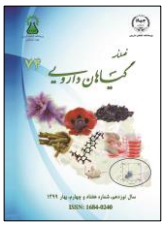
فصلنامه گیاهان دارویی ۱۳۹۹؛ ۱۹(۷۴): ۳۱۰-۳۲۴



فصلنامه گیاهان دارویی

Journal homepage: www.jmp.ir

پژوهشکده گیاهان دارویی
جهاد دانشگاهی

مقاله تحقیقاتی

ارزیابی سمیت ژنتیکی نانوکپسول عصاره سنجد (*Elaeagnus angustifolia* L.) به دو روش برون‌تنی و درون‌تنی

نگار زمانی[۱]، معصومه حشمتی[۲]، سپیده اربابی بیدگلی[۳،*]

[۱] مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی تهران، تهران، ایران

[۲] گروه علوم سلولی و مولکولی، دانشکده علوم و فناوری‌های نوین، دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی تهران، تهران، ایران

[۳] گروه سم‌شناسی داروشناسی، دانشکده داروسازی و علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی تهران، تهران، ایران

اطلاعات مقاله

گل‌واژگان:
ایمز
ژنوتوکسیسیتی
میکرونوکلئوس
نانوکپسول سنجد

چکیده

مقدمه: اگرچه سنتز و مطالعات اولیه بر روی نانو کپسول سنجد دلالت بر اثربخشی آن در پوکی استخوان در مدل تجربی موش صحرایی داشته و با افزایش معنی‌دار سطح خونی کلسیم همراه بوده اما سمیت این نانو کپسول تاکنون مورد ارزیابی قرار نگرفته است. **هدف:** در این مطالعه سمیت ژنتیکی نانوکپسول سنجد با دو آزمون ایمز (برون‌تن) و میکرونوکلئوس (درون‌تن) ارزیابی شد. **روش بررسی:** جهت انجام آزمون ایمز، از دو سویه سالمونلاتیفی موریوم TA100 و TA98 و جهت آزمون میکرونوکلئوس از رت‌های نر و ماده، پس از تجویز ۴۵ روزه خوراکی نانوکپسول سنجد با دوز ۱۰۰۰ µg/Kg صورت گرفت. بدین‌منظور لنفوسیت‌ها از طحال حیوانات تحت رژیم جدا شده و تعداد موارد میکرونوکلئوس در بین گروه‌های مورد و شاهد مقایسه شد. **نتایج:** علاوه بر اینکه نانوکپسول در آزمون ایمز فاقد هرگونه اثرات موتاژنیک بود، در مواجهه همزمان با سدیم آزاید، اثرات آنتی‌موتاژنیک برروی هر دو سویه سالمونلاتیفی موریوم TA100 و TA98 را نیز به وضوح نمایش داد و این یافته با کاهش معنی‌دار و وابسته به دوز تعداد کلونی در رقت‌های مختلف نانوکپسول سنجد و کنترل مثبت (سدیم آزاید) شناسایی شد ($P \leq ۰/۰۰۱$). لیکن نتایج مطالعه در آزمون میکرونوکلئوس افزایش معنی‌دار تعداد میکرونوکلئوس، پل‌های نوکلئوپلاسمی و جوانه‌های هسته‌ای نسبت به گروه کنترل را در هر دو جنس نر و ماده نمایش داد ($P \leq ۰/۰۰۱$). **نتیجه‌گیری:** با توجه به ارزش‌های درمانی نانو کپسول سنجد، بازنگری در ساختار نانو کپسول و تکرار مطالعه درون‌تن در دوزهای کمتر، پیش از انجام مطالعات کلینیکی این شکل اولیه دارویی ضرورت دارد.

مخففها: TNF-α، Tumor Necrosis Factor α؛ MMP-1، Matrix Metalloproteinase 1؛ IL-10، Interlukin10؛ OECD، The Organization for Economic Co-operation and Development؛ DMSO، Dimethyl sulfoxide؛ SLS، Sodium Lauryl Sulfate؛ DETA، Diethylenetriamine؛ MCE، Mixed *Cellulose* Ester؛ RPMI، Roswell Park Memorial Institute Medium؛ FBS، Fetal Bovine Serum؛ PHA، Phytohaemagglutinin؛ MIC، Concentration Minimum Inhibitory؛ H2Ax، H2A Histone Family Member X؛ 8-OhdG، 8-OXO-1 Deoxyguanosine؛ SCE، Single Chromatid Exchange؛ NOAEL، No Observed Adverse Effect Level.

* نویسنده مسؤول: sepideharbabi@gmail.com، s.arbabi@iautmu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۸ اسفند ۱۳۹۷؛ **تاریخ دریافت اصلاحات:** ۷ خرداد ۱۳۹۸؛ **تاریخ پذیرش:** ۸ خرداد ۱۳۹۸

doi: 10.29252/jmp.19.74.310

© 2020. Open access. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)

[Downloaded from jmp.ir on 2025-11-04]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2020.19.74.22.0]

[DOI: 10.29252/jmp.19.74.310]

۱. مقدمه

میوه گیاه *Elaeagnus angustifolia* L. معروف به اسامی سنجد، زیتون ایرانی، زیتون روسی و یا اولئاستر، میوه گیاهی از خانواده *Elaeagnacea* است که از دیرباز در طب سنتی دارای جایگاه ویژه‌ای جهت درمان بیماری‌های مختلف بوده است [۱]. از مهم‌ترین کارآیی‌های این گیاه در طب سنتی می‌توان به قابلیت آن در تخفیف دردهای روماتوئیدی، استئو آرتریت، اختلالات گوارشی و بیماری آسم و موارد دیگر نام برد که البته این خواص و قابلیت‌های احتمالی دیگر گیاه می‌تواند به دلیل وجود اثرات آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی، ضددردی، ضدمیکربی، ضدتوموری و آنتی‌موتاژنیک باشد اما صحت این کاربردها و مکانیسم‌های پیشنهادی، صرفاً مبتنی بر وجود مطالعات تجربی بوده و به ندرت در کارآزمایی‌های بالینی به اثبات نهایی رسیده است [۲].

از میان مکانیسم‌های اثر پیشنهادی، اثرات ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی برای سنجد شناسایی شده است که این اثرات مبتنی بر شناسایی گلیکوزیدهای قلبی، فلاونوئیدها، ترپنوئیدها و ساپونین‌ها در عصاره هیدروالکلی میوه سنجد [۳] یا بواسطه وجود مقادیر قابل توجهی از ترکیبات فنلی و آنتی‌سیانوزیدها بوده است [۴]. بر مبنای وجود این ترکیبات فنلی و آنتی‌سیانوزیدهای شناخته شده در یکی از معدود مطالعات کلینیکی بر روی این گیاه با مصرف روزانه ۱۵ گرم از *E. angustifolia* L. *medulla* و پودر کامل سنجد در یک دوره درمانی ۸ هفته‌ای در ۹۰ زن مبتلا به استئو آرتریت زانو، سایتوکاین‌های التهابی از جمله (TNF-α) Tumor Necrosis Factor α و (MMP-1) Matrix Metalloproteinase 1 به طور معنی‌داری کاهش یافته و سایتوکاین‌های ضدالتهابی از جمله(IL-10) Interlukin10 به شکل قابل ملاحظه‌ای افزایش یافته‌اند [۴]. اما علی‌رغم یافته‌های فوق درخصوص خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی میوه سنجد، در عصاره سایر بخش‌های هوایی گیاه اثرات ضدالتهابی دیده نشده است [۵].

یکی از سیستم‌های دارورسانی کارآمد در داروسازی نوین، نانوکپسول‌ها هستند که به عنوان حاملی قابل قبول برای محبوس‌سازی و رهایش برنامه‌ریزی شده ترکیبات دارای فعالیت زیستی (Bioactive compounds) استفاده می‌شوند [۶]. اخیراً در صنعت داروسازی جهت تأمین اهداف مهمی از جمله دارورسانی هدفمند، افزایش جذب سیستمیک، افزایش برداشت بافتی، توزیع زیستی بیشتر و کاهش سمیت مولکول‌های شیمیایی از اشکال نانو کپسول استفاده شده است [۷]. به طور همزمان استفاده از این تکنولوژی، جهت ترکیبات گیاهی پرکاربرد در عرصه درمان، نظیر نانوکپسول کورکومین [۸]، نانو کپسول رزوراترول [۹] و دیگر موارد، باعث بروز تحولی قابل توجه در جهت اثربخشی داروها با عوارض جانبی محدودتر شده است.

