

بررسی اثرات آنتی اکسیدانی و سمیت سلولی نانوامولسیون روغن دانه آلبالو روی سلول سرطانی A549 و نرمال HUVEC

عطیه دارچینی مراغه^۱، مسعود همایونی تبریزی^{۲*}، احسان کریمی^۲

چکیده

زمینه و هدف: هدف از مطالعه حاضر تهیه فرمولاسیون نانوامولسیون روغن دانه آلبالو و بررسی اثرات آنتی اکسیدانی و سمیت سلولی روی سلول های نرمال و سرطانی است.

روش بررسی: نانوامولسیون با استفاده از پلی سوربات ۸۰ و پلی سوربات ۲۰ در آب به صورت امولسیون روغن در آب تهیه گردید. از پلی اتیلین گلایکول به عنوان کمک سورفکتانت استفاده گردید. اثرات آنتی اکسیدانی نانوامولسیون در غلظت های ۳۱،۲۵، ۶۲،۵، ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر با آزمون DPPH و ABTS مورد بررسی قرار گرفت و با گلو تاتیون به عنوان استاندارد مقایسه گردید. هم چنین اثرات سمیت سلولی نانوامولسیون روی سلول سرطانی ریه A549 و سلول نرمال اندوتلیال بند ناف جنینی HUVEC با آزمون MTT مورد بررسی قرار گرفت.

یافته ها: نتایج بررسی آنتی اکسیدان نشان دهنده پتانسیل نانوامولسیون در حذف رادیکال های آزاد DPPH و ABTS است که به ترتیب مقادیر IC₅₀ برابر با ۴۱۲ و ۵۰۲ میکرو گرم بر میلی لیتر می باشد. هم چنین نتایج تست سمیت بیانگر اثرات بیشتر نانوامولسیون در از بین بردن سلول های سرطانی (IC₅₀ برابر با غلظت ۵۲ میکروگرم بر میلی لیتر) نسبت به سلول های نرمال (IC₅₀ برابر با غلظت ۷۰ میکرو گرم بر میلی لیتر) است.

نتیجه گیری: در کل نتایج حاصل از این مطالعه نشان دهنده اثرات آنتی اکسیدانی و ضد سرطانی بالقوه نانوامولسیون روغن دانه آلبالو می باشد که می تواند برای پیشگیری و درمان بسیاری از بیماری های که با تولید گونه های واکنش پذیر اکسیژن در ارتباط هستند به کار رود.

واژگان کلیدی: نانوامولسیون، روغن هسته، دانه آلبالو، آنتی اکسیدان، سمیت سلولی.

۱-دانشجوی کارشناسی ارشد.

۲-استادیار گروه زیست شناسی.

۱و۲-گروه زیست شناسی، واحد مشهد، دانشگاه

آزاد اسلامی، مشهد، ایران.

*نویسنده مسئول:

مسعود همایونی تبریزی؛ گروه زیست شناسی،

واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران

تلفن: ۰۰۹۸۹۱۵۴۵۰۵۸۹۴

Email: mhomayouni6@gmail.com

مقدمه

است. معمول ترین امولسیون‌ها روغن در آب (O/W) و آب در روغن (W/O) هستند (۹). برای اینکه یک امولسیون به عنوان نانوامولسیون در نظر گرفته شود معیارهای متفاوتی از لحاظ قطر قطرات فاز پراکنده تعریف شده است. برای مثال اندازه ۲۰-۲۰۰ نانومتر، ۵۰-۲۰۰ نانومتر و زیر ۵۰۰ نانومتر توسط محققین مختلف عنوان شده است (۱۰-۱۲). سیستم پراکنده ای که در نانوامولسیون تشکیل می شود نسبت به میکروامولسیون‌ها شفاف تر و از لحاظ کینتیکی پایدار تر است (۱۲). دو مزیت مهم نانوامولسیون‌ها نسبت به امولسیون‌های مرسوم عبارتند از: انعطاف پذیری بیشتر نسبت به تغییرات محیطی و پایداری زیاد تا جایی که تا سال‌ها پایدار باقی می ماند (۱۳).

هدف از مطالعه حاضر تهیه فرمولاسیون نانوامولسیونی روغن دانه آلبالو و بررسی اثرات آنتی اکسیدانی آن در برابر رادیکال‌های DPPH و ABTS است. هم چنین در قسمت دوم این مقاله اثر سمیت این نانوامولسیون روی سلول‌های سرطان ریه و نرمال بررسی می شود.

