Original Article

Evaluation of antioxidant, antibacterial and anticancer effects of the Zinc oxide nanoparticles biosynthesized by *Amaranthus cruentus* L.

Behjati-Moghaddam M, Neamati A*, Yousefi-Rad H

Department of Biology, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, I.R. Iran.

Received: 2019/05/26 | Accepted: 2020/05/2

Abstract:

Background: Nanoparticles are effective in treating the cancer disease due to their antioxidant, Antibacterial and the ability to produce toxicity in the cancer cells. This study aimed to evaluation of cytotoxic, antioxidant and antibacterial effects of zinc oxide nanoparticles synthesized by *Amaranthus cruentus.*

Materials and Methods: This study was performed *in vitro.* The cytotoxic effects of biosynthesized ZnO nanoparticles were evaluated against the cancer cell line MDA-MB-231 and the normal cell line HUVEC by MTT assay. Also, antioxidant properties of these nanoparticles were evaluated by assays the DPPH and ABTS. Statistical analysis was performed by SPSS software and one way ANOVA. Antibacterial activity was also evaluated by the disc diffusion method on the gram-positive bacteria *Staphylococcus aureus* and gram-negative *Pseudomonas aeruginosa.*

Results: The result of MTT assay showed that IC_{50} was about 32µg/ml in 48 hours after treatment of the breast cancer cells by nanoparticles while the viability of the normal cell line was 94% in the similar concentration of nanoparticles. The results of the antioxidant test showed that nanoparticles at a concentration of 1000µg/ml were able to inhibit 50% of ABTS free radicals, but they exhibited a slight potential for DPPH free radicals inhibition. Also, they had an inhibitory effect on *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* growth.

Conclusion: The results showed that ZnO nanoparticles biosynthesized by *Amaranthus cruentus* can have antioxidant, antibacterial and anti- cancer activities.

Keywords: Zinc oxide، Nanoparticle, Antioxidant, Antibacterial, Anticancer, *Amaranthus cruentus.*

***Corresponding Author:**
Email: neamati.ali@gmail.com
Tel: 0098 915 504 6940
Fax: 0098 513 843 5050

Conflict of Interests: ***No***

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, June, 2020; Vol. 24, No 2, Pages 133-141

Please cite this article as: Behjati-Moghaddam M, Neamati A, Yousefi-Rad H. Evaluation of antioxidant, antibacterial and anticancer effects of the Zinc oxide nanoparticles biosynthesized by *Amaranthus cruentus* L. ***Feyz*** 2020; 24(2): 133-41.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-04]

بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی، آنتی باکتریایی و ضدّسرطانی نانوذرّات اکسید روی سنتزشده توسط گیاه تاج خروس *Amaranthus cruentus L.*

مهسا بهجتی‌مقدم [۱]، علی نعمتی [۲*]، حدیثه یوسفی‌راد [۳]

خلاصه:

سابقه و هدف: نانوذرّات به‌دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی، آنتی‌باکتریایی و توانایی ایجاد سمیت در سلول‌های سرطانی در درمان بیماری‌ها مؤثر هستند. هدف از این مطالعه، بررسی اثرات سمیت سلولی، آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌باکتریایی نانوذرّات اکسید روی سنتزشده توسط گیاه تاج خروس *Amaranthus cruentus L.* می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی که به‌صورت *in vitro* انجام شد، به منظور بررسی اثر سمیت نانوذرّات اکسید روی بر روی رده سلولی سرطان پستان MDA-MB-231 و نرمال HUVEC از آزمون MTT استفاده شد. خواص آنتی‌اکسیدانی این نانوذرّات نیز به کمک آزمون‌های ABTS و DPPH مورد سنجش قرار گرفت. خاصیت آنتی‌باکتریایی نیز به کمک روش دیسک دیفیوژن بر روی باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* و گرم منفی *سودوموناس آئروژینوزا* مشخص گردید. آنالیز آماری توسط نرم‌افزار SPSS و آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه انجام شد.

نتایج: نتیجه آزمون MTT، IC_{50} را در ۴۸ ساعت بعد از تیمار نانوذرّه برای سلول سرطان سینه، حدود ۳۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر نشان داد. در حالی‌که در غلظت مشابه برای رده سلولی نرمال، میزان زیستایی ۹۴ درصد بود. نتایج آزمون آنتی‌اکسیدانی نشان داد نانوذرّات در غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر قادر به مهار ۵۰ درصد از رادیکال‌های آزاد ABTS هستند؛ اما توانایی کمی در مهار رادیکال‌های آزاد DPPH دارند. همچنین این نانوذرّات دارای اثر مهاری بر روی رشد باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سودوموناس آئروژینوزا* بودند.

نتیجه‌گیری: نانوذرّات اکسید روی سنتزشده به روش سبز توسط گیاه *Amaranthus cruentus* دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی، آنتی‌باکتریایی و ضدّسرطانی است.

واژگان کلیدی: نانوذرّه، اکسید روی، آنتی‌اکسیدان، آنتی‌باکتریایی، ضدّسرطان، گیاه تاج خروس

دو ماه‌نامه علمی - پژوهشی فیض، دوره بیست و چهارم، شماره ۲، خرداد و تیر۱۳۹۹، صفحات ۱۴۱-۱۳۳

مقدمه

در طول چند سال گذشته مواد زیستی و نانوساختارهای اکسید روی به‌دلیل طیف گسترده‌ای از کاربردها، بسیار مورد استفاده بوده است [۱]. از جمله خواص نانوذرّات اکسید روی می‌توان به پایداری شیمیایی بالا، ثابت دی‌الکتریک پایین، فعالیت کاتالیزوری بالا، جذب نور مادون قرمز و فرا بنفش و خاصیت ضدّباکتری اشاره کرد که امکان حضور مؤثر این نانوذرّات را در کاتالیزورها، نیمه‌رساناها و مواد عایق اشعه امکان‌پذیر کرده است [۲].