نانو کپسول سنجد برای اولین بار توسط اسماعیلی و همکاران با استفاده از تکنولوژی امولسیون دیفیوژن جهت درمان پوکی استخوان تهیه شد [۱۰] و در مدل تجربی موش صحرایی باعث افزایش معنی‌دار سطح خونی کلسیم شد [۱۱] اما یکی از الزامات قانونی در فاز توسعه‌ای داروهای جدید انجام مطالعات سمیت است که از مهم‌ترین آنها سمیت ژنتیکی است که در این خصوص این نانو کپسول تاکنون به انجام نرسیده است. سمیت ژنتیکی نوعی پاسخ سمی است که بروز آن در مدل حیوانی می‌تواند با خطر بروز آسیب‌های DNA، موتاسیون، ناهنجاری‌های کروموزومی و کلاستوژنزیس همراه باشد. مشاهده سمیت ژنتیکی در مدل‌های برون‌تن و درون‌تن معتبر می‌تواند با افزایش ریسک بروز اثرات مشابه در انسان را همراه لذا ارزیابی پتانسیل سمیت ژنتیکی ترکیبات پیش از ورود به بازار بسیار حائز اهمیت بوده و معمولاً بایستی با بیش از یک روش کلاسیک مورد ارزیابی قرار گیرد. مضاف بر این، دستورالعمل‌های

[Downloaded from jmp.ir on 2025-11-04]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2020.19.74.22.0]
[DOI: 10.29252/jmp.19.74.310]

مدون ارزیابی سمیت، مطابق با دستورالعمل‌های The Organization for Economic Co-operation and Development (OECD) بایستی برای نانو مواد به طور جداگانه‌ای بازنگری و تنظیم شوند که معمولاً ترکیب حداقل یک روش درون تن و یک روش برون‌تن برای این ارزیابی‌ها ضرورت دارد [۱۲] لذا در راستای برنامه هدفمند تولید فراوده جدید نانوکپسول سنجد در ادامه تحقیقات قبلی و به موازات ارزیابی سمیت عضوی این نانوکپسول، تحقیق حاضر به تعیین سمیت ژنتیکی فراورده پیشنهادی به دو روش درون‌تن و برون‌تن پرداخته است.

۲. مواد و روش‌ها

۱.۲. *تهیه نمونه نانو کپسول سنجد*

جهت ساخت نانوکپسول سنجد، سنجد به پودر تبدیل شد و با استفاده از حلال متانول و با دستگاه سوکسله عصاره آن استخراج شد و سپس حلال مربوطه فیلتر و تبخیر شد. جهت تهیه نانو کپسول عصاره سنجد، برای هر یک میلی‌گرم از عصاره، دو و نیم میلی‌گرم از روغن زیتون، و یک و نیم میلی‌گرم از span به ترتیب در ۱۸، ۱۵، ۱۰ و ۵ میلی‌لیتر از حلال‌های آلی مختلف از جمله استون، اتیل‌استات، DMSO حل شد. از طرف دیگر دو و نیم میلی‌گرم از عصاره سنجد در ۲، ۵، ۱۰ و ۱۵ میلی‌لیتر از متانول حل شده و به آن اضافه شد. بعد از تهیه فاز آلی، این فاز قطره قطره به ۱۰۰ میلی‌لیتر آب اضافه شد و سپس یک و نیم میلی‌گرم از سورفکتانت‌های مختلف (tween80, tween 60, tween20, gelatin, SLS) و ۴ میلی‌گرم ازمونومر DETA و یک و نیم میلی‌گرم گلیسیرین، در دمای اتاق به محلول اصلی اضافه شدند [۱۰]. محلول سوسپانسیون آماده شده تحت فرا صوت قرار گرفته و استون آن تحت خلاء آزاد شد، و این چرخه چهار بار تکرار شد و سپس با آب دیونیزه شده تا چهار برابر رقیق شد [۱۱].

۲.۲. *آزمون جهش‌زایی ایمز*

با توجه به اینکه نمونه مورد آزمایش در این تحقیق پودر نانوکپسول سنجد جامد بود، ابتدا تا سر حد حلالیت (۰/۷۵ mg/ml)، نمونه در آب مقطر حل شده و پس از تهیه ماکزیمم غلظت، با فیلتر سرسرنگی ۰/۴۵ میکرون از جنس Mixed *Cellulose* Ester (MCE) که مناسب برای نمونه‌های بیولوژیک و آبی می‌باشد، به داخل لوله فالکون استریل وارد نموده و با روش فیلتراسیون استریل شد. جهت تهیه نمونه نانوکپسول سنجد حل شده در آب مقطر، بعد از استریل کردن محلول استوک با غلظت ۰/۷۵ mg/ml، در ۶ لوله آزمایش استریل یک میلی‌لیتر آب مقطر استریل اضافه شد و بعد با استفاده از پیپت یک میلی‌لیتری استریل و پوآر، به لوله اول یک میلی‌لیتر از غلظت حداکثر نانوکپسول سنجد افزوده شد و بعد از هم زدن، یک میلی‌لیتر از این لوله برداشته و به لوله بعدی اضافه شد و این کار ادامه پیدا کرد. به این صورت غلظت هر لوله نصف لوله قبلی بوده و غلظت‌های به دست آمده شامل ۰/۷۵ mg/ml، ۰/۳۷۵، ۰/۱۸۷۵، ۰/۰۹۳۷، ۰/۰۴۶۹ و ۰/۰۲۳۴ تهیه شدند. در ادامه مطالعه، ۱۰۰ لاندا از هر نمونه، ۱۰۰ لاندا از سوسپانسیون میکروبی و ۲۰۰ لاندا هیستیدین-بیوتین داخل لوله‌های میکروتیوب ریخته شد و به مدت ۳۰ دقیقه در انکوباتور قرار گرفت (روش pre-incubation). سپس محتویات لوله مستقیماً به دو و نیم میلی‌لیتر تاپ آگار ۴۵ درجه اضافه شد و به مدت ۳ ثانیه روی شیکر به خوبی مخلوط و در کمتر از ۳۰ ثانیه روی سطح پلیت مینیمال گلوکز آگار پخش شد. پس از سفت شدن آگار در شرایط استریل (زیر هود لامینار) پلیت‌ها وارونه شده و به مدت ۴۸ تا ۷۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه انکوبه شدند. در این آزمون از سدیم آزاید به عنوان کنترل مثبت که یک ترکیب جهش‌زای ژنتیکی با اثرات سرطان‌زایی شناخته شده است و از آب مقطر به عنوان کنترل منفی استفاده شد [۱۳]. جهت اطمینان از نتایج به دست آمده، آزمون ایمز برای هر ۶ غلظت

[Downloaded from jmp.ir on 2025-11-04]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2020.19.74.22.0]
[DOI: 10.29252/jmp.19.74.310]

استفاده شده از نانوکپسول سنجد و کنترل‌های منفی و مثبت برای هر سوش TA100 و TA98 دوبار تکرار شدند.

۳.۲. آزمون میکرونوکلئوس

در این مطالعه تجربی، موش‌های رت ویستار نر و ماده ۴ الی ۶ هفته، در قفس‌هایی از جنس فولاد ضدزنگ، در دمای کنترل شده اتاق (۲۲ درجه سانتی‌گراد) و دارای چرخه ۱۲ ساعته نور و تاریکی در حیوانخانه واحد علوم دارویی دانشگاه آزاد اسلامی نگهداری شدند. حیوانات در طول مطالعه، دسترسی آزاد به خوراک استاندارد و آب داشتند و تمام آزمایشات حیوانی این مطالعه، مطابق با راهنمای کار با حیوانات مصوب کمیته اخلاق دانشگاه و طبق دستورالعمل کار با حیوانات وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی انجام شد. در این بخش از مطالعه، کپسول نانو سنجد به صورت روزانه با دوز ۱۰۰۰ µg/kg به صورت محلول در آب به مدت ۴۵ روز گاواژ شد. آزمون میکرونوکلئوس به روش cytokinesis-block در۳ گروه ۳ تایی رت نر و ۳ گروه ۳ تایی ازرت ماده انجام شد. گروه‌ها شامل کنترل مثبت (کلسیم کربنات)، نمونه (نانوکپسول سنجد) و گروه کنترل منفی (آب مقطر) بود. پس از اتمام ۴۵ روزه گاواژ، آزمایش میکرونوکلئوس مطابق روش استاندارد و بر روی رت‌ها انجام شد [۱۴]. بدین‌ترتیب که ابتدا تمام ۱۸رت به روش نخاعی کشته شدند و با الکل ۷۵ درصد ضدعفونی شدند. در اتاق کشت زیر هود لامینار طحال رت‌ها به روش جراحی خارج و در محیط کشت RPMI1640 قرار داده شد. سپس با تزریق ۲ میلی‌لیتر محیط کشت RPMI1640 در طحال، محتوای سلولی آنها استخراج شد. محصول این مرحله توسط پیپت پاستور به آرامی بر روی ۲ تا ۳ میلی‌لیتر فایکول در لوله فالکون قرار گرفت و توسط دستگاه سانتریفیوژ با دور ۳۰۰۰ و زمان ۳ دقیقه جداسازی شد سپس پلاک سلولی حاصل در ۱ میلی‌لیتر محیط کشت حل شد. پس از جداسازی لنفوسیت ها، ۲۰۰ میکرولیتر از هر نمونه به پلیت‌های ۱۲ خانه‌ای کشت سلول و ۲۰ میکرولیتر محلول (FBS) Fetal Bovine Serum و ۵ میکرولیتر محلول فیتوهماگلوتینین (PHA) به هر یک از نمونه‌ها افزوده شد. پلیت کشت در انکوباتور قرار داده شد و پس از اطمینان از تکثیر سلول‌های لنفوسیت، ۲۴ ساعت بعد از آغاز کشت سلولی به هر نمونه ۰/۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر cytochalasin-B اضافه شد و پلیت‌ها دوباره در انکوباتور قرار گرفت. پس از ۲۴ ساعت سلول‌های برداشته شده روی لام‌ها قرار داده شدند. پس از خشک شدن لام‌ها در هوا، سلول ها بوسیله محلول اسید استیک/متانول (به نسبت ۱ به ۳) تهیه و ثابت شد و لنفوسیت‌ها توسط محلول گیمسا ۲۰ درصد رنگ‌آمیزی شدند.