روش بررسی

تهیه نانوامولسیون

نانوامولسیون روغن دانه آلبالو از ترکیب کردن پلی سوربات ۲۰ و پلی سوربات ۸۰ با روغن دانه آلبالو در آب تولید شدند. از پلی اتیلن گلیکول به عنوان کمک حلال استفاده گردید. نانوامولسیون‌ها با روش امولسیفیکاسیون با انرژی بالا با استفاده از اولتراسونیکاسیون تولید شدند (۱۴).

فعالیت مهار رادیکال DPPH

روش بررسی مهار رادیکال DPPH بر اساس کاهش رادیکال اتانلیک DPPH در حضور ماده آنتی اکسیدان دهنده هیدروژن است. محلول DPPH دارای باند جذبی در 515

کشف اینکه رادیکال‌های آزاد در آسیب‌شناسی بسیاری از بیماری‌ها همانند سرطان، دیابت، بیماری‌های قلبی و مخصوصاً در فرایند پیری نقش دارند منجر به تحقیقات گسترده در مورد مواد آنتی اکسیدان گردید (۱). آنتی اکسیدان‌ها موادی هستند که قابلیت خنثی کردن رادیکال‌های آزاد را دارا می باشند، بنابراین از آسیب‌های بیولوژیک جلوگیری به عمل می آورند. وقتی که موازنه بین رادیکال‌های آزاد و تولید آنتی اکسیدان‌ها بهم بخورد، استرس اکسیداتیو رخ می دهد. در برخی موارد برای جلوگیری گسترده توسط استرس اکسیداتیو، یک ماده آنتی اکسیدان به صورت مکمل مورد نیاز می باشد (۲، ۳). یکی از منابع عمده و اصلی آنتی اکسیدان‌های طبیعی میوه‌ها و سبزیجات هستند. آنتی اکسیدان‌هایی که منبع گیاهی دارند همانند ویتامین سی، ویتامین ای، اسیدهای فنولیک و فلاونوئیدها خطر بیماری‌های قلبی و سرطان را کاهش می دهند (۴). تحقیقات روی ترکیبات شیمیایی میوه گیاه آلبالو (*Prunus cerasus*) صورت گرفته است. میوه آلبالو دارای شکل قلبی و رنگ قرمز روشن تا قرمز تیره است. آنتوسیانین‌ها ایجاد کننده رنگ میوه هستند و پتانسل مهار رشد تومور، کاهش بیماری‌های قلبی عروقی و احتمالاً به تعویق انداختن روند پیری را دارا می باشند (۵، ۶). پیشرفت قابل ملاحظه مواد دارای ساختار نانو همانند نانوذرات، نانولوله‌ها، مواد نانوپوروس و نانوفیلم‌ها تاثیر بسزایی روی علم، فناوری و صنعت گذاشته است (۷، ۸). یکی از ابزار پایدار کردن مواد غذایی درآوردن آنها به فرم نانوامولسیون است تا پایداری آنها افزایش یابد. این روش می تواند علی الخصوص در مورد مواد دارای اثرات آنتی اکسیدان به کار رود. امولسیون زمانی تشکیل می شود که یک فاز مایع به صورت پویا در فاز مایع دیگر پراکنده گردد. فاز اول را فاز پراکنده (*dispersed phase*) و فاز دوم را فاز پیوسته (*continuous phase*) می نامند که اولی غیر قابل اختلاط

گردید (۱۶). درصد مهار رادیکال ABTS به وسیله معادله زیر محاسبه گردید:

$$\text{درصد فعالیت} = (A_0 - A_1/A_0) \times 100$$

رادیکال زدایی ABTS

A_0 = جذب شاهد (محلول آماده ABTS و به

جای نانو امولسیون آب مقطر)

A_1 = جذب نمونه (محلول آماده ABTS و نانو

امولسیون)

کشت سلولی

سلول کارسینومای ریه انسانی A549 و همچنین سلول اندوتلیال رگی جفت انسان (HUVEC) در این آزمایش استفاده شدند. سلول های در محیط DMEM:F-12 که 10٪ سرم جنین گاوی (FBS) بعلاوه پنی سیلین (۱۰۰ واحد بر میلی لیتر) و استرپتومایسین (۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر) کشت داده شدند. سلول ها در دمای 37 °C و در اتمسفر 5% CO₂ کشت داده شدند.