همچنین در خصوص فعالیت‌های ضدّمیکروبی نانوذرّات اکسید روی نیز در سال‌های اخیر گزارشاتی ارائه شده است [۳]. نانوذرّات اکسید روی در درمان بیماری‌ها و سرطان‌های مختلف، از جمله سرطان سینه مورد استفاده قرار گرفته است. نانوذرّات اکسید روی جهت تولید آپتامرهای الیگونوکلئوتیدی به‌عنوان حامل‌های دارویی و در تصویربرداری مولکولی مورد استفاده قرار می‌گیرند [۴]. دانشمندان نشان داده‌اند که نانوذرّات اکسید روی با آزاد کردن Zn^{2+} سبب افزایش گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و در نتیجه مرگ سلول‌ها می‌شوند [۵]. امروزه متداول‌ترین راه درمان سرطان، شیمی‌درمانی است که علی‌رغم همه پیشرفت‌های صورت‌گرفته در این زمینه، می‌تواند سرطان‌های ثانویه را به همراه داشته باشد. بنابراین محققان به‌دنبال یافتن راه‌هایی کم‌عارضه و در عین‌حال مؤثرتر هستند [۶]. از میان روش‌های فیزیکی و شیمیایی با هزینه‌های بالا و استفاده از حلال‌های سمّی که باعث آلودگی‌های زیست‌محیطی می‌شوند [۸،۷]، احیای زیستی فلزات، روشی سازگار با محیط زیست و غیرسمّی است که می‌تواند برای تولید نانوذرّات فلزی به روش سبز مورد استفاده قرار گیرد [۹]. گیاه تاج خروس دارای رنگدانه بتاسیانین بوده، حاوی میزان زیادی آلفا توکوفرول و

۱. کارشناسی ارشد بیوشیمی، گروه زیست‌شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران

۲. دانشیار فیزیولوژی، گروه زیست‌شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران

۳. کارشناسی ارشد بیوشیمی، گروه زیست‌شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران

* **نشانی نویسنده مسؤول:**
دانشگاه آزاد اسلامی مشهد دانشکده علوم گروه زیست‌شناسی

تلفن: ۰۹۱۵۵۰۴۶۹۴۰ **دورنویس:** ۰۵۱۳۸۴۳۵۰۵۰

پست الکترونیک: neamati.ali@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۳/۵ **تاریخ پذیرش نهایی:** ۱۳۹۹/۲/۱۳

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-04]

عناصر معدنی مهم است [۱۰]. همچنین به‌دلیل وجود مقادیر فراوان آنتوسیانین‌ها، ویتامین‌ها و فلاونوئیدها، این گیاه قادر به خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد می‌باشد [۱۲،۱۱]. تمام این ترکیبات باعث احیای یون‌های فلزی و تبدیل آن‌ها به اتم‌های فلزی در ابعاد نانومتری می‌شوند که منجر به تولید مقادیر فراوانی نانوذرّه می‌گردد. موادی که مانع از تشکیل رادیکال‌های آزاد در سلول‌ها می‌شوند، آنتی‌اکسیدان نام دارند [۱۴،۱۳]. عدم حضور آنتی‌اکسیدان به میزان کافی باعث بر هم خوردن تعادل بین رادیکال‌های آزاد و گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن با آنتی‌اکسیدان می‌شود؛ در نتیجه رادیکال‌های آزاد به سلول‌های سالم آسیب رسانده، سبب ایجاد بیماری می‌گردد. آنتی‌اکسیدان‌ها نقش مهمّی در پیشگیری از سرطان دارند [۱۴]. هدف از این مطالعه تجربی که در سال ۱۳۹۶ و در دانشکده علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد انجام شد، بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی، آنتی‌باکتریایی و ضدّسرطانی نانوذرّات اکسید روی سنتزشده توسط گیاه تاج خروس بر رده سلولی سرطان سینه (MDA-MB-231) و نرمال اندوتلیال بند ناف جنینی (HUVEC) بود.

مواد و روش‌ها

کشت سلول و بررسی سمیت سلولی

در کلیه مراحل آزمایش، معیارهای اخلاقی پژوهش رعایت و کد اخلاق به شماره IR.IAU.MSHD.REC. 1397.073 از کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی مشهد اخذ شده است. برای انجام این مطالعه پژوهشی، رده سلولی سرطانی MDA-MB-231 و نرمال HUVEC از مرکز تحقیقات بوعلی مشهد تهیه شد. سلول‌های MDA-MB-231 در محیط کشت کامل ۱۰ درصد DMEM (Sigma, France) و سلول‌های HUVEC در محیط کشت کامل ۱۰ درصد RPMI (Sigma, France) حاوی ۱۰ml FBS (Gibco, USA) و ۱ml آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین – استرپتومایسین (Sigma, France) درون فلاسک‌های T25 مخصوص کشت سلولی کشت داده شدند و در انکوباتور CO_2 دار (دما ۳۷ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۸۰ درصد، فشار کربن دی‌اکسید ۵ درصد) نگهداری گردیدند. به‌منظور بررسی اثر سمیت نانوذرّات اکسید روی از تست MTT (Sigma, France) استفاده شد. در سلول‌های زنده، بلورهای ترازولیوم توسط آنزیم سوکسینات دهیدروژناز میتوکندریایی احیا و کریستال‌های فورمازان تشکیل می‌شوند. این کریستال‌های آبی‌رنگ تنها در حلال‌های آلی مثل ایزوپروپانول و DMSO (Merck, Germany) قابل حل شدن هستند که با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر، جذب نوری خوانده می‌شود و درصد سلول‌های زنده تعیین می‌گردد [۱۵]. در ابتدا برای هر رده سلولی، پلیت‌های ۹۶ خانه‌ای تهیه شد و به هر یک از چاهک‌های پلیت، ۵۰۰۰ سلول اضافه گردید. شمارش سلول‌ها با استفاده از رنگ تریپان بلو و لام نئوبار انجام شد. بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون و اطمینان از چسبندگی سلول‌ها به بستر پلیت، محیط تازه با غلظت‌های مختلف از نانوذرّه اکسید روی (۱۵/۶، ۳۱/۲، ۶۲/۵ و ۱۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر) به هر چاهک اضافه گردید. پس از ۴۸ ساعت انکوباسیون، به هریک از چاهک‌ها از محلول MTT اضافه شد. سپس پلیت‌ها به مدت ۴ ساعت در انکوباتور قرار داده شدند و بعد از تخلیه رنگ به آن‌ها ۱۰۰ میکرولیتر DMSO اضافه گردید. جذب در ۵۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه الایزا ریدر (Stat Fax 2100, Germany) خوانده شد و درصد زنده ماندن سلول‌ها در مقایسه با سلول‌های کنترلی که هیچ تیماری روی آن‌ها صورت نگرفته بود، محاسبه گردید. آزمایش به‌صورت سه بار تکرار برای هر غلظت از نانوذرّه انجام گرفت و در آخر نمودار نتایج حاصل از آزمون MTT ترسیم شد که با کمک آن IC_{50} (غلظتی از نانوذرّه اکسید روی سنتزشده توسط گیاه *Amaranthus cruentus* که سبب کشته شدن ۵۰ درصد سلول ها می‌گردد) برای نانوذرّه به‌دست آمد.

بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی نانوذرّات اکسید روی در حذف رادیکال‌های DPPH

آزمون DPPH (Merck, Germany) به منظور بررسی ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی ترکیبات مختلف استفاده می‌شود. DPPH در اتانول به فرم رادیکالی خود درمی‌آید که در طول موج ۵۱۷ نانومتر، بیشترین مقدار جذب را دارد. این رادیکال با ماده آنتی‌اکسیدان واکنش می‌دهد و حذف می‌گردد. بنابراین جذب آن در طول موج ۵۱۷ نانومتر کاهش می‌یابد و رنگ محلول از ارغوانی به زرد تغییر می‌کند. با توجه به این موضوع می‌توان قدرت آنتی‌اکسیدانی ماده موردنظر را بررسی کرد [۱۶]. برای تهیه محلول رادیکال DPPH، ۱ میلی‌گرم DPPH در ۱۶/۹ میلی‌لیتر اتانول حل شد. غلظت‌های مختلف (۵۰۰، ۲۵۰، ۱۲۵ و ۶۲/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر) از نانوذرّه تهیه و با نسبت مساوی از محلول DPPH مخلوط گردید. این محلول به‌مدت ۱۰ ثانیه با ورتکس کاملاً مخلوط شد و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق در تاریکی قرار گرفت. سپس جذب آن در ۵۱۷ نانومتر اندازه‌گیری شد. در این تست از بوتیل هیدروکسی آنیزول (BHA) (Merck, Germany) به‌عنوان کنترل مثبت و از آب مقطر به‌عنوان کنترل منفی در مقایسه با فعالیت نانوذرّه اکسید روی استفاده گردید. این

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-04]

آزمایش در سه نوبت انجام گرفت و برای محاسبه درصد مهار رادیکال DPPH از فرمول زیر استفاده شد.

درصد مهار رادیکال DPPH = $(A_{Control} - A_{Sample}/A_{Control}) \times 100$

$A_{Control}$: جذب محلول شاهد و A_{Sample}: جذب محلول نمونه

بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی نانوذرّات اکسید روی در حذف رادیکال‌های ABTS

ترکیب شیمیایی ABTS (Merck, Germany) به‌طور معمول جهت مشاهده واکنش‌های سینتیکی آنزیم‌های خاص، تشخیص اتصالات مولکولی و آنزیمی و تکنیک الایزا مورد استفاده قرار می‌گیرد. علاوه‌بر این می‌توان از این ترکیب جهت بررسی فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی ترکیبات مختلف نیز بهره جُست [۱۷]. اساس این روش بدین‌صورت است که در ابتدا بایستی رادیکال‌های ABTS تولید گردند و سپس در یک دوره‌ی زمانی، با افزودن نمونه‌ی حاوی نانوذرّه، کاهش جذب محلول ثبت شود. این آزمایش، براساس روش Li و همکاران انجام شد [۱۸]. برای تهیه‌ی محلول رادیکال ABTS، ۲ میلی‌لیتر ABTS ۷ میلی‌مولار و ۱ میلی‌لیتر پتاسیم پرسولفات ۲/۴۵ میلی‌مولار با یکدیگر مخلوط گردید و به مدت ۱۶ ساعت در تاریکی و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. پس از آن با افزودن آب تا رسیدن به جذب ۰/۷۵۶ در طول موج ۷۳۴ نانومتر رقیق شد. سپس محلول رقیق‌شده رادیکال ABTS به نسبت مساوی با محلول نانوذرّه اکسید روی تولیدشده در غلظت‌های (۱۰۰۰، ۵۰۰، ۲۵۰ و ۱۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر) مخلوط شد و پس از انکوباسیون به مدت ۱ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد، جذب محلول در طول موج ۷۳۴ نانومتر ارزیابی گردید. ترکیبی که به‌عنوان استاندارد مورد استفاده قرار گرفت، ترکیب گلوتاتیون احیا (GSH) (Merck, Germany) و محلول شاهد به‌جای نانوذرّه محتوی آب مقطر بود. این آزمایش در سه نوبت انجام شد و درصد فعالیت حذف رادیکال از رابطه‌ی زیر به‌دست آمد:

درصد مهار رادیکال ABTS = $(A_{Control} - A_{Sample/}A_{Control}) \times 100$

$A_{Control}$: جذب محلول شاهد و A_{Sample}: جذب محلول نمونه

نتایج حاصل به‌صورت IC_{50} (مقداری از آنتی‌اکسیدان که قادر است غلظت ABTS را به ۵۰ درصد غلظت اوّلیه برساند) گزارش شد.