۴.۲. مطالعات آماری

داده‌ها به شکل متغیرهای پیوسته با توزیع نرمال بودند که برای هر یک از متغیرها میانگین ± انحراف معیار از ۳ نمونه در هریک از گروه‌ها تعیین شد. برای آنالیز آماری ازآزمون ANOVA یک طرفه به همراه آزمون Independent Sample t Test استفاده شد و میزان P< ۰/۰۵ به عنوان اختلاف معنادار آماری در نظر گرفته شد.

۳. نتایج

۱.۳. آزمون جهش‌زایی ایمز

پس از تعیین سطح (MIC) Minimum Inhibitory Concentration و محاسبه محدوده اثرات بازدارندگی نمونه موردنظر، غلظت مجاز جهت انجام مطالعه بر روی سویه‌های باکتری جهت انجام آزمون اصلی مشخص شد. بر این اساس ۶ غلظت مختلف معیار انجام مطالعه قرار گرفت و نتایج مربوط به این ۶ غلظت مختلف نانو کپسول سنجد در مقایسه با کنترل مثبت و کنترل منفی در نمودارهای ۱ و ۲ درج شده

[Downloaded from jmp.ir on 2025-11-04]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2020.19.74.22.0]
[DOI: 10.29252/jmp.19.74.310]

است. ماده مورد آزمون بدون بروز اثرات جهش‌زایی، از اثرات آنتی‌موتاژنیسیته وابسته به غلظت برخوردار بود به صورتی که در دوز ۰/۷۵ mg/ml تعداد کلونی‌های برگشتی در هر دو سویه TA100 و TA98 بسیار کم بوده و این حاکی از اثرات قریب صددرصدی آنتی‌موتاژنیک نانوکپسول سنجد است (نمودارهای ۱ و ۲). این نتیجه در شرایطی حاصل شد که در سایر پلیت‌های حاوی ماده موتاژن NaN3 و ماده آنتی‌موتاژن، بخصوص در غلظت‌های بالا، فرکانس جهش‌زایی به وضوح کاهش یافته و از تعداد کلونی‌های برگشت یافته در مقایسه با پلیت‌های کنترل مثبت هر سوش کاسته شد. در واقع کاهش تعداد کلونی‌های ایجاد شده در پلیت‌ها نسبت به پلیت کنترل مثبت بیانگر اثرات آنتی‌موتاژنیسیته نانوکپسول سنجد است. در این راستا شرح دقیق‌تر نتایج هریک از غلظت‌ها به صورت زیر بوده است:

- در غلظت ۰/۷۵ mg/ml نمونه فقط ۲ کلونی برگشت یافته در پلیت مربوط به سویه TA98 دیده شد و برای سویه TA100 به طور میانگین ۱۰ کلونی برگشت یافته مشاهده شد.
- در غلظت ۰/۳۷۵ mg/ml، میانگین تعداد کلونی‌ها در سویه TA98، ۱۰ عدد بود و این تعداد در سویه TA100 ۳۰ عدد تعیین شد.
- در غلظت ۰/۱۸۷۵ mg/ml از نانوکپسول سنجد، سویه TA98 تعداد کلونی‌ها ۱۹ عدد بود و در سویه TA100 میانگین تعداد کلونی‌ها ۴۹ عدد تعیین شد.
- در غلظت بعدی مصرفی از نانوکپسول سنجد ۰/۰۹۳۷ mg/ml، سویه‌های TA98 و TA100 میانگین تعداد کلونی‌ها به ترتیب، ۳۰ و ۷۰ عدد بود.
- در غلظت ۰/۰۴۶۹ mg/ml، تعداد کلونی‌ها در دو سویه TA98 و TA100 به ترتیب ۵۰ و ۹۵ عدد شمارش شد.
- در کمترین غلظت یعنی ۰/۰۲۳ mg/ml، در سویه TA98 تعداد کلونی‌ها ۷۳ عدد و در سویه TA100 میانگین تعداد کلونی‌ها ۱۳۵ عدد تعیین شد.

در همه غلظت‌ها کاهش تعداد کلونی بین گروه نمونه و کنترل مثبت (ماده جهش‌زای سدیم آزاید)، تفاوت کاملاً معنی دار ($P \leq ۰/۰۰۱$) مشاهده شد و به وضوح اثرات آنتی‌موتاژنیک نانو کپسول سنجد در محیط برون‌تن به اثبات رسید.

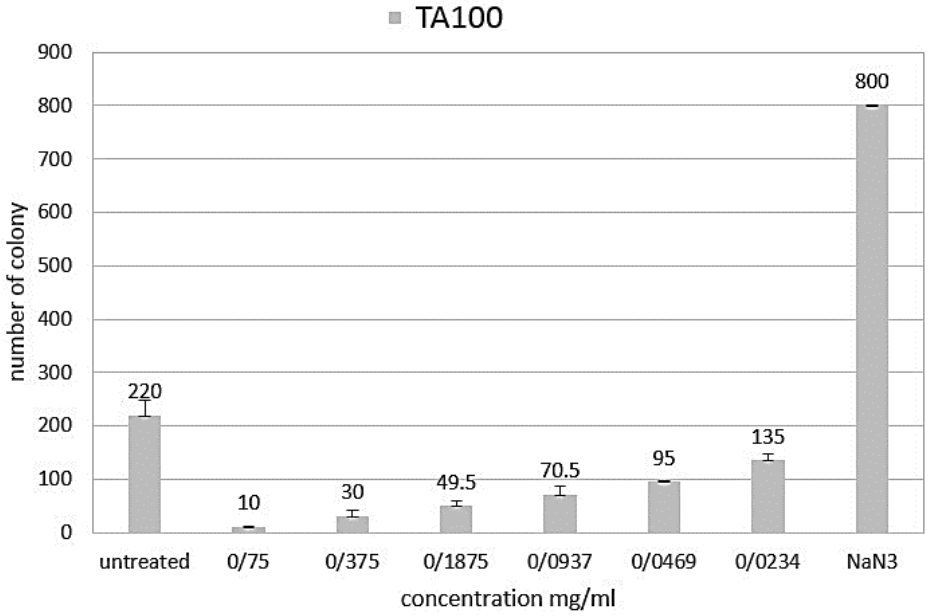
۲.۳. آزمون میکرونوکلئوس

طبق نتایج درج شده در جدول ۱، افزایش تعداد میکرونوکلئوس در گروه کلسیم کربنات و نانوکپسول سنجد در رت‌های ماده در مقایسه با گروه کنترل معنی‌دار ($P \leq ۰/۰۱$ و $P \leq ۰/۰۰۱$) ارزیابی شد که نمای کلی آن در شکل ۱ درج شده است. بین تعداد میکرونوکلئوس‌ها، بین دو گروه کلسیم کربنات و نانوکپسول سنجد نیز تفاوت معنی‌دار ($P \leq ۰/۰۰۱$) مشاهده شد. در واقع افزایش تعداد پل‌های نوکلئوپلاسمی در گروه کلسیم کربنات و نانوکپسول سنجد در مقایسه با گروه کنترل تفاوت معنی‌داری ($P \leq ۰/۰۱$ و $P \leq ۰/۰۰۱$) مشاهده شد. همچنین بین تعداد پل‌های نوکلئوپلاسمی بین دو گروه کلسیم کربنات و نانوکپسول سنجد تفاوت معنی‌دار ($P \leq ۰/۰۵$) قابل مشاهده بود. افزایش تعداد جوانه‌های هسته‌ای در گروه نانوکپسول سنجد در مقایسه با گروه کنترل تفاوت معنی‌داری را نمایش داد ($P \leq ۰/۰۱$ و $P \leq ۰/۰۰۱$).