تست سمیت سلولی

برای ارزیابی سمیت سلول نانو امولسیون تعداد ۵۰۰۰ سلول در هر خانه پلیت ۹۶ خانه سید شدند. پس از گذشت ۲۴ ساعت، غلظت های متفاوت نانو امولسیون 25، 50، 12.5 و 6.5 میکروگرم بر میلی لیتر تهیه شد و سلول ها با این غلظت ها تیمار شده و پس از گذشت 48 ساعت محیط حاوی MTT (-2,5-(3(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-) diphenyltetrazolium) با غلظت ۵ میلی گرم بر میلی لیتر روی سلول ها ریخته شد. اساس این تست تبدیل رنگ زرد تترازولیم به رنگ ارغوانی فورمازان است که توسط آنزیم ردوکتاز سلول های زنده صورت می گیرد. بعد از گذشت ۴ ساعت انکوباسیون محیط با DMSO جایگزین شده و نهایتاً جذب خانه ها توسط اسپکتروفتومتر در 570 nm خوانده شد. میزان زنده ماندن سلول ها با استفاده از

nm است که شدت رنگ بنفش اندازه گیری می شود. شدت جذب رنگ بنفش زمانی که رادیکال DPPH کاهش یابد کم می شود. مقدار رادیکال DPPH باقی مانده نسبت معکوس با فعالیت آنتی اکسیدانی ماده آنتی اکسیدان دارد. ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی در غلظت های ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر نانو امولسیون انجام گردید. آزمایش با سه تکرار صورت گرفت و از گلو تاتیون به عنوان کنترل مثبت استفاده گردید (۱۵).

درصد مهار رادیکال DPPH به وسیله معادله زیر به

دست آمد:

$$\text{درصد فعالیت رادیکال} = (A_0 - A_1/A_0) \times 100$$

زدایی DPPH

A_0 = جذب شاهد (محلول آماده DPPH و به

جای نانو امولسیون آب مقطر)

A_1 = جذب نمونه (محلول آماده DPPH و نانو

امولسیون)

فعالیت مهار رادیکال ABTS

رادیکال BTS (۲،۲-آزینو بیس(۳-اتیل بنزوتیازولین ۶- سولفونیک اسید)) به وسیله اکسیداسیون ABTS توسط پتاسیم پرسولفات ایجاد می شود و در حضور ترکیبات آنتی اکسیدان کاهش می یابد (۱۹). جهت آماده سازی محلول رادیکال ABTS، ابتدا ۷ میلی مولار (۲ ml) و پتاسیم پرسولفات ۲/۴۵ میلی مولار (1 ml) جهت اکسیداسیون ABTS توسط پتاسیم پرسولفات با یکدیگر مخلوط گردید و سپس محلول حاصل به مدت ۱۶ ساعت در تاریکی و دمای ۲۵ درجه سلسیوس قرار داده شد. غلظت های 1000، 500، 250، 125، 62.5 و 31.25 میکروگرم بر میلی لیتر از نانو امولسیون با ABTS، به مدت ۶۰ دقیقه انکوبه شدند. پس از گذشت مدت زمان ۶۰ دقیقه جذب نمونه ها در 734 nm خوانده شد. آزمایش با سه تکرار صورت گرفت و از گلو تاتیون به عنوان کنترل مثبت استفاده

گردد. مقدار IC_{50} آن برابر با ۵۰۲ میکروگرم بر میلی لیتر می باشد.

تست سمیت سلولی

ارزیابی سمیت سلولی نانوامولسیون روغن دانه آلبالو با استفاده از تست MTT صورت پذیرفت. غلظت های مختلف نانوامولسیون روی دو سلول نرمال HUVEC و سرطانی A549 تیمار شدند. همانطور که در شکل ۳ مشاهده می شود نانوامولسیون روی هر دو لاین سرطان ریه و نرمال دارای سمیت است. ولی مقدار سمیت روی سلول A549 بیشتر است بدین صورت که از غلظت 6.5 به بالا تفاوت معنی داری نسبت به سلول هایی که هیچ تیماری روی آنها صورت نگرفته مشاهده می شود. این در حالی که در سلول HUVEC معنی داری فقط در بیشترین غلظت ($50 \mu\text{g/ml}$) مشاهده می شود. مقادیر IC_{50} برای سلول های سرطانی و نرمال مطالعه حاضر به ترتیب ۵۲ و ۷۰ میکروگرم بر میلی لیتر می باشد.

