداری، ماندگاری، حلالیت و نیز اثر بخشی کورکومین را افزایش داد و همچنین از این سامانه ی دارویی در جهت درمان بیماری سرطان با استفاده از ترکیبات گیاهی به منظور کاهش مصرف و عوارض دارو های شیمیایی می توان استفاده کرد.

#### تقدیر و تشکر

این مقاله بخشی از پایان نامه کارشناسی ارشد بوده است. نویسندگان از کلیه پرسنل آزمایشگاه بیوتکنولوژی در ساختمان آزمایشگاهی رازی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تشکر ویژه دارند.

در ادامه نانوذرات توسط لیگاند انتخابی پوشش داده شدند. گلوکاتایون متشکل از سه اسید آمینه گلوتامیک اسید، سیستئین و گلایسین می باشد و سبب افزایش زیست پایداری و همچنین زیست سازگاری نانو ذرات نقره در سیستم های بیولوژیکی می گردد (۱۲). با توجه به گروه های آمین و کربوکسیل در این تری پپتید سطح نانو ذرات با این گروه های عاملی پوشش داده می شوند که بطور قابل ملاحظه ای سبب افزایش ظرفیت جذب دارو می گردد (۱۳). همچنین Geldenhuys و همکاران در سال ۲۰۱۱ از نانو ذرات PLGA پوشش دار شده با گلوکاتایون به عنوان حامل دارویی جهت افزایش اثربخشی و نیز رسانش هدفمند داروی paclitaxel به سلول سرطان مغز استفاده کردند (۱۴). نانو ذرات نقره به خودی خود فاقد گروه های شیمیایی هستند و تأیید حضور گروه های شیمیایی و یا عاملی مانند هیدروژن، نیتروژن و کربن بر روی نانو ذرات نقره ی اصلاح شده با استفاده از دستگاه طیف سنج مادون قرمز و آنالیز عنصری نشان دهنده ی اتصال موفق آمیز گلوکاتایون با نانو ذرات نقره می باشد.

جذب ماکزیمم این دارو در این پژوهش با یافته های Agustia و همکاران در سال ۲۰۱۶ مطابقت داشت (۱۵). در ادامه عوامل مؤثر بر جذب کورکومین بر روی نانو جاذب، مانند pH، زمان و غلظت بهینه گردید. طبق مطالعات Kumavat و همکاران در سال ۲۰۱۳ ساختار کورکومین از

#### منابع مورد استفاده

- Priyanka, S. D., Yu-Jin, K., Zhang, D., Yang, D., 2016. Biological synthesis of nanoparticles from plants and microorganisms. Trends in Biotechnology 34(7): 588-599.
- Pourmortazavi, S. M., 2015. Procedure optimization for green synthesis of silver nanoparticles by aqueous extract of *Eucalyptus oleosa*. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy 136: 1249-1254.
- Sur, I., Altunbek, M., Kahraman, M., Culha, M., 2012. The influence of the surface chemistry of silver nanoparticles on cell death. Nanotechnology 23: 1-12.
- Cheng, K. K., Chan, P. S., Fan, S., Kwan, S. M., Yeung, K. L., Wang, Yi-X. J., Hee Lum Chow, A., 2015. Curcumin-conjugated magnetic nanoparticles for detecting amyloid plaques in Alzheimer's disease mice using magnetic resonance imaging (MRI). Biomaterials 44: 155-172.
- Jagannathan, R., Abraham, P. M., Poddar, P., 2012. Temperature-dependent spectroscopic evidences of curcumin in aqueous medium: A mechanistic study of its solubility and stability. J Phys Chem B. 116(50): 14533-14540.
- Wilken, R., Veena, M. S., Wang, M. B., Srivatsan, E. S., 2011. Curcumin: A review of anti-cancer properties and therapeutic activity in head and neck squamous cell carcinoma. Molecular Cancer 10(12): 1-19.
- Rashidipour, M., Heydari, R., 2014. Biosynthesis of silver nanoparticles using extract of olive leaf: synthesis and in vitro cytotoxic effect on MCF-7 cells. J Nanostruct Chem 4 (112): 1-6.
- Krishnaraj, C., Jagan, E. G., Rajasekar, S., Selvakumar, P., Kalaichelvan, P. T., Mohan N., 2010. Synthesis of silver nanoparticles using

- Acalypha indica* leaf extracts and its antibacterial activity against water borne pathogens. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 76(1): 50-56.
9. Tessier, P. M., Velev, O. D., Kalambur, A. T., Rabolt, J. F., Lenhoff, A. M., Kaler, E. W., 2000. Assembly of gold nanostructured films template by colloidal crystals and use in surface-enhanced Raman spectroscopy. *JACS* 122(39): 9554-9555.
  10. Shakeel, A., Ullah, S., Ahmad M., Swami, B., 2015. Green synthesis of silver nanoparticles using *Azadirachta indica* aqueous leaf extract. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences* 9(1): 1-7.
  11. Meng, F. B., Wang, L., Xu, H., Liu, C. C., Hu, P. C., Lan, W., Song, J. X., Chen, L. S., 2015. Biosynthesis of silver nanoparticles using oriental medicinal herb *Gynostemma pentaphyllum* Makino extract and their antibacterial activity against aquatic pathogen. *Materials Technology: Advanced Performance Materials* 13(4): 181-186.
  12. Balavandy, S. K., Shameli, D. R. B., Awang B. Abidin, Z., 2014. Stirring time effect of silver nanoparticles prepared in glutathione mediated by green method. *Chem Cent J* 8(1): 11-16.
  13. Koczywas, K. Z., Dolka, I., Król, M., Wiktor Lewandowski, A. Z. W., Mieczkowski, J., Wójcik, M., Lechowski, R., 2017. Doxorubicin conjugated to glutathione stabilized gold nanoparticles (Au-GSH-Dox) as an effective therapeutic agent for feline injection-site sarcomas-chick embryo chorioallantoic Membrane Study. *Molecules* 8(2): 1-9.
  14. Geldenhuys, W., Mbimba, T., Bui, T., Harrison, K., Sutariya, V., 2011. Brain-targeted delivery of paclitaxel using glutathione-coated nanoparticles for brain cancers. *Journal of Drug Targeting* 19(9): 837-845.
  15. Agustia, Y. V., Suyitno, Z., Arifin, B., 2016. Effect of acidity on the energy level of curcumin dye extracted from *Curcuma longa* L. sustainable energy and advanced materials. *American Institute of Physics* 1717(1): 1-6.
  16. Kumavat, S. D., Chaudhari, Y. S., Borole, P., Mishra, P., Shenghani, K., Duvvuri, P., 2013. Degradation studies of curcumin. *AJPSR* 3(5): 1-17.