اثرات آنتی‌باکتریایی نانوذرّه اکسید روی بر باکتری‌های *سودوموناس آئروژینوزا* و *استافیلوکوکوس اورئوس*

فعالیت ضدّمیکروبی نانوذرّات اکسید روی تولیدشده توسط عصاره آبی گیاه *Amaranthus cruentus L.* در برابر باکتری گرم منفی *سودوموناس آئروجینوزا* (*P. aeruginosa*) و باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* (*S.aureus*) با استفاده از روش انتشار دیسکی در محیط مولر هینتون آگار در سه تکرار مورد بررسی قرار گرفت. برای تهیه سوسپانسیون خالص از باکتری یک کلنی تک‌میکروبی برداشته، داخل لوله حاوی نوترینت براث استریل حل شد. کدورت محلول با کدورت سوسپانسیون نیم مک فارلند یکسان گردید. سوسپانسیون باکتریایی بر روی محیط مولرهینتون آگار، کشت یکنواخت داده شد و برای رشد به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. دیسک‌ها با غلظت ۲ میکروگرم بر میلی‌لیتراز نانوذرّه تهیه و با فاصله استاندارد بر روی سطح محیط کشت قرار داده شد. پلیت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد در شرایط هوازی به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفت. بعد از این مدت قطر هاله عدم رشد حاصل برحسب میلی‌متر با استفاده از خط‌کش اندازه‌گیری شد [۱۹]. جهت تأیید آزمایش‌های حساسیت آنتی‌بیوتیکی، از دیسک آنتی‌بیوتیکی جنتامایسین (به‌عنوان شاهد) استفاده گردید.

روش آنالیز آماری داده‌ها

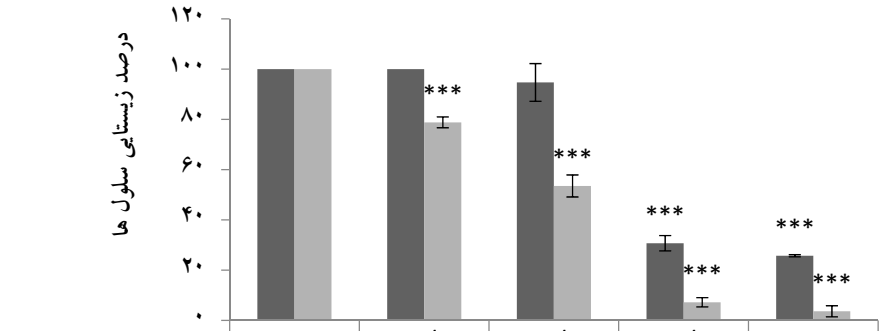
برای محاسبه درصد زیستایی سلول‌های HUVEC و MDA-MB-231 و فعالیت آنتی‌اکسیدانی نانوذرّات اکسید روی سنتزشده توسط گیاه *Amaranthus cruentus L* . و بررسی وجود اختلاف معنی‌دار در یافته‌ها، از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ و آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (one-way ANOVA) استفاده و سطح اطمینان ۰/۰۵ برای محاسبات در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج حاصل از آزمون MTT

یافته‌های حاصل از آزمون MTT بر رده‌های MDA-MB-231 و HUVEC نشان داد که زیستایی سلول‌ها بسته به غلظت نانوذرّات بوده است؛ به‌طوری‌که در ۴۸ ساعت پس از تیمار و در دوزهای بالای این نانوذرّه، درصد بقای سلول‌های سرطانی به شدت کاهش یافت. IC_{50} در ۴۸ ساعت برای سلول‌های سرطانی حدود ۳۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش شد؛ در حالی‌که سلول‌های نرمال نسبت به سلول‌های سرطانی درصد زیستایی بالاتری را نشان دادند. نتایج حاصل مشخص کرد که این نانوذرّات قادر هستند سلول‌های سرطانی را در مقایسه با سلول‌های نرمال با قدرت بیشتری مهار کنند (نمودار شماره ۱).

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-04]



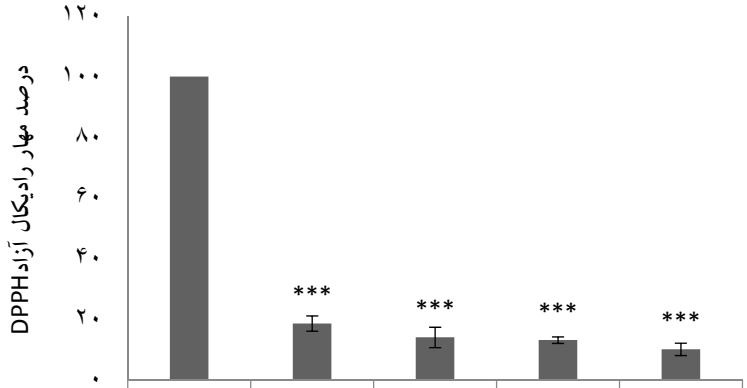
	0	15/6	31/5	62/5	125
48h-HUVEC	100	100	94/7	30/7	25/7
48h-MDA-MB231	100	78/8	53/5	7/2	3/6

غلظت نانوذره (میکروگرم بر میلی لیتر)

نمودار شماره ۱- مقایسه اثر غلظت‌های مختلف نانوذرّه اکسید روی سنتزشده به روش سبز توسط گیاه *Amaranthus Cruentus L.* در مدت‌زمان ۴۸ ساعت بر سلول‌های سرطانی MDA-MB-231 و نرمال HUVEC نسبت به گروه کنترل (غلظت صفر). (***: $P<۰/۰۰۱$)

نتایج حاصل از آزمون DPPH

شکل شماره ۲ فعالیت جذب رادیکال DPPH در غلظت‌های مختلف (۵۰۰، ۲۵۰، ۱۲۵ و ۶۲/۵ میکروگرم در میلی‌لیتر) از نانوذرّه اکسید روی سنتزشده توسط گیاه *Amaranthus cruentus L.* را در مقایسه با محلول BHA به‌عنوان کنترل مثبت نشان می‌دهد. با توجه به این نمودار، در غلظت ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از نانوذرّه اکسید روی تنها قادر به مهار ۱۸ درصد از رادیکال‌های آزاد DPPH نسبت به گروه کنترل بوده و توانایی کمی در مهار مولکول‌های آزاد DPPH از خود نشان داده است.