فرمول زیر محاسبه گردید: درصد زنده ماندن سلول (%) = (جذب نمونه/جذب کنترل) $\times 100$

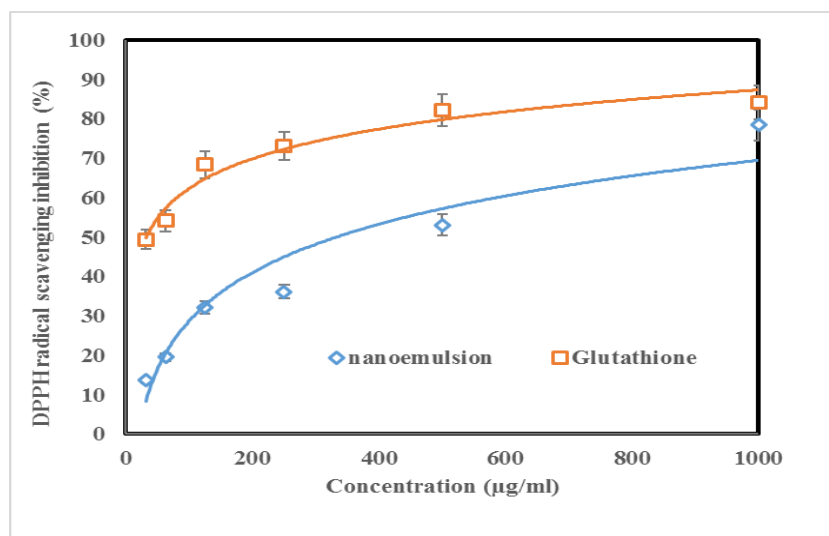
یافته ها

مهار رادیکال DPPH

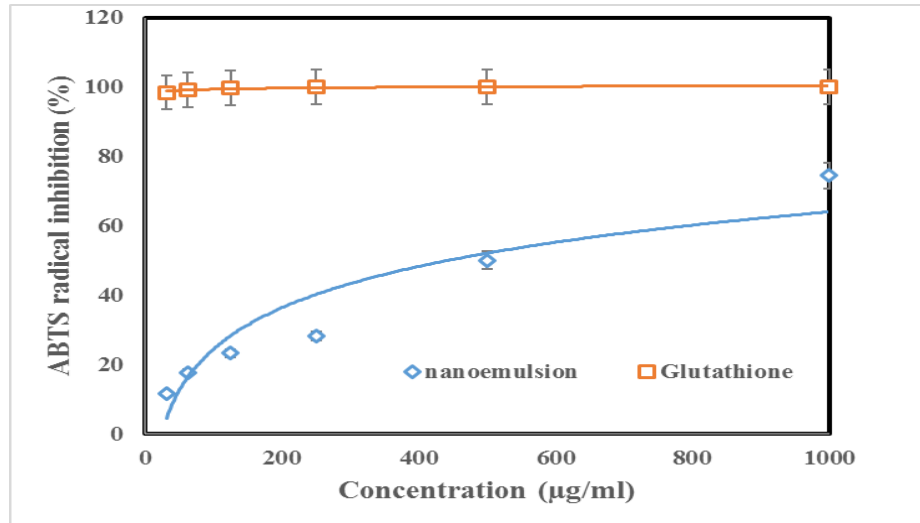
شکل ۱ بیانگر مهار رادیکال DPPH توسط نانوامولسیون روغن دانه آلبالو است. مهار رادیکال های DPPH توسط نانوامولسیون به صورت وابسته به غلظت است. به طوریکه با افزایش غلظت قدرت مهار نانوامولسیون نیز افزایش می یابد. مقدار IC_{50} آن برابر با ۴۱۲ میکروگرم بر میلی لیتر می باشد.

مهار رادیکال ABTS

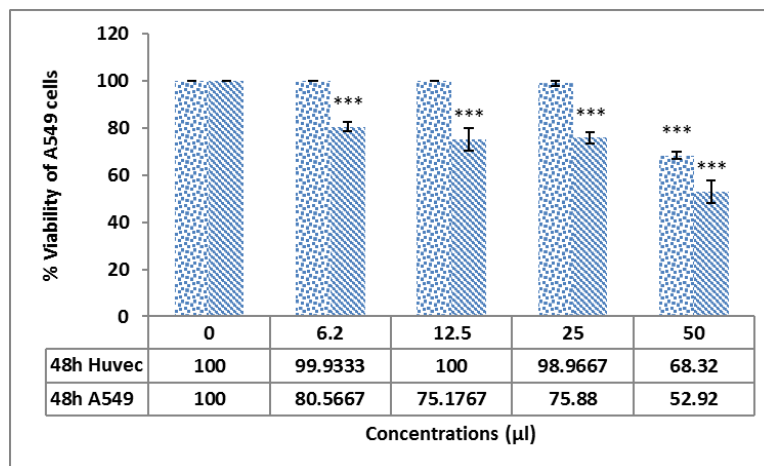
شکل ۲ مهار رادیکال ABTS را توسط نانوامولسیون نشان می دهد. شکل بیانگر این موضوع است که مهار رادیکال های ABTS توسط نانوامولسیون روغن دانه آلبالو وابسته به غلظت است و با افزایش غلظت میزان مهار نیز بیشتر می



