# بررسی خصوصیات آنتی اکسیدانی نانو ذره اکسید روی سنتز شده به روش سبز و تغییرات بیان ژن کاتالاز در سلول های سرطان کبدی انسان(HepG2)

سیده فرزانه خلیق *[1]، فریده نامور[2]، محمود وصال[1]

1) گروه بیوشیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شیراز، شیراز، ایران

2) مرکز تحقیقات بیولوژی کاربردی تکوین جانوری، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد مشهد، مشهد، ایران

تاریخ دریافت: ۹٤/٤/۲۹ تاریخ پذیرش: ۹٤/۸/۳

**چکیده**

***مقدمه:*** استرس اکسیداتیو مشکل عمده جامعه بشری و سرچشمه پیدایش بیماری های گوناگون از جمله آب مروارید و سرطان است. رادیکال های آزاد اتم یا مولکول هایی هستند که به خاطر وجود الکترون تک در بدن موجودات بسیار واکنش پذیرند و می توانند به طور برگشت ناپذیر به مولکول های حیاتی آسیب برسانند. آنتی اکسیدان ها قادرند سیستم های بیولوژیک را در برابر این عوامل محافظت کنند. نانو ذرات اکسید روی دارای اثرات ضد میکروبی، ضد سرطانی و آنتی اکسیدانی است. هدف از این مطالعه بررسی اثرات آنتی اکسیدانی نانو ذره اکسید روی سنتز شده به روش سبز و تغییرات بیان ژن کاتالاز در سلول های سرطان کبدی انسانی(HepG2) در پاسخ به غلظت های مختلف نانو ذره مورد نظر است.

***مواد و روش ها:*** فعالیت آنتی اکسیدانتی نانو ذره اکسید روی سنتز شده به روش سبز با روش جذب رادیکال ABTS (۲،۲-آزینو بیس(۳-اتیل بنزوتیازولین-۶- سلفونیک اسید) سنجش شد. هم چنین سلول های سرطان کبدی انسان(HepG2) کشت داده شد و با غلظت های مختلف نانو ذره اکسید روی تیمار شد. پس از استخراج RNA و سنتز cDNA، Real time PCR انجام شد و تغییرات بیان ژن کاتالاز ارزیابی شد.

***یافته های پژوهش:*** نانو ذره اکسید روی سنتز شده به روش سبز دارای فعالیت مهارکنندگی رادیکال( µg ABTS $IC_{50}$=1200) است. هم چنین با افزایش غلظت نانو ذره اکسید روی سنتز شده به روش سبز بیان ژن کاتالاز در مقایسه با ژن کنترل GAPDH افزایش یافت.

***بحث و نتیجه گیری:*** نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که نانو ذره اکسید روی سنتز شده به روش سبز دارای فعالیت آنتی اکسیدانتی قوی است.

**واژه های کلیدی:** نانو ذره اکسید روی، فعالیت آنتی اکسیدانتی، روش سبز، ژن کاتالاز

*نویسنده مسئول:گروه بیوشیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شیراز، شیراز، ایران

*Email: Farzaneh.khaliq@gmail.com*



[ Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-11 ]

[ DOI: 10.18869/acadpub.sjimu.24.4.71 ]

## مقدمه

رادیکال های آزاد اتم ها یا مولکول هایی با الکترون جفت نشده هستند که قادرند به طور برگشت ناپذیر به مولکول های سیستم بیولوژیک نظیر DNA، پروتئین ها، کربوهیدرات ها آسیب وارد نمایند. خوشبختانه در طی دوران تکامل سیستم های بیولوژیک طبیعت با طراحی و ساخت آنتی اکسیدان ها جانداران را در مقابل اثرات بالقوه زیانبار رادیکال های آزاد محافظت نموده است(۱،۲). در افراد سالم بین میزان تولید رادیکال های آزاد و دفاع آنتی اکسیدان بدن تعادل مناسبی وجود دارد. بروز اختلال در این تعادل سبب ایجاد استرس اکسیداتیو شده و این مسئله تضعیف سیستم آنتی اکسیدانی و افزایش تولید رادیکال های آزاد را در پی دارد(۱). آنتی اکسیدان ماده ای است که بتواند از آسیب اکسیداتیو به مولکول هدف جلوگیری کند یا آن را به تاخیر بیاندازد. سیستم های دفاع آنتی اکسیدانی آنزیمی شامل آنزیم هایی هم چون سوپراکسید دیسموتاز(SOD)، گلوتاتیون پراکسیداز ($GP_X$) و کاتالاز(CAT) می باشند. سیستم دفاع آنتی اکسیدانی غیرآنزیمی شامل ویتامین ای(آلفا توکوفرول)، کارتنویدها، اسید اوریک و بیلی روبین می باشند(۲). بنا بر این سیستم دفاعی آندوژن، بدن را در مقابل رادیکال های فعال حفظ می کند. کاتالاز یک آنزیم یوبی کوئیتین است که در همه موجودات شناخته شده وجود دارد. در سلول های یوکاریوتی این آنزیم در پراکسیزوم ها وجود دارد(۳). این آنزیم در پاسخ به فعالیت کاتالیتیکی خود(دو $H_2O_2$ به دو $H_2O$ و $O_2$ تبدیل می شود) در جایگاه فعال خود دارای هم است و در پاسخ به شرایط استرس اکسیداتیو نیز القا می شود(۴). سیمون و همکاران نشان دادند کاتالاز اما نه سوپراکسید دیسموتاز(SOD) یا گلوتاتیون پراکسیداز ($GP_X$) قادر به حفاظت فیبروبلاست های انسانی در مقابل رادیکال های آزاد تولید شده توسط سیستم استالدهید-گزانتین اکسیداز است(۵). نتایج چند تحقیق نشان داده است که استرس اکسیداتیو در پاتوژنز بسیاری از بیماری ها از جمله آترواسکروز، فشار خون، ایسکمی قلبی، دیابت و سرطان دخالت دارد(۱۳-۶). نانوتکنولوژی شاخه جدیدی از علم می باشد، که کاربردهای وسیعی داشته و نانو ذرات تولید شده با ترکیبات و اندازه ها، شکل و خصوصیات شیمیایی سطحی مختلف می توانند کاربردهای بیولوژیکی و زیست پزشکی مختلفی داشته باشند(۱۴،۱۵). یکی از مهم ترین نانو ذرات، اکسید روی(ZnO) است که کاربرد بسیاری دارد(۱۶). نانو ذره اکسید روی با توجه به مطالعات حاکی از اثرات ضد سرطانی(۱۷)، ضد میکروبی(۱۸) و فعالیت های آنتی اکسیدانی(۱۹) مورد توجه قرار گرفته است. در این میان، نانو ذرات اکسید روی به خاطر خصوصیات منحصر به فرد نوری، کاتالیتیکی، نیمه هادی به طور گسترده تولید و از نظر تکنولوژی کاربرد دارند(۲۰). در مطالعه ای که توسط خانی و همکاران صورت گرفت