	BHA	500	250	125	62.5
DPPH	100	18/6	14/0333	13/1333	10/1

غلظت نانوذره (میکروگرم بر میلی لیتر)

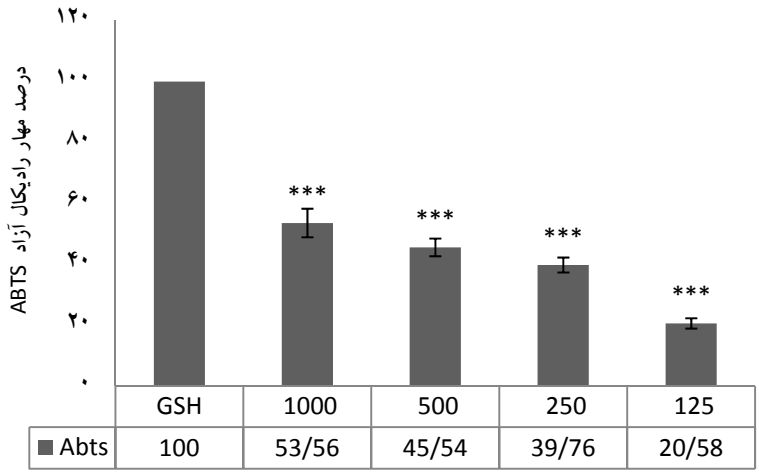
نمودار شماره ۲- درصد مهار رادیکال DPPH توسط غلظت‌های مختلف نانوذرّات اکسید روی سنتزشده توسط گیاه *Amaranthus cruentus* در مقایسه با BHA به‌عنوان کنترل. (***: $P<۰/۰۰۱$)

نتایج حاصل از آزمون ABTS

نتایج میزان مهار رادیکال آزاد ABTS در غلظت‌های مختلف (۱۰۰۰، ۵۰۰، ۲۵۰ و ۱۲۵ میکروگرم در میلی‌لیتر) از نانوذرّات اکسید روی سنتزشده در مقایسه با محلول GSH به‌عنوان کنترل مثبت در شکل شماره ۳ نشان داده شده است. در طی این آزمون IC_{50} حدود ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش شد که نشان‌دهنده مهار ۵۰ درصد رادیکال‌های آزاد ABTS در این غلظت است. با مقایسه نتایج به‌دست‌آمده از درصد مهار رادیکال‌های آزاد ABTS و DPPH توسط نانوذرّات اکسید

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-04]

روی، مشخص گردید این نانوذرّات در مهار رادیکال‌های آزاد ABTS موفق‌تر عمل می‌کنند.



نمودار شماره ۳- درصد مهار رادیکال آزاد ABTS توسط غلظت‌های مختلف نانوذرّات اکسید روی سنتزشده توسط گیاه *Amaranthus cruentus*. در مقایسه با GSH به‌عنوان کنترل. (***: $P<۰/۰۰۱$)

نتایج حاصل از آزمون آنتی‌باکتریایی

نتایج حاصل از بررسی آزمون ضدّباکتریایی به روش دیسک دیفیوژن نشان داد که نانوذرّات اکسید روی سنتزشده بر روی باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* و گرم منفی *سودوموناس آئروژینوزا* دارای اثر مهاری است؛ به‌گونه‌ای که قطر هاله عدم رشد برای باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* ۱۲ میلی‌متر و برای باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* ۱۰ میلی‌متر گزارش شد.

جدول شماره ۱- میزان اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد برای نمونه شاهد و نانوذرّات اکسید روی سنتزشده توسط گیاه *Amaranthus cruentus L*

	باکتری	هاله عدم رشد (میلی‌متر)
شاهد (آنتی‌بیوتیکی جنتامایسین)	*Pseudomonas aeruginosa (ATCC 1047)*	۲۱
	Staphylococcus aureus (ATCC 1112)	۲۶
نمونه (نانوذرّه)	*Pseudomonas aeruginosa (ATCC 1047)*	۱۰
	Staphylococcus aureus (ATCC 1112)	۱۲

بحث

در سال‌های اخیر و با پیشرفت نانوتکنولوژی، استفاده از ظرفیت‌های زیستی، شرایط را برای ساخت انواع نانوذرّات با کارایی بهتر و در حجم بیشتر مهیا کرده است. در تحقیق‌های فراوانی که بر روی نانوذرّات گوناگون از جمله نانوذرّات اکسید روی صورت گرفته است، تأثیرات آنتی‌اکسیدانی، ضدّانگلی، ضدّقارچی، ضدّباکتریایی و سیتوتوکسیسیته این نانوذرّات بررسی شده است. در این مطالعه به منظور بررسی سمیت سلولی القاشده توسط نانوذرّات اکسید روی سنتزشده به روش سبز توسط گیاه *Amaranthus Cruentus* بر روی رده سلولی سرطانی MDA-MB-231 و نرمال HUVEC با استفاده از آزمون MTT انجام شد و IC_{50} در ۴۸ ساعت بعد از تیمار برای سلول سرطان سینه حدود ۳۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش گردید. در حالی‌که در غلظت مشابه برای رده سلولی نرمال میزان زیستایی ۹۴ درصد بود که نشان‌دهنده مهار مؤثر سلول‌های سرطانی توسط نانوذرّات اکسید روی سنتزشده است. در مطالعه‌ای مشابه نانوذرّات اکسید روی به روش سبز از عصاره گیاه *Tradescantia pallida* تولید شد و اثر سمیت آن بر روی رده سلولی HeLa مورد مطالعه قرار گرفت. نانوذرّات در غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر باعث از بین رفتن ۹۸/۹ درصد سلول‌ها شدند و میزان IC_{50} پس از گذشت ۴۸ ساعت ۶۲/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش شد [۲۰]. در مطالعه‌ای دیگر سمیت سلولی ناشی از نانوذرّات اکسید روی سنتزشده به روش شیمیایی در غلظت‌های ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر در سلول‌های اپیتلیال آدنوکارسینوما