شکل ۱: مهار رادیکال DPPH توسط نانوامولسیون



شکل ۲: مهار رادیکال ABTS توسط نانوامولسیون



شکل ۳: تست سمیت سلولی نانوامولسیون روی دو رده سلولی A549 و HUVEC ($p < 0.0001$)

بحث

طور مشخص شده است که اندازه امولسیون با افزایش غلظت این دو سورفکتانت نسبت معکوس دارد و افزایش غلظت این سورفکتانت ها منجر به کاهش قطر امولسیون می شود (۱۷). استفاده از الکل های با زنجیره کوتاه همانند پلی اتیلن گلیکول منجر به پایداری و توزیع اندازه ذره ای یکنواخت نانوامولسیون می شود. بنابراین در این مطالعه از پلی اتیلن گلیکول به عنوان کمک سورفکتانت استفاده گردید (۱۸).

در مطالعه حاضر ما از روغن دانه آلبالو استفاده کردیم و فرمولاسیون نانوامولسیونی را ساختیم. خصوصیات آنتی اکسیدانی روی رادیکال های DPPH و ABTS مورد بررسی قرار گرفت. هم چنین سمیت سلولی این فرمولاسیون در لاین های سلولی سرطانی A459 و نرمال HUVEC با هم مقایسه گردید. در ساخت این نانوامولسیون در پلی سوربات ۲۰ و پلی سوربات ۸۰ به عنوان سورفکتانت استفاده شده است. این

ترکیبات آنتی اکسیدان های قدرتمندی هستند. ظرفیت محافظتی عصاره دانه آلبالو در ایسکمی نشان داده شده است (۲۶). پتانسیل مهار رادیکال های DPPH و ABTS توسط نانومولسیون روغن دانه آلبالو اندازه گیری و با گلوکاتیون به عنوان استاندارد مقایسه گردید. در هر دو مورد با افزایش غلظت نانومولسیون میزان مهار رادیکال ها نیز افزایش می یابد. نتایج حاصل از بررسی آنتی اکسیدانی نانومولسیون روغن دانه آلبالو تایید کننده اثرات آنتی اکسیدانی ترکیبات موجود در روغن دانه آلبالو است. اثرات محافظتی میکرومولسیون روغن دانه آلبالو در برابر ROS روی سلول های کبدی نشان داده شده است (۲۷). گونه های واکنش پذیر اکسیژن (ROS) رادیکالها، یون ها یا ملکول هایی هستند که الکترون جفت نشده در لایه الکترونی شان دارند. با وجود این خصوصیت، ROSها به شدت واکنش پذیر هستند. در سلول های سرطانی میزان بالای ROS می تواند بر اثر فعالیت متابولیک بالا، نقص در عملکرد میتوکندریایی، فعالیت پراکسیزوم، افزایش سیگنالینگ گیرنده سلولی، فعالیت انکوژن، افزایش فعالیت اکسیداز، سیکلواکسیژناز، لیبواکسیژناز و تیمیدین فسفریلاز یا از طریق کراس تاک در سلول های ایمنی باشد (۲۸-۳۰). بعد از اینکه سلول های سرطانی به شکل بدخیم درآمدند تولید پایدار ROS را انجام می دهند که منجر به رشد و پیشرفت تومور می گردد (۳۱). بنابراین استفاده از مواد آنتی اکسیدان و در نتیجه کاهش میزان ROS می تواند در جهت عادی سازی میزان ROS در جایگاه تومور و بهبود عملکرد عوامل ضد سرطان کمک کند (۳۲). در این آزمایش پتانسیل نانومولسیون روغن دانه آلبالو در کشتن سلول های سرطانی و نرمال مقایسه شده است. همانطور که در نتیجه تست سمیت نشان داده شده است نانومولسیون به صورت بالقوه سلول های سرطانی را بیشتر از سلول های نرمال کشته است. سمیت سلولی نانومولسیون به صورت معنی داری حتی در کمترین غلظت به صورت معنی داری ($p < 0.001$) بسیار بالاست. روی هم رفته نتایج