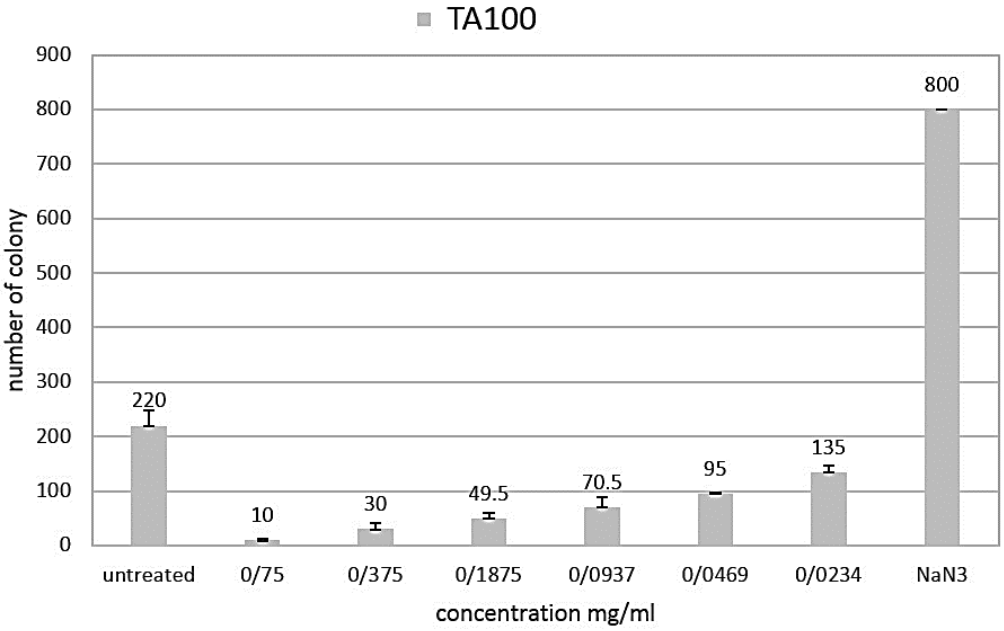
طبق نمودار ۳، افزایش تعداد میکرونوکلئوس در گروه نانوکپسول سنجد در مقایسه با گروه کنترل در رت‌های نر تفاوت معنی‌دار ($P \leq ۰/۰۵$ و $P \leq ۰/۰۱$) بود. همچنین تعداد میکرونوکلئوس هابین دو گروه کلسیم کربنات و نانوکپسول سنجد تفاوت معنی‌دار ($P \leq ۰/۰۵$) داشت. افزایش تعداد پل های نوکلئوپلاسمی در گروه نانوکپسول سنجد در مقایسه با گروه کنترل تفاوت معنی‌داری ($P \leq ۰/۰۱$) را نمایش داد و

[Downloaded from jmp.ir on 2025-11-04]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2020.19.74.22.0]
[DOI: 10.29252/jmp.19.74.310]

افزایش تعداد جوانه‌های هسته‌ای در گروه نانوکپسول سنجد در مقایسه با گروه کنترل تفاوتش بازهم معنی‌دار ($P \leq ۰/۰۵$) بود. در آخر بین تعداد جوانه‌های هسته‌ای بین دو گروه کلسیم کربنات و کنترل تفاوت معنی‌دار ($P \leq ۰/۰۵$) ثبت شد (نمودارهای ۴ و ۵).



نمودار ۱. تعداد کلونی‌های برگشتی در غلظت‌های ۰/۰۲۳۴ mg/ml – ۰/۷۵ در حضور ماده موتاژن سدیم آزاید در سویه TA100.



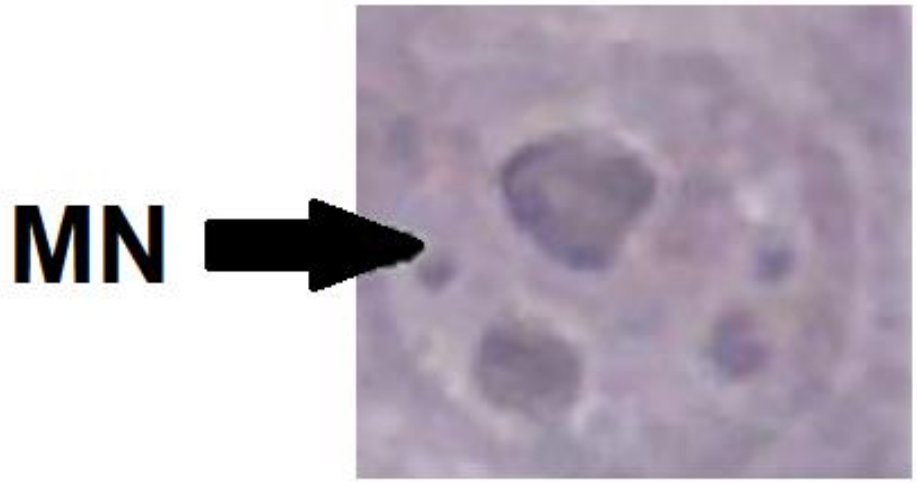
نمودار ۲. تعداد کلونی‌های برگشتی در غلظت‌های ۰/۰۲۳۴ mg/ml – ۰/۷۵ در حضور ماده موتاژن سدیم آزاید در سویه TA98

[Downloaded from jmp.ir on 2025-11-04]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2020.19.74.22.0]
[DOI: 10.29252/jmp.19.74.310]

جدول ۱ . نتایج آزمون میکرونوکلئوس در گروه ماده

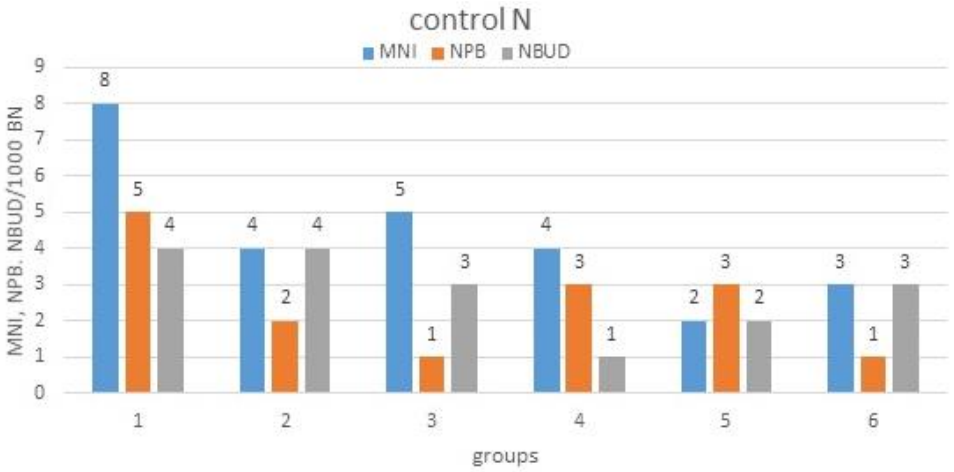
شاخص‌های تغییرات در ساختار ژنتیکی	موش‌های ماده تحت مداخله با کلسیم کربنات (میانگین ± SE)	موش‌های ماده تحت مداخله با نانو کپسول سنجد (میانگین ± SE)	کنترل (میانگین ± SE)
سلول‌های تک هسته‌ای[1]	۴۴/۰۴۹±۷۰۸	۱۸/۳±۵۱۰	۷/۲۱±۹۳۹
سلول‌های دو هسته‌ای[2]	۸/۹۶±۱۶۲	۴/۱۶±۱۹۲	۴/۰۴±۲۳
سلول‌های چند هسته‌ای[3]	۱۷/۵۰±۵۳	۹/۰۷±۱۰۲	۱/۵۲±۱۲
سلول‌های آپاپتوتیک[4]	۴/۵۸±۲۲	۱۳/۸۹±۶۲	۱/۵۲±۱۲
سلول‌های نکروتیک[5]	۱۳/۸۶±۲۶	۶/۵۵±۴۹	۱±۵
میکرونوکلئوس[6]	۶/۴۲±۱۶	۰/۵۷±۵۲	۱±۳
پل‌های نوکلئوپلاسمیک[7]	۲/۳۰±۷	۳/۲۱±۱۵	۱/۱۵±۱
نوکلئار BUD[8]	۴/۱۶±۶	۲/۳۰±۱۰	۱±۳

1 Mononucleated Cells (Mn.C)
2 Binucleated Cells (Bn.C)
3 Multinucleated Cells (Multi.C)
4 Apopototic Cells
5 Necrotic Cells
6 Micronucleus
7 Nucleuplasmic Bridges
8 Nuclear Bud