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-04]

کلورکتال (Caco-2) از طریق آزمون MTT در ۱۲، ۲۴ و ۳۶ ساعت اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد غلظت‌های بالای نانوذرّات و زمان بیشتر انکوباسیون، سمیت سلولی بیشتری را ایجاد می‌کند [۲۱]. در یک تحقیق نانوذرّات اکسید روی در اندازه بین ۹۰ تا ۲۰۰ نانومتر با روش تەنشینی بخار - جامد سنتز شدند و برای بررسی بقای سلول‌های نوروبلاست (SH-sy5y) تیمارشده با نانوذرّات اکسید روی در غلظت‌های مختلف از روش MTT استفاده شد. نتایج حاکی از آن بود که در سلول‌های SH-sy5y بیشترین سمیت سلولی در غلظت ۲۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر یعنی بالاترین غلظت نانوذرّه مشاهده شد. این تحقیق نشان داد که نانوذرّات اکسید روی باعث القای مرگ سلولی در سلول‌های سرطانی می‌شوند [۲۲]. در مطالعه‌ی دیگری اثر نانوذرّات اکسید روی بر سلول‌های سرطانی کبد انسان ($HepG_2$) و سرطان پستان (MCF-7) مورد بررسی قرار گرفت. نانوذرّات اکسید روی با اندازه‌های حدود ۲±۱۳ نانومتر از طریق شیمیایی غیرپروتونه با استفاده از زینک استات دی‌هیدراته و P-Xylene سنتز شد. نتایج آزمون MTT در ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از تیمار با غلظت‌های مختلف (۱۰، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) از نانوذرّات، کاهش بقا را در هر دو نوع سلول به‌صورت وابسته به غلظت نشان داد. همچنین در سلول‌های HepG2 به کمک تکنیک Real time PCR نشان داده شد که سطوح mRNA ژن سرکوب‌کننده تومور p53 ۱/۹ فولد بیشتر شده، بیان mRNA ژن پیش‌برنده آپوپتوز Bax افزایش می‌یابد. علاوه‌بر این بیان ژن ضدّآپوپتوزی Bcl-2 کاهش داشته و سطح mRNA کاسپاز-۳ ۱/۸ فولد نسبت به سلول‌های کنترل افزایش یافته است [۲۳]. در تحقیقی مشابه سمیت القاشده توسط نانوذرّات اکسید روی سنتزشده با استفاده از عصاره آبی جلبک دریایی قهوه‌ای *Sargassum muticum* بر روی سلول‌های سرطانی موش بررسی شد. تیمار سلول‌های سرطانی با نانوذرّات اکسید روی به مدت ۷۲ ساعت و محاسبه IC_{50}، درجات مختلفی از سمیت سلولی را نشان داد. نتایج IC_{50} روش MTT به شرح زیر است: ۷/۳±۲۱/۱ میکروگرم/میلی‌لیتر (4T1)، ۱/۱±۱۷/۴۵ میکروگرم/میلی‌لیتر (CRL-1451)، ۰/۸±۱۱/۷۵ میکروگرم/میلی‌لیتر (CT-26) و ۶/۵۵±۵/۰ میکروگرم/میلی‌لیتر (WEHI-3B). از طرف دیگر، نانوذرّات اکسید روی علیه رده سلولی نرمال فیبروبلاست موش (3T3) سمیتی اعمال نکردند. در این تحقیق تغییرات مورفولوژیک سلول‌ها نیز با کمک رنگ‌های فلورسنت بررسی گردید و نتایج حاصل از فلوسایتومتری نشان داد جمعیت سلول‌هایی که دچار آپوپتوز شده‌اند، افزایش یافته است [۲۴]. مقایسه تمامی مطالعات بالا و مطالعه حاضر ویژگی سمیت سلولی نانوذرّات اکسید روی سنتزشده به روش‌های مختلف شیمیایی و زیستی را در انواع سلول‌های سرطانی نشان می‌دهد. در اکثر مطالعات انجام‌شده برای بررسی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی از روش‌های ABTS و DPPH استفاده شده است. هر دوی این روش‌ها براساس انتقال الکترون و کاهش رادیکال آزاد می‌باشند که با تغییر رنگ اندازه‌گیری می‌شوند [۲۵]. در این مطالعه نیز توانایی نانوذرّات اکسید روی در مهار و حذف رادیکال‌های آزاد ABTS و DPPH مورد سنجش قرار گرفت. نتایج به‌دست‌آمده نشان داد که این نانوذرّات در غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر قادر به مهار ۵۰ درصد از رادیکال‌های آزاد ABTS نسبت به ترکیب GSH با غلظت مشابه هستند. این نانوذرّات توانایی کمی در مهار مولکول‌های آزاد DPPH از خود نشان دادند؛ به‌طوری‌که در غلظت ۵۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر از نانوذرّات اکسید روی، ۱۸ درصد از رادیکال‌های آزاد DPPH نسبت به گروه کنترل مهار شدند. در مطالعه‌ای نانوذرّات اکسید روی با سایز تقریبی بین ۵ تا ۱۵ نانومتر از عصاره برگ گیاه *Cassia fistula L.* سنتز شد و بررسی فعالت آنتی‌اکسیدانی این نانوذرّات نشان داد که در غلظت ۵۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر قادر به مهار ۵۰ درصد رادیکال‌های آزاد DPPH هستند [۲۶]. در تحقیقی که به بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی نانوذرّات اکسید روی تولیدشده با استفاده از عصاره ریشه گیاه *Polygala tenuifolia* پرداخته بود، به کمک آزمون DPPH نشان داد که نانوذرّات اکسید روی دارای قدرت مهار ۴۷ درصد DPPH در غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر هستند [۲۷]. در تحقیقی مشابه فعالیت آنتی‌اکسیدانی نانوذرّات اکسید روی استخراج‌شده از میوه گریپ‌فروت *Citrus paradise* در اندازه ۷۲-۱۲ نانومتر، به کمک آزمون DPPH نشان داد که درصد مهار رادیکالی در غلظت‌های ۰/۳ تا ۱/۵ میلی‌مولار با افزایش غلظت نانوذرّات افزایش یافته است؛ به‌طوری‌که در ۱/۵ میلی‌مولار ۸۰ درصد از رادیکال‌های DPPH مهار شدند [۲۸]. یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که با افزایش غلظت نانوذرّات اکسید روی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی روند افزایشی داشته است. در همین راستا مطالعات ذکرشده نیز تأثیرات مشابهی از عملکرد نانوذرّات تولیدشده به روش سبز با استفاده از عصاره‌های گیاهی را نشان می‌دهند. به‌دلیل سوءمصرف داروهای آنتی‌بیوتیکی، معضل مقاومت دارویی پدید آمده است که نانوتکنولوژی در تلاش است تا با معرفی نانوذرّات ضدّمیکروبی جدید گامی در حلّ این مشکل بردارد [۲۹]. در مطالعه حاضر بررسی آزمون آنتی‌باکتریایی به روش دیسک دیفیوژن نشان داد که نانوذرّه اکسید روی سنتزشده بر روی باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* و گرم منفی