اولتراسونیکاسیون یکی از روش های کارآمد هموژناسیون با کارایی بالا است که هم امروزه برای تهیه نانومولسیون ها به کار می رود. برخی از مزایای هموژنایزر های اولتراسونیک توانایی تولید قطرک های کوچک، هزینه نسبتا پایین، صرف انرژی نسبتا پایین، راحتی در تمیز کردن و پتانسیل به کاربردن در شرایط آسپتیک است. هموژنایزر اولتراسونیک را می توان برای تولید نانومولسیونها در آزمایشگاه، تولیدی های کوچک یا در صنعت مورد استفاده قرار داد (۱۹). در مطالعه حاضر از اولتراسونیکاسیون برای تولید نانومولسیون استفاده شد. با گذشت زمان اندازه قطرک ها کاهش یافته تا جایی که پس از گذشت ۱۴ دقیقه به اندازه حدود ۴۰ نانومتر رسید. مواد غذایی گیاهی نقش حیاتی در جلوگیری از انواع بیماری های مزمن را دارند. گزارش های متعددی مبنی بر وجود ترکیبات فعال زیستی همانند اسید های چرب غیر اشباع، پلی فنول ها، آنتوسیانین ها و پروآنتوسیانین ها وجود دارند که گیاهان استخراج شده اند. نشان داده شده است که این ترکیبات دارای اثرات محافظتی در برابر ناهنجاری های قلبی عروقی، دیابت، تومور و بسیاری دیگر از بیماری ها هستند (۲۰-۲۲). ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی موجود در گیاهان قادر به مهار رادیکال های آزاد هستند (۲۳). دانه آلبالو هم چنین دارای ترکیباتی است که از لحاظ فارموکولوژیکی فعال هستند. بخش روغنی دانه آلبالو دارای اسید های چرب چند غیر اشباع مونو و n-6 است. اثرات جلوگیری کننده اسید های چرب n-6 در بسیاری از بیماری ها نشان داده شده است (۲۴). ترکیبات دیگر موجود در روغن دانه آلبالو شامل بتا-توکوفرول، گاما-سیتوسترئول، ویتامین E و اسکوالن است که دارای اثرات فارماکولوژیک شناخته شده هستند. اثرات ترکیبی این ترکیبات منجر می شود که روغن دانه آلبالو به عنوان منبع غذایی بارزش در نظر گرفته شود که منجر به جلوگیری و محافظت در برابر بیماری های مزمن شود (۲۵). ترکیبات دیگر موجود در دانه آلبالو شامل ملکول های شبه پلی فنولیک، آنتوسیانیدین و پروآنتوسیانیدین هستند. این

آنرا به فرمولی مناسب جهت استفاده به عنوان یک ماده ضد سرطان بالقوه تبدیل کرده است.

قدردانی

مطالعه حاضر توسط دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد حمایت شده است و بدین وسیله نویسندگان مراتب تشکر خود را اعلام می دارند.

این مطالعه نشان دهنده پتانسیل استفاده از نانوامولسیون روغن دانه آلبالو به عنوان یک ماده آنتی اکسیدان است (۳۳). مطالعه حاضر اولین مقاله در مورد اثرات آنتی اکسیدانی نانوامولسیون روغن دانه آلبالو است که نتایج حاصل از مطالعه حاضر مطابق با نتایج دیگر مطالعات است که اثر آنتی اکسیدانی نانوامولسیون روغن های مختلف را بررسی نموده اند (۳۴-۳۶). فرمولاسیون نانوامولسیونی روغن دانه آلبالو علاوه بر فراهم آوری پایداری فیزیکی و میکروبی برای روغن آلبالو،