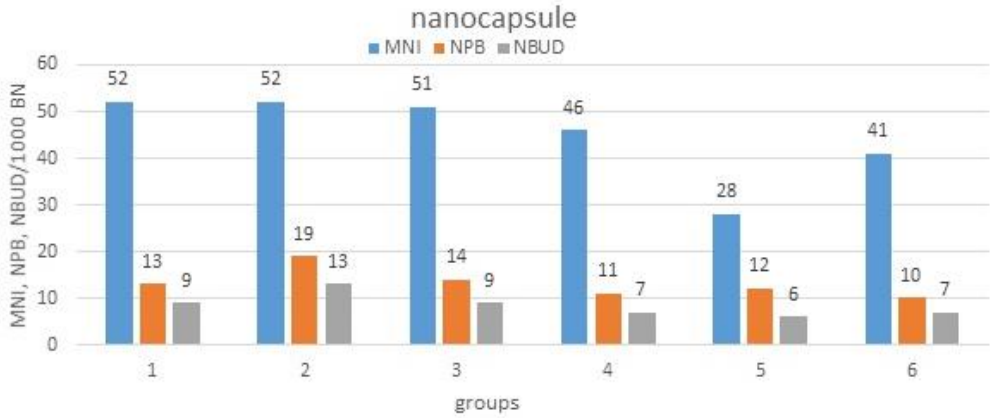


شکل ۱. نمایی از میکرونوکلئوس در گروه نانو کپسول سنجد بزرگنمایی × ۴۰

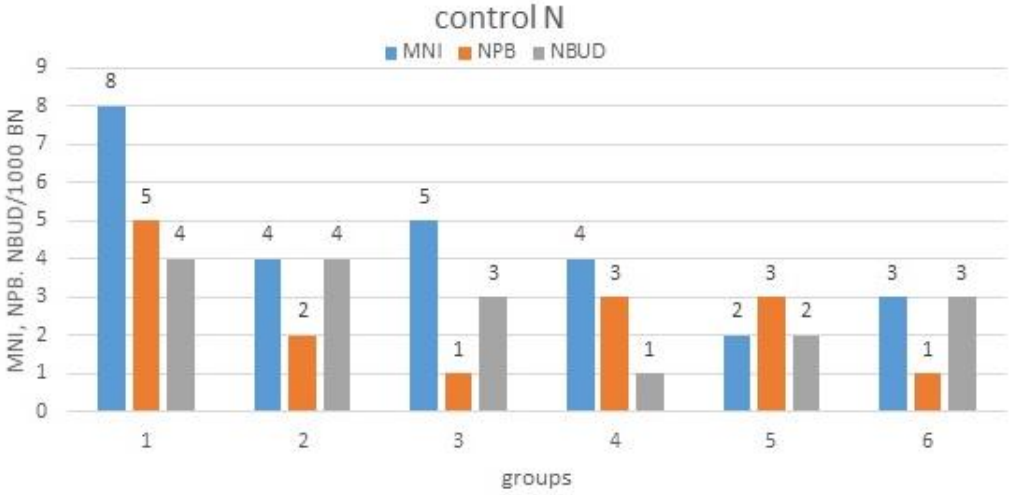
[Downloaded from jmp.ir on 2025-11-04]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2020.19.74.22.0]
[DOI: 10.29252/jmp.19.74.310]



الف



ب



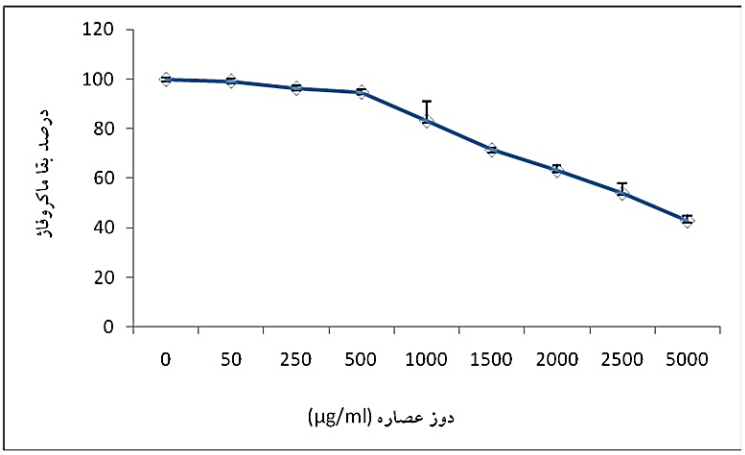
ج

نمودار ۳. مقایسه تأثیرات سیتوژنتیک کلسیم کربنات (الف)، نانو کپسول سنجد (ب) و آب مقطر (ج)

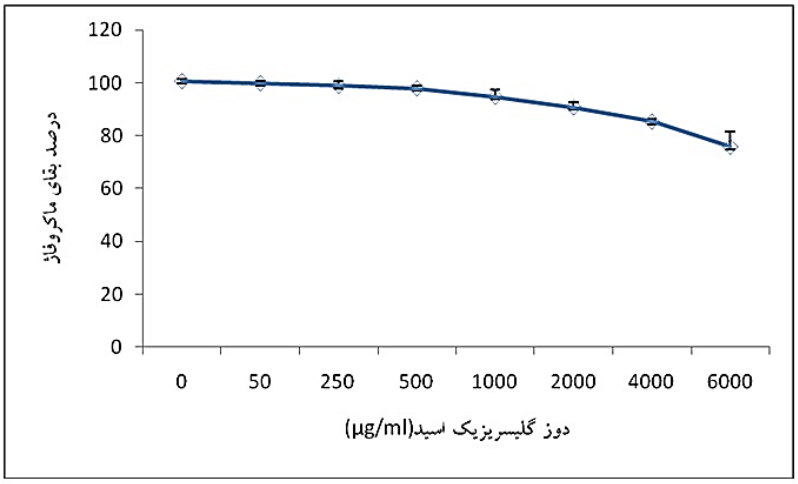
[Downloaded from jmp.ir on 2025-11-04]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2020.19.74.22.0]
[DOI: 10.29252/jmp.19.74.310]

جدول ۱. مقادیر IC_{50} عصاره هیدروالکلی ریشه شیرین‌بیان، گلیسریزیک‌اسید و گلوکانتیم بر پروماستیگوت لیشمانیا ماژور

نوع دارو	IC_{50} 24h µg/ml	IC_{50} 48h µg/ml
عصاره هیدروالکلی ریشه شیرین‌بیان	۱۲۵۰ ± ۰/۰۱۸	۱۰۰۰ ± ۰/۰۱۶
گلیسریزیک اسید	۳۰۰۰ ± ۰/۰۱۷	۳۰۰۰ ± ۰/۰۱۷
گلوکانتیم	۵۰ ± ۰/۰۴۳	۲۵ ± ۰/۰۰۹



نمودار ۴. درصد بقا ماکروفاژهای صفاقی بعد از تیمار با دوزهای مختلف عصاره هیدروالکلی ریشه شیرین‌بیان. عصاره هیدورالکلی ریشه شیرین‌بیان در دوز ۲۵۰۰±۰/۰۱۸ µg/ml منجر به بقای ۵۰ درصد از ماکروفاژها شد. همچنین دوز ۱۰۰۰ µg/ml و دوزهای بیشتر از آن منجر به کاهش معنی‌دار (P < ۰/۰۵) ماکروفاژها شدند.



نمودار ۵. درصد بقای ماکروفاژهای صفاقی بعد از تیمار با دوزهای مختلف گلیسریزیک‌اسید. دوزهای کمتر از ۲۰۰۰ µg/ml گلیسریزیک اسید منجر به کاهش معنی‌داری (P-value < ۰/۰۵) درصد ماکروفاژها نشدند.

[Downloaded from jmp.ir on 2025-11-04]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2020.19.74.22.0]
[DOI: 10.29252/jmp.19.74.310]

جدول ۲. درصد آلودگی ماکروفاژ و درصد بقا آماستیگوت‌ها در ماکروفاژها

گروه‌ها												
کنترل	**گلوکانتیم**			**گلیسریزیک‌اسید**				**عصاره ریشه شیرین‌بیان**				
بدون دارو	۲۵	۵۰	۱۰۰	۵۰۰	۱۰۰۰	۲۰۰۰	۳۰۰۰	۵۰۰	۷۵۰	۱۰۰۰	۲۰۰۰	**دوز دارو (میکروگرم بر میلی‌لیتر)**
۸۹	۶۷	۶۳	۵۰	۶۸	۶۵	۵۳	۴۶	۶۰	۵۷	۴۶	۵۲	**درصد آلودگی ماکروفاژ**
۱۰۰	۴۷	۳۷	۳۱	۶۴	۴۷	۴۳	۳۸	۴۹	۳۵	۳۰	۲۲	**درصد بقا آماستیگوت**

۴. بحث

اگر چه بر اساس آنالیز اجزا بخش‌های هوایی گیاه *E. angustifolia* L. اثرات درمانی گیاه می‌تواند تا حدی مورد تردید واقع شده و تابعی از شرایط آب و هوایی و خاک و اقلیم منطقه مورد کشت باشد [۱۵] اما کاربردهای فراوانی درخصوص عصاره سنجد بر اساس مطالعات درون‌تن و برون‌تن مطرح است. از جمله مهم‌ترین این مطالعات برروی نمونه‌های عصاره سنجد کاشت ایران در مدل‌های حیوانی، می‌توان به خواص شل‌کنندگی عضلات [۱۶]، قابیلت استخوان‌سازی آن در مدل اوراکتومی (برداشتن تخمدان) [۱۷]، خاصیت پیشگیرانه آن از بروز هپاتوسلولار کارسینوما بواسطه اثرات آنتی‌موتاژنزیس، آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی [۱۸] و درنهایت اثرات مهارکنندگی قوی عصاره سنجد در در مدل آرتریت روماتوئید [۳] اشاره نمود. مطالعات گسترده دیگری در مدل برون تن نیز اثرات متنوع‌تری از آن را در حیطه ویژگی‌های ضدالتهابی، آنتی‌میکروبیال، آنتی‌اکسیدانی، ضدزخمی، ضددردی مطرح می‌کند [۲] و اثرات آنتی‌موتاژنیک عصاره متانولی برگ‌های گیاه [۱۹] و پلی‌ساکاریدهای استخراجی آن [۲۰] ارزش‌های افزوده‌تری را برای این گیاه و میوه آن مطرح می‌کند. با این توصیف، فقدان اثرات موتاژنیک کپسول نانو سنجد تحقیق حاضر در کنار اثرات موتاژنیک محرز آن در این مطالعه (هرچند به صورت برون‌تن)، به وضوح نتایج تحقیقات گذشته را تأیید می‌کند.