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-04]

سودوموناس آئروژینوزا دارای اثر مهاری است و قطر هاله عدم رشد برای باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* ۱۲ میلی‌متر و برای باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* ۱۰ میلی‌متر گزارش شد. در تحقیقی توانایی ضدّباکتریایی نانوذرّات اکسید روی، در مقایسه با پودر اکسید روی معمولی مورد بررسی قرار گرفت. *سالمونلا تایفی موریوم* و *استافیلوکوکوس اورئوس* در معرض نانوذرّات و پودر اکسید روی قرار داده شدند. تصاویر میکروسکوپ الکترونی از باکتری‌های تحت تیمار با نانوذرّات اکسید روی نشان داد که اثر مخرّب این نانوذرّات در *استافیلوکوکوس اورئوس* بسیار شدید بود؛ به‌طوری‌که تمام سلول‌های تیمارشده پس از ۴ ساعت به‌طور کامل از بین رفتند یا لیز شدند [۳۰]. در مطالعه‌ای مشابه اثرات ضدّباکتریایی نانوذرّات اکسید روی تولیدشده از چای سبز به روش دیسک دیفیوژن مورد بررسی قرار گرفت. فعالیت ضدّمیکروبی نانوذرّات در باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* و باکتری‌های گرم منفی *اشرشیاکلی*، *سودوموناس آئروژینوزا* و *کلبسیلا پنومونیه* مورد سنجش قرار گرفت. نتایج، حاکی از اثرات مهاری چشمگیر نانوذرّات اکسید روی بر باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی مورد مطالعه بود [۳۱]. نتایج حاصل از این تحقیق همانند مطالعات ذکرشده توانایی نانوذرّات اکسید روی را در مهار باکتری‌ها نشان داد. به‌طور کلی نتایج این تحقیق نشان داد نانوذرّات اکسید روی سنتزشده به روش سبز از گیاه *Amaranthus cruentus* دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی، آنتی‌باکتریایی و ضدّسرطانی بوده، می‌تواند پس از مطالعات تکمیلی در مورد کاربردهای آن در زیست‌پزشکی، به‌عنوان گزینه‌ای در درمان سرطان و بسیاری از بیماری‌های ناشی از استرس اکسیداتیو مورد استفاده قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

این مقاله مستخرج از پایان‌نامه دوره کارشناسی ارشد خانم مهسا بهجتی‌مقدم می‌باشد. بدین‌وسیله نویسندگان مقاله از کارکنان گروه زیست‌شناسی دانشگاه آزاد اسلامی مشهد کمال تشکر و قدردانی را دارند.

References:

[1] Anbuvannan M, Ramesh M, Manikandan E, Srinivasan R. Vitex negundo leaf extract mediated synthesis of ZnO nanoplates and its antibacterial and photocatalytic activities. ***AJNM*** 2019; 2(1, pp. 1-119.): 99-110.

[2] Hong R, Li J, Chen L, Liu D, Li H, Zheng Y, et al. Synthesis, surface modification and photocatalytic property of ZnO nanoparticles. ***Powder Technol*** 2009; 189(3): 426-32.

[3] Yadav A, Prasad V, Kathe A, Raj S, Yadav D, Sundaramoorthy C, et al. Functional finishing in cotton fabrics using zinc oxide nanoparticles. ***B MATER SCI*** 2006; 29(6): 641-5.

[4] Salehzadeh M, Norouzian P, Abbasalipourkabir R. The use of nanoparticles in diagnosis and treatment of breast cancer: A review. ***PSJ*** 2015; 13(2): 1-12. [in Persian]

[5] Badkoobeh P, Parivar K, Kalantar SM, Hosseini SD, Salabat A. Effect of nano-zinc oxide on doxorubicin-induced oxidative stress and sperm disorders in adult male Wistar rats. ***IJRM*** 2013; 11(5) :355. [in Persian]

[6] Cepeda V, Fuertes MA, Castilla J, Alonso C, Quevedo C, Pérez JM. Biochemical mechanisms of cisplatin cytotoxicity. ***Anti-Cancer Agent ME*** (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents). 2007; 7(1): 3-18.

[7] Korbekandi H, Iravani S, Abbasi S. Production of nanoparticles using organisms. ***Crit Rev Biotechnol*** 2009; 29(4): 279-306. [in Persian]

[8] Chandran SP, Chaudhary M, Pasricha R, Ahmad A, Sastry M. Synthesis of gold nanotriangles and silver nanoparticles using Alo evera plant extract. ***Biotechnol Progr*** 2006; 22(2): 577-83.