منابع

- 1-Ratnam DV, Ankola D, Bhardwaj V, Sahana DK, Kumar MR. Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective. *Journal of controlled release*. 2006;113(3):189-207.
- 2-Halliwell B. Role of free radicals in the neurodegenerative diseases. *Drugs & aging*. 2001;18(9):685-716.
- 3-Halliwell B, Gutteridge JM. *Free radicals in biology and medicine*: Oxford University Press, USA; 2015.
- 4-Leborgne L, Maziere J, Maziere C, Andrejak M. Oxidative stress, atherogenesis and cardiovascular risk factors. *Archives des Maladies du Coeur et des Vaisseaux*. 2002;95(9):805-14.
- 5-Cardador-Martínez A, Loarca-Piña G, Oomah BD. Antioxidant activity in common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of agricultural and food chemistry*. 2002;50(24):6975-80.
- 6-Seeram NP, Momin RA, Nair MG, Bourquin LD. Cyclooxygenase inhibitory and antioxidant cyanidin glycosides in cherries and berries. *Phytomedicine*. 2001;8(5):362-9.
- 7-Seo S, Kim J, Kim B, Vinu A, Kim E. Highly ordered poly (thiophene) s prepared in mesoporous silica nanoparticles. *Journal of nanoscience and nanotechnology*. 2011;11(5):4567-72.
- 8-Fiala R, Khalakhan I, Matolinova I, Vorokhta M, Sofer Z, Huber S, et al. Pt-CeO₂ coating of carbon nanotubes grown on anode gas diffusion layer of the polymer electrolyte membrane fuel cell. *Journal of nanoscience and nanotechnology*. 2011;11(6):5062-7.
- 9-Espitia PJ, Fuenmayor CA, Otoni CG. Nanoemulsions: Synthesis, Characterization, and Application in Bio-Based Active Food Packaging. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2019;18(1):264-85.
- 10-El-Aasser MS, Sudol ED. Miniemulsions: overview of research and applications. *JCT research*. 2004;1(1):21-32.
- 11-Aboofazeli R. Nanometric-scaled emulsions (nanoemulsions). *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*. 2010;9(4):325.
- 12-Thakkar KN, Mhatre SS, Parikh RY. Biological synthesis of metallic nanoparticles. *Nanomedicine: nanotechnology, biology and medicine*. 2010;6(2):257-62.
- 13-Ali A, Ansari VA, Ahmad U, Akhtar J, Jahan A. Nanoemulsion: An advanced vehicle for efficient drug delivery. *Drug research*. 2017;67(11):617-31.
- 14-Ghosh V, Saranya S, Mukherjee A, Chandrasekaran N. Cinnamon oil nanoemulsion formulation by ultrasonic emulsification: investigation of its bactericidal activity. *Journal of nanoscience and nanotechnology*. 2013;13(1):114-22.
- 15-Brand-Williams W, Cuvelier M-E, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*. 1995;28(1):25-30.
- 16-Oyaizu M. Studies on products of browning reaction. *The Japanese journal of nutrition and dietetics*. 1986;44(6):307-15.
- 17-Piriyaprasarth S, Sriamornsak P, Chansiri G, Promboot W, Imerb U, Sumpoung D, editors. Effect of coconut oil and surfactants on stability of nanoemulsions. *Advanced Materials Research*; 2012: Trans Tech Publ.
- 18-Mendonça CR, Silva YP, Böckel WJ, Simó-Alfonso EF, Ramis-Ramos G, Piatnicki CM, et al. Role of the co-surfactant nature in soybean w/o microemulsions. *Journal of colloid and interface science*. 2009;337(2):579-85.
- 19-Gharibzahedi SM, Jafari SM. Fabrication of nanoemulsions by ultrasonication. *Nanoemulsions: Elsevier*; 2018. p. 233-85.

- 20-Stan SD, Kar S, Stoner GD, Singh SV. Bioactive food components and cancer risk reduction. *Journal of cellular biochemistry*. 2008;104(1):339-56.
- 21-Zern TL, Fernandez ML. Cardioprotective effects of dietary polyphenols. *The Journal of nutrition*. 2005;135(10):2291-4.
- 22-Ghosh D, Konishi T. Anthocyanins and anthocyanin-rich extracts: role in diabetes and eye function. *Asia Pacific journal of clinical nutrition*. 2007;16(2):200-8.
- 23-Piccolella S, Fiorentino A, Pacifico S, D'Abrosca B, Uzzo P, Monaco P. Antioxidant properties of sour cherries (*Prunus cerasus* L.): role of colorless phytochemicals from the methanolic extract of ripe fruits. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2008;56(6):1928-35.
- 24-Russo GL. Dietary n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids: from biochemistry to clinical implications in cardiovascular prevention. *Biochemical pharmacology*. 2009;77(6):937-46.
- 25-Bak I, Lekli I, Juhasz B, Varga E, Varga B, Gesztelyi R, et al. Isolation and analysis of bioactive constituents of sour cherry (*Prunus cerasus*) seed kernel: an emerging functional food. *Journal of medicinal food*. 2010;13(4):905-10.
- 26-Bak I, Lekli I, Juhasz B, Nagy N, Varga E, Varadi J, et al. Cardioprotective mechanisms of *Prunus cerasus* (sour cherry) seed extract against ischemia-reperfusion-induced damage in isolated rat hearts. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 2006;291(3):H1329-H36.
- 27-Kalantari H, Salimi A, Motaharitarab E, Samimi A, Rezai A. Hepatoprotective Effect of Microemulsion-Based System of *Prunus Cerasus* Kernel Extract on CCL 4-induced Liver Damage in Mice. *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products*. 2017;12(3 (Supp)).
- 28-Szabo ME, Gallyas E, Bak I, Rakotovao A, Boucher F, De Leiris J, et al. Heme Oxygenase-1-Related Carbon Monoxide and Flavonoids in Ischemic/Reperfused Rat Retina. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2004;45(10):3727-32.
- 29-Storz P. Reactive oxygen species in tumor progression. *Front Biosci*. 2005;10(1-3):1881-96.
- 30-Szatrowski TP, Nathan CF. Production of large amounts of hydrogen peroxide by human tumor cells. *Cancer research*. 1991;51(3):794-8.
- 31-Liou G-Y, Storz P. Reactive oxygen species in cancer. *Free radical research*. 2010;44(5):479-96.
- 32-Storz P. Mitochondrial ROS-radical detoxification, mediated by protein kinase D. *Trends in cell biology*. 2007;17(1):13-8.
- 33-Pascual-Villalobos M, Cantó-Tejero M, Vallejo R, Guirao P, Rodríguez-Rojo S, Cocero M. Use of nanoemulsions of plant essential oils as aphid repellents. *Industrial Crops and Products*. 2017;110:45-57.
- 34-Yang X, Tian H, Ho C-T, Huang Q. Inhibition of citral degradation by oil-in-water nanoemulsions combined with antioxidants. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2011;59(11):6113-9.
- 35-Jordan M, Nayel A, Brownlow B, Elbayoumi T. Development and evaluation of tocopherol-rich argan oil-based nanoemulsions as vehicles possessing anticancer activity. *Journal of biomedical nanotechnology*. 2012;8(6):944-56.
- 36-Saxena V, Hasan A, Sharma S, Pandey LM. Edible oil nanoemulsion: An organic nanoantibiotic as a potential biomolecule delivery vehicle. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*. 2018;67(7):410-9.