وجود گستره وسیعی از شاخص‌های فیتوشیمیایی و فارماکولوژیکی مهم در نمونه‌های سنجد کشور ایران [۲]، در کنار تنوع مطالعات و تناقضات درمانی در مدل‌های برون‌تن و درون‌تن برروی عصاره سنجد در سطح جهان، محدودیت در مطالعات ایمنی [۲۳، ۲۲] و درنهایت فقدان اطلاعات درخصوص سمیت ژنتیکی عصاره سنجد در مدل‌های درون‌تن [۲]، همه و همه دلایلی متقن جهت ضرورت انجام مطالعات سیستماتیک بر روی عصاره سنجد است. لذا با توجه به موارد ذکر شده و با توجه به پتانسیل‌های درمانی سنجد، پس از انجام مطالعات مقدماتی درخصوص ساخت و کاراکتریزه کردن نانو کپسول سنجد [۱۰]، انجام موفقیت‌آمیز مطالعات درون‌تن درخصوص افزایش سطح سرمی کلسیم و دانسیته استخوان در رت ویستار در پی مصرف خوراکی نانو کپسول سنجد [۱۱] و همچنین ضرورت به انجام رسیدن مطالعات توسعه‌ای تکمیلی درخصوص سمیت ژنتیکی این نانو کپسول، به طور همزمان به مطالعه سمیت سیستمیک و سمیت ژنتیکی نانوکپسول سنجد پرداخته شد که این مقاله صرفاً به توصیف بخش سمیت ژنتیکی نانو کپسول سنجد دو روش برون‌تن و درون‌تن اختصاص داشت.

بر اساس یافته‌های این تحقیق اگرچه مطالعه برون‌تن بر روی ۶ رقت مختلف از نانو کپسول سنجد، هر گونه اثر جهش‌زایی آن را نفی نموده و دلالت بر ایمنی این ترکیب داشت و اگرچه نمایش واضح اثرات آنتی‌موتاژنیک نانوکپسول سنجد در مواجهه مستقیم با سدیم آزاید به عنوان یک ترکیب موتاژن کارسینوژن قطعی، تأکید جدی‌تری بر پتانسیل آنتی‌موتاژنیک از این گیاه داشت و این موضوع در

[Downloaded from jmp.ir on 2025-11-04]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2020.19.74.22.0]
[DOI: 10.29252/jmp.19.74.310]

تأیید مطالعات اخیر [۱۳] بود، لیکن تضاد نتایج ایمنی نانو کپسول سنجد در مدل درون‌تن با تأکید بر روی آسیب‌های سیتوژنتیک به روش میکرونوکلئوس، می‌تواند جنبه‌های جدیدی را درخصوص احتمال سمیت ژنتیکی نانوکاریرهای محتوی عصاره سنجد مطرح نماید که این پدیده می‌تواند متأثر از فرایند متابولیکی و یا بدون ارتباط با آن باشد.

در خصوص روش مناسب جهت ارزیابی سمیت ژنتیکی نانو مواد چالش‌های زیادی وجود دارد. یک مقاله مروری اخیر به تضاد موجود در نتایج سمیت ژنتیکی نانو کاریرها با روش‌های مطالعاتی مختلف اشاره کرده است [۲۴]. در حاضر روش‌های متعددی جهت تعیین سمیت ژنتیکی یک نانو ماده از جمله آزمون ایمز، آزمون کامت، آزمون میکرونوکلئوس و بررسی ناهنجاری‌های کروموزومی بکار گرفته شده است اما نتایج این آزمون‌ها برروی یک ماده واحد در همه موارد با یکدیگر از تطابق لازم برخوردار نیست که نمونه آن در مطالعه حاضر نیز دیده شد. این مقاله مروری، نتایج ۴۵ مطالعه معتبر بر روی سمیت ژنتیکی نانو ذرات با روش‌های برون‌تن و درون‌تن از جمله روش کامت (Comet Assay)، روش ایمز، ردیابی هیستون فسفریله H2Ax، ردیابی ۸ هیدروکسی ۲ دزوکسی گوانوزین (8-OHdG) و تبادل کروموزوم‌های خواهری (SCE) را مطرح کرده است که همه آنها از روش‌های معتبر و قابل اعتمادی در پروتوکل‌های جهانی ارزیابی سمیت نانو ذرات بوده اندام‌ها نتوانستند ابهام لازم درخصوص سمیت ژنتیکی احتمالی نانوذرات را مرتفع نمایند [۱۵]. ما نیز در یک مطالعه در سال ۲۰۱۵ به اثرات موتاژنیک و آنتی‌موتاژنیک نانو نقره با تمرکز بر خواص فیزیکوشیمیایی آن پرداختیم و با استفاده از ۴ سویه مختلف سالمونلا تایفی موریوم به روش ایمز، اثرات احتمالی آنتی‌موتاژنیک نانو سیلور را مقایسه کردیم. اگرچه نتایج این مطالعه توانست برای مصرف نانوسیلور جهت کاربردهای خارج بدنی و برای ترکیباتی که برای سطوح و مصارف خارجی در نظر گرفته شده‌اند، قانع‌کننده باشد اما نتوانست برای سمیت ژنتیکی احتمالی ترکیباتی با مصارف سیستمیک و کاندیدای تجویز خوراکی، که در معرض پاسخ‌های بیولوژیک فردی از جمله متابولیسم قرار می‌گیرند، کافی باشد. نکته جالب توجه در این است که در برخی از مطالعات صورت گرفته با آزمون ایمز بر روی انواع نانوذرات، نتایج جهش‌زایی منفی گزارش شده است اما نتایج سمیت ژنتیکی تعداد زیادی از نانوذرات بررسی شده با آزمون ایمز، در سایرآزمون‌ها بر روی رده سلولی پستانداران در محیط برون‌تن مانند آزمون میکرونوکلئوس برون‌تن، آزمون کامت و ناهنجاری‌های کروموزومی و همچنین در مطالعات درون‌تن مثبت گزارش شده است، با این وجود، این تناقض بین سمیت ژنتیکی نانو ذرات در آزمون ایمز و سایر آزمون‌های معتبر سمیت ژنتیکی همیشه به چشم نمی‌خورد و در بسیاری از مقالات جدید همچنان به اعتبار و جایگاه این آزمون حتی درخصوص سمیت نانو ذرات فلزی (نانوذره طلا) استناد شده است [۲۵].

یکی دیگر از جنبه‌های جالب و ارزشمند در استفاده از نانو کپسول‌ها به عنوان کاریر پیشنهادی ترکیبات فلاونوئیدی، حذف اثرات سمیت ژنتیکی آنها بوده است [۲۶]. در مطالعه حاضر نانوکپسول سنجد در مقابل ماده موتاژن NaN_3 خاصیت آنتی‌موتاژنیسیک از خود نشان داد و دیده شد که تعدادی از پلیت‌هایی که در آنها نانوکپسول سنجد با غلظت های مشخص استفاده شده بودند، دارای تعداد کلونی‌های برگشت یافته کمتری نسبت به پلیت‌های کنترل مثبت مربوط به هر سویه باکتری بودند. به عبارت دیگر، این کمپلکس به خوبی توانست از جهش‌زایی ایجاد شده توسط ماده موتاژن NaN_3 جلوگیری به عمل آورد. بر اساس مطالعه حاضر، خاصیت آنتی‌موتاژنیسیته مشاهده شده از نانوکپسول سنجد وابسته به دوز/ غلظت بود و غلظت‌های مختلف از این ماده در برابر میزان یکسان از ماده موتاژن قدرت متفاوتی را نشان دادند که البته خواص آنتی‌موتاژنیسیته نانو کپسول سنجد در

[Downloaded from jmp.ir on 2025-11-04]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2020.19.74.22.0]
[DOI: 10.29252/jmp.19.74.310]