[9] Soni N, Prakash S. Fungal-mediated nano silver: an effective adulticide against mosquito. ***Parasitol Res***. 2012; 111(5): 2091-8.

[10] Mburu M, Gikonyo N, Kenji G, Mwasaru A. Nutritional and functional properties of a complementary food based on Kenyan amaranth grain (*Amaranthus cruentus*). ***Ajfand*** 2012; 12(2): 5959-77.

[11] Gorinstein S, Vargas OJM, Jaramillo NO, Salas IA, Ayala ALM, Arancibia-Avila P, et al. The total polyphenols and the antioxidant potentials of some selected cereals and pseudocereals. ***Eur Food Res Technol*** 2007; 225(3-4): 321-8.

[12] Paśko P, Bartoń H, Fołta M, Gwiżdż J. Evaluation of antioxidant activity of amaranth (*Amaranthus cruentus*) grain and by-products (flour, popping, cereal). ***Rocz Panstw Zakl Hig*** 2007; 58: 35-40.

[13] Rao C, Kulkarni G, Thomas PJ, Edwards PP. Size dependent chemistry: properties of nanocrystals. ***Chem-Eur J*** 2002; 8(1): 28-35.

[14] Kizhakekuttu TJ, Widlansky ME. Natural antioxidants and hypertension: promise and challenges. ***Cardiovasc Ther*** 2010; 28(4): e20-e32.

[15] Ho WY, Yeap SK, Ho CL, Rahim RA, Alitheen NB. Development of multicellular tumor spheroid (MCTS) culture from breast cancer cell and a high throughput screening method using the MTT assay. ***PloS One*** 2012; 7(9): e44640.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-04]

[16] Shin S, Song I, Um S. Role of physicochemical properties in nanoparticle toxicity. ***Nanomaterials*** 2015; 5(3): 135-65.1
[17] Bourbonnais R, Leech D, Paice MG. Electrochemical analysis of the interactions of laccase mediators with lignin model compounds. Biochimica et Biophysica Acta ***Bba-Gen Subjects*** 1998; 1379(3): 381-90.
[18] Li P, Huo L, Su W, Lu R, Deng C, Liu L, et al. Free radical-scavenging capacity, antioxidant activity and phenolic content of *Pouzolzia zeylanica*. ***J Serb Chem Soc*** 2011; 76(5): 709-17.
[19] Pfaller M, Diekema D. Progress in antifungal susceptibility testing of Candida spp. by use of Clinical and Laboratory Standards Institute broth microdilution methods, 2010 to 2012. ***J Clin Microbiol*** 2012; 50(9): 2846-56.
[20] Li Cy, Zhang ZC, Mao JY, Shi LF, Zheng Y, Quan JL. Preparation of Tradescantia pallida-mediated zinc oxide nanoparticles and their activity against cervical cancer cell lines. ***Trop J Pharm Res*** 2017; 16(3): 494-500.
[21] Kang T, Guan R, Chen X, Song Y, Jiang H, Zhao J. In vitro toxicity of different-sized ZnO nanoparticles in Caco-2 cells. ***Nanoscale Res Lett*** 2013; 8(1): 496.
[22] Taccola L, Raffa V, Riggio C, Vittorio O, Iorio MC, Vanacore R, et al. Zinc oxide nanoparticles as selective killers of proliferating cells. ***INT J Nanomed*** 2011; 6: 1129.
[23] Wahab R, Siddiqui MA, Saquib Q, Dwivedi S, Ahmad J, Musarrat J, et al. ZnO nanoparticles induced oxidative stress and apoptosis in HepG2 and MCF-7 cancer cells and their antibacterial activity. ***Colloid Surface B*** 2014; 117: 267-76.
[24] Namvar F, Rahman HS, Mohamad R, Azizi S, Tahir PM, Chartrand MS, et al. Cytotoxic effects of biosynthesized zinc oxide nanoparticles on murine cell lines. ***Evid-Based Compl ALT*** 2015; 2015 [in Persian]
[25] Wootton-Beard PC, Moran A, Ryan L. Stability of the total antioxidant capacity and total polyphenol content of 23 commercially available vegetable juices before and after in vitro digestion measured by FRAP, DPPH, ABTS and Folin–Ciocalteu methods. ***Food Res Int*** 2011; 44(1): 217-24.
[26] Suresh D, Nethravathi P, Rajanaika H, Nagabhushana H, Sharma S. Green synthesis of multifunctional zinc oxide (ZnO) nanoparticles using Cassia fistula plant extract and their photodegradative, antioxidant and antibacterial activities. ***MAT SCI Semicon Proc*** 2015; 31: 446-54.
[27] Nagajyothi P, Cha SJ, Yang IJ, Sreekanth T, Kim KJ, Shin HM. Antioxidant and anti-inflammatory activities of zinc oxide nanoparticles synthesized using *Polygala tenuifolia* root extract. ***J Photoch Photobio B***. 2015; 146: 10-7.
[28] Kumar B, Smita K, Cumbal L, Debut A. Green approach for fabrication and applications of zinc oxide nanoparticles. ***Bioinorg Chem Appl*** 2014; 2014.
[29] Chaloupka K, Malam Y, Seifalian AM. Nanosilver as a new generation of nanoproduct in biomedical applications. ***Trends Biotechnol*** 2010; 28(11): 580-8.
[30] Tayel AA, Eltras WF, Moussa S, ELBAZ AF, Mahrous H, Salem MF, et al. Antibacterial action of zinc oxide nanoparticles against foodborne pathogens. ***J Food Safety*** 2011; 31(2): 211-8.
[31] Senthilkumar S, Sivakumar T. Green tea (*Camellia sinensis*) mediated synthesis of zinc oxide (ZnO) nanoparticles and studies on their antimicrobial activities. ***Int J Pharm Pharm Sci*** 2014; 6(6): 461-5.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-04]