Evaluation of Antioxidant and Cytotoxic Effects of Nanoemulsion of Sour Cherry Kernel Oil on A549 Lung Cancer and HUVEC Normal Cells

Atieh Darchini Maragheh¹, Masoud Homayouni Tabrizi^{2*}, Ehsan Karimi²

1-Master Student.

2-Assistant Professor of Biology.

1,2-Department of Biology, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran

*Corresponding author:

Masoud Homayouni Tabrizi;
Department of Biology, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran.

Tel: +989154505894

Email: mhomayouni6@gmail.com

Abstract

Background and Objective: Free radicals play a role in the pathology of many diseases, such as cancer, diabetes, heart disease, and especially in the aging process. The use of antioxidant agents, especially antioxidants from plant sources, can play a significant role in the prevention and treatment of these diseases. The aim of the present study was to prepare the nanoemulsion formulation of sour cherry kernel oil and to investigate its antioxidant and cytotoxic effects on normal and cancerous cells.

Subjects and Methods: Nanoemulsion was prepared by the use of polysorbate 80 and polysorbate 20 in water as an emulsion of oil in water. Polyethylene glycol was used as the co-surfactant. Antioxidant effects of concentrations of 31.25, 62.5, 125, 250, 500 and 1000 µg/ml of nanomulsion were investigated on DPPH and ABTS radicals and compared with glutathione as standard. In addition, the cytotoxic effects of nanomulsion on A549 cancer cells and normal HUVEC cells were investigated.

Results: The antioxidant results show the potential of nanoemulsion in the removal of radicals of DPPH and ABTS with an IC₅₀ concentration of 412 and 502 µg/ml respectively. Furthermore, the results of the cytotoxicity test showed the greater potency of nanoemulsion on the elimination of cancer cells compared to normal cells (with an IC₅₀ of 52 mg/ml versus 70 mg/ml).

Conclusion: Overall, the results of this study indicate the potentially antioxidant and anti-cancer effects of nanoemulsion of sour cherry kernel oil, which can be used to prevent and treat many diseases that are associated with the production of reactive oxygen species.

Keywords: Nano emulsion, Essential oil, Sour cherry core, Antioxidant, Cytotoxicity.

►Please cite this paper as:

Darchini Maragheh A, Homayouni Tabrizi M, Karimi E. Evaluation of Antioxidant and Cytotoxic Effects of Nanoemulsion of Sour Cherry Kernel Oil on A549 Lung Cancer and HUVEC Normal Cells. *Jundishapur Sci Med J* 2019; 18(1):71-79.

Received: April 14, 2019

Revised: June 1, 2019

Accepted: June 8, 2019

مجله علمی پزشکی جندی شاپور، دوره ۱۸، شماره ۱، ۱۳۹۸