غلظت‌های برابر اثر بیشتری روی سویه‌های TA98 نسبت به TA100 نشان داد و کمترین تعداد کلونی‌های برگشت یافته در هنگام استفاده از غلظت ۰/۷۵ mg/ml نانوکپسول سنجد، برای هر دو سویه به کار برده شده سالمونلاتیفی موریوم بود. تعداد کلونی‌ها در حداکثر غلظت مصرفی، در سویه TA98 از سویه TA100 کمتر بود، بدین صورت که هنگام استفاده از غلظت ۰/۷۵ mg/ml نمونه فقط ۲ کلونی برگشت یافته در پلیت مربوط به سویه TA98 دیده شد و برای سویه TA100 به طور میانگین ۱۰ کلونی برگشت یافته مشاهده شد. با این استدلال ضرورت دارد تا اثرات آنتی‌موتاژنیک عصاره سنجد در فرم غیرنانویی نیز با شکل نانویی آن مقایسه شود تا بتوان به نقش این فرایند در بروز اثرات مشهود آنتی‌موتاژنیک با توجه به مطالعات اخیر پی برد. نکته مهم دیگر در این خصوص عدم وجود آنزیم‌های میکروزومال کبدی (S9 Fraction) است که می‌تواند بر وجود یا عدم وجود اثرات موتاژنیک یا آنتی‌موتاژنیک در فقدان آنزیم‌های میکروزومال صحه‌گذاری کند و این پاسخ نمی‌تواند الزامی برای تکرار نتیجه در مدل درون‌تن باشد. در مطالعه اوکمن و همکاران در سال ۲۰۱۳ نیز اثرات آنتی‌موتاژنیک عصاره متانولی سنجد در برابر سدیم آزاید بر روی سویه TA100 و صرفاً بدون استفاده از S9 بود که با نتایج حاضر عیناً مطابقت دارد [۲۷].

با توجه به آنچه در بخش اول مطالعه به عنوان اثرات آنتی‌موتاژنیک نانو کپسول سنجد مشاهده شد دور از ذهن نیست که این اثر پوشش دهنده در مطالعه حاضر نیز رخ شده باشد لیکن با توجه به طول مدت تجویز خوراکی نانوکپسول سنجد به موش (۴۵ روز) و دوز قابل توجه آن به عنوان یک نانو ذره (هزار میکروگرم در روز) به نظر می‌رسد این نتیجه با دوزهای کمتر و در زمان‌های کوتاه‌تر، قابل بازنگری باشد و یا اینکه با یکی دیگر از روش‌های درون تن ارزیابی سمیت ژنتیکی مورد تأیید قرار گیرد [۲۸]. به هرصورت نتایج منفی جهش‌زایی نانوکپسول سنجد در آزمون ایمز به تنهایی و با وجود ارزیابی‌های سیتوژنتیک در آزمون میکرونوکلئوس که بر روی لنفوسیت‌های استخراج شده از طحال موش انجام شد و افزایش معنی‌دار میکرونوکلئوس، پل‌های نوکلئوپلاسمی و جوانه‌های هسته‌ای در هر دو گروه نر و ماده تأیید نمود مانعی جدی جهت پیشبرد فاز توسعه‌ای و تجاری‌سازی فراورده حاصل در شکل فعلی خواهد بود.

۵. نتیجه‌گیری

علی‌رغم مشاهده اثرات آنتی‌موتاژنیک وابسته به دوز حاصل از هر شش غلظت مورد استفاده از نانوکپسول سنجد در هر دو سویه TA98 و TA100 و انطابق این نتیجه با مطالعات دیگران، تضاد نتایج با یافته‌های آزمون میکرونوکلئوس که بر روی لنفوسیت‌های استخراج شده از طحال Rat انجام شد مانعی جدی جهت ادامه مطالعات توسعه‌ای محصول در وضعیت فعلی خواهد بود چراکه این تضاد می‌تواند ناشی از تولید متابولیت‌های سمی با خاصیت جهش‌زایی در محیط درون تن ناشی از نانوکپسول یا نانو کاریرهای موجود در آن باشد. تکمیل مطالعات سم‌شناسی درون تن حاضر با دوزهای روزانه کمتری ازکپسول نانو سنجد، به آزمون گذاشتن آن در همین مدل درون‌تن و یا با استفاده از سایر روش ارزیابی سمیت ژنتیکی جهت تعیین پاسخ‌های سمی و آستانه ایمنی این فرآورده گیاهی (No Observed Adverse Effect Level/NOAEL) ضروری به نظر می‌رسد.

مشارکت نویسندگان

دکتر نگار زمانی به عنوان محقق اصلی، جمع‌آوری نمونه، کلیه مطالعات آزمایشگاهی و نگارش درفت اولیه مقاله را عهده‌دار بوده‌اند.

[Downloaded from jmp.ir on 2025-11-04]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2020.19.74.22.0]
[DOI: 10.29252/jmp.19.74.310]

دکتر معصومه حشمتی به عنوان استاد راهنمای دوم پایان نامه نظارت بر کلیه مراحل آزمایشگاهی و آنالیز اولیه داده ها را عهده‌دار بوده‌اند.

دکتر سپیده اربابی بیدگلی به عنوان استاد راهنمای اول پایان‌نامه طراحی موضوع و روش کار، آنالیز داده‌ها، بازنویسی و ویرایش مقاله را عهده‌دار بوده‌اند.

تضاد منافع

نویسندگان این مقاله تعارض منافع در انجام مطالعه ندارند.

تقدیر و تشکر

این مقاله حاصل انجام پایان‌نامه دکتری حرفه‌ای داروسازی خانم نگار زمانی است که بخشی از هزینه آن توسط واحد علوم دارویی دانشگاه آزاد اسلامی تأمین شده است. فرمولاسیون و مطالعات برروی نمونه اولیه نانوکپسول مورد استفاده در این مطالعه نیز حاصل پایان‌نامه کارشناسی ارشد خانم صدیقه نیکنام است که با راهنمایی جناب آقای دکتر اکبر اسماعیلی صورت گرفته است.

منابع

1. Hamidpour R, Hamidpour S, Hamidpour M, Shahlari M, Sohraby M, Shahlari N and Hamidpour R. Russian olive (*Elaeagnus angustifolia* L.): From a variety of traditional medicinal applications to its novel roles as active antioxidant, anti-inflammatory, anti-mutagenic and analgesic agent. *J. Trad. Comp. Med*. 2017; 7: 24-9.

2. Niknam F, Azadi A, Barzegar A, Faridi P, Tanideh N and Zarshenas. Phytochemistry and phytotherapeutic aspects of *Elaeagnus angustifolia* L. *Curr. Drug. Discov. Tech.* 2016; 13 (4): 199-210.

3. Motevalian M, Shiri M, Shiri S, Shiri Z and Shiri H. Anti-inflammatory activity of elaeagnus angustifolia fruit extract on rat paw edema. *J. Bas. Clin. Phys. Pharm*. 2017; 28 (4): 377-81.

4. Nikniaz Z, Ostadrahimi A, Mahdavi R, Ebrahimi AA and Nikniaz L. Effects of *Elaeagnus angustifolia* L. supplementation on serum levels of inflammatory cytokines and matrix metalloproteinases in females with knee osteoarthritis. *Comp. Ther. Med*. 2014; 22 (5): 864-9.

5. Chen XY, Han JX, Liu YS, Hajiakber A and Yuan T. Chemical constituents from traditional uighur herbal medicine elaeagnus angustifolia flowers. *Zhon. Zhong. Yao. Za. Zhi*. 2018; 43 (9): 1749-53.

6. Greque de Morais M, Greque de Morais E, Vaz Bda S, Gonçalves CF, Lisboa C and Costa JA. Nanoencapsulation of the bioactive compounds of spirulina with a microalgal Biopolymer Coating. *J. Nanosci. Nanotech.* 2016; 16 (1): 81-91.

7. Pinheiro AC, Bourbon AI, Cerqueira MA, Maricato E, Nunes C, Coimbra MA and Vicente AA. Chitosan/fucoidan multilayer nanocapsules as a vehicle for controlled release of bioactive compounds. *Carbo. Poly*. 2015; 115: 1-9.

8. Bapat P, Ghadi R, Chaudhari D, Katiyar SS and Jain S. Tocophersolan stabilized lipid nanocapsules with high drug loading to improve

[Downloaded from jmp.ir on 2025-11-04]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2020.19.74.22.0]
[DOI: 10.29252/jmp.19.74.310]

the permeability and oral bioavailability of curcumin. *Int. J. Pharm.* 2016; 16 (1): 81-91.

9. Amin DR, Higginson CJ, Korpusik AB, Gonthier AR and Messersmith PB. Untemplated resveratrol-mediated polydopamine nanocapsule formation. *ACS App. Mate. Inter.* 2018; 10 (40): 34792-801.

10. Esmaeili A and Niknam S. Characterization of nanocapsules containing *Elaeagnus angustifolia* L. extract prepared using an emulsion–diffusion process. *Flav. Frag. J.* 2013; 28 (5): 309-15.

11. Esmaeili A and Niknam S. 2014. Preparation of polyamide nanocapsules of *Elaeagnus angustifolia* L. delivery with in vivo studies. *Ind. Cro. Pro.* 2014; 55: 49-55.

12. Dusinska M, Mariussen E, Rundén-Pran E, Hudecova AM, Elje E, Kazimirova A, El Yamani N, Dommershausen N, Tharmann J, Fieblinger D, Herzberg F, Luch A and Haase A. In vitro approaches for assessing the genotoxicity of nanomaterials. *nanot.* 2019; protocol : 83-122. [DOI: 10.1007/978-1-4939-8916-4_6].

13. Alebouyeh F, Bidgoli SA, Ziarati P, Heshmati M and Qomi M. Mutagenicity assessment of drinking water in combination with flavored black tea bags: a cross sectional study in tehran. *As. Pac. J. Can. Prev.* 2015; 16 (17): 7479-84.

14. Speit G, Zeller J and Neuss S. The *in vivo* or ex vivo origin of micronuclei measured in human biomonitoring studies. *Muta.* 2011; 26 (1): 107-10.

15. Chen XY, Han JX, Liu YS, Hajiakber A and Yuan T. Chemical constituents from traditional Uighur herbal medicine elaeagnus angustifolia flowers. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi.* 2018; 9 (43): 1749-53.

16. Hosseinzadeh H, Ramezani M and Namjo N. Muscle relaxant activity of *Elaeagnus angustifolia* L. fruit seeds in mice. *J. Ethnopharmacol.* 2003; 84 (2 - 3): 275-8.

17. Dabbaghmanesh MH, Noorafshan A, Talezadeh P, Tanideh N, Koohpeyma F, Iraji A, Bakhshayeshkaram M and Montazeri-Najafabady N. Stereological investigation of the effect of *Elaeagnus angustifolia* fruit hydroalcoholic extract on osteoporosis in ovariectomized rats. *Avicenna J. Phytomed*. 2017; 7 (3): 261-74.

18. Amereh Z, Hatami N, Shirazi FH, Gholami S, Hosseini SH, Noubarani M, Kamalinejad M, Andalib S, Keyhanfar F and Eskandari MR. Cancer chemoprevention by oleaster (*Elaeagnus angustifoli* L.) fruit extract in a model of hepatocellular carcinoma induced by diethylnitrosamine in rats. *EXCLI J.* 2017; 16: 1046-56.

19. Okmen G, Turkcan O, Ceylan O and Gork G. The antimicrobial activity of liquidambar orientalis mill. against food pathogens and antioxidant capacity of leaf extracts. *Afr. J. Tradit. Complement Altern. Med*. 2004; 11 (5): 28-32.

20. Du H, Chen J, Tian S, Gu H, Li N, Sun Y, Ru J and Wang J. Extraction optimization, preliminary characterization and immunological activities *in vitro* of polysaccharides from *Elaeagnus angustifolia* L. pulp. *Carbohydr Polym*. 2016; 151: 348-57.

[Downloaded from jmp.ir on 2025-11-04]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2020.19.74.22.0]
[DOI: 10.29252/jmp.19.74.310]

21. Talaei-Khozani T, Vojdani Z, Dehghani F, Heidari E, Kharazinejad E and Panjehshahin MR. Toxic effects of Elaeagnus angustifolia fruit extract on chondrogenesis and osteogenesis in mouse limb buds. *Tokai J. Exp. Clin. Med*. 2011; 6 (3): 63-70.

22. Torbati M, Asnaashari S and Heshmati Afshar F. Essential oil from flowers and leaves of *Elaeagnus angustifolia* (Elaeagnaceae): composition, radical scavenging and general toxicity activities. *Adv. Pharm. Bull.* 6 (2): 163-9.

23. Luo T, Gao L, Chen X, Xu K and Niu M. Genotoxicity of nanocarriers. *Curr. Drug Metab.* 2018; 19 (2): 110-23.

24. George JM, Magogotya M, Vetten MA, Buys AV and Gulumian M. From the cover: an investigation of the genotoxicity and interference of gold nanoparticles in commonly used *in vitro* mutagenicity and genotoxicity assays. *Toxicol. Sci.* 2017; 156 (1): 149-66.

25. Dalcin AJF, Vizzotto BS, Bochi GV, Guarda NS, Nascimento K, Sagrillo MR, Moresco RN, Schuch AP, Ourique AF and Gomes P. Nanoencapsulation of the flavonoid dihydromyricetin protects against the genotoxicity and cytotoxicity induced by cationic nanocapsules. *Colloids Surf B Biointerfaces* 2019; 73: 798-805.

26. Okmen G and Turkcan O. A study on antimicrobial, antioxidant and antimutagenic activities of *Elaeagnus angustifolia* L. leaves. *Afr. J. Tradit. Complement. Altern. Med.* 2013; 11 (1): 16-20.

27. Heshmati M, ArbabiBidgoli S, Khoei S, Rezayat SM and Parivar K. Mutagenic effects of nanosilver consumer products: a new approach to physicochemical properties. *Iran. J. Pharm Res*. 2015; 14 (4): 1171-80.

How to cite this article: Zamani N, Heshmati M, Arbabi Bidgoli S. Genotoxicity assessment of *Elaeagnus angustifolia* L. fruit extract (senjed) nanocapsule by *in vitro* and *in vivo* methods. ***Journal of Medicinal Plants*** 2020; 19(74): 310-324.
doi: 10.29252/jmp.19.74.310

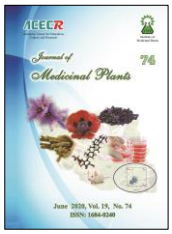
[Downloaded from jmp.ir on 2025-11-04]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2020.19.74.22.0]
[DOI: 10.29252/jmp.19.74.310]

J. Med. Plants 2020; 19(74): 310-324

Institute of Medicinal Plants

Journal of Medicinal Plants

Journal homepage: www.jmp.ir



Research Article

Genotoxicity assessment of *Elaeagnus angustifolia* L. fruit extract (senjed) nanocapsule by *in vitro* and *in vivo* methods

Negar Zamani[1], Masoomeh Heshmati[2], Sepideh Arbabi Bidgoli[3,*]

[1] *Faculty of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Islamic Azad University, Tehran Medical Sciences University (IAUTMU), Tehran, Iran*

[2] *Department of Cellular and Molecullar Sciences, Faculty of Sciences and Technology, Islamic Azad University, Tehran Medical Sciences University (IAUTMU), Tehran, Iran*

[3] *Department of Toxicology and Pharmacology, Faculty of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Islamic Azad University, Tehran Medical Sciences University (IAUTMU), Tehran, Iran*

ARTICLE INFO

Keywords:
Ames
Genotoxicity
Micronucleus
Nanocapsule of *Elaeagnus angustifolia* L.

ABSTRACT

Background: Although initial studies on *Elaeagnus Angustifolia* L. Fruit Extract (Senjed) Nanocapsule showed its efficacy in osteoporosis in rat model as well as its significant role in elevating the serum calcium levels, there is no study on its possible genotixic potentials which is necessary for developing all nanopharmaceuticals. **Objective:** This study aimed to evaluate the genotoxicity of Senjed nanocapsule using Ames and Micronucleus tests as two necessary steps for developing it as a new nanopharmaceutical. **Methods:** Salmonella typhimurium TA100 and TA98 strains were used for Mutagenicity and antimutagenicity assays by counting the number of colonies in the sample plates, negative and positive control plates. Micronucleus (MN) test was performed in male and female rats after oral administration of 1000 µg/kg/day of senjed nanocapsule and lymphocyte separation from the spleen of animals. **Results:** Observations from Ames test didn't indicate any mutagenic effect for this nanocapsule, moreover the anti-mutagenicity of the extract in both strains of salmonella typhimurium ($P<0.001$) showed a concentration dependent antimutagenic properties of this nanocapsule in the presence of sodium Azide but in vivo micronucleus test showed a significant increase in the number of MN, Nucleoplasmic Bridges (NPB) and Nuclear Bud formation (NBUD) compared to the control group in both genders ($P\leq0.001$). **Conclusion:** Based of the possible clinical values of this future nanopharmaceutical, it seems necessary to continue its in vivo genotoxicity assessments in lower doses after revising the composition of nanocarriers and before starting any clinical evaluation.

Abbreviations: TNF-α, Tumor Necrosis Factor α; MMP-1, Matrix Metalloproteinase 1; IL-10, Interlukin10; OECD, The Organization for Economic Co-operation and Development; DMSO; Dimethyl sulfoxide; SLS, Sodium Lauryl Sulfate; DETA, Diethylenetriamine; MCE, Mixed *Cellulose* Ester; RPMI, Roswell Park Memorial Institute Medium; FBS, Fetal Bovine Serum; PHA, Phytohaemagglutinin; MIC, Minimum Inhibitory Concentration; H2Ax, H2A Histone Family Member X; 8-OhdG, 8-OXO-1 Deoxyguanosine; SCE, Single Chromatid Exchange; NOAEL, No Observed Adverse Effect Level.

* Corresponding author: sepideharbabi@gmail.com, s.arbabi@iautmu.ac.ir

Received 27 February 2019; Received in revised form 28 May 2019; Accepted 29 May 2019
doi: 10.29252/jmp.19.74.310

© 2020. Open access. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)

[Downloaded from jmp.ir on 2025-11-04]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2020.19.74.22.0]
[DOI: 10.29252/jmp.19.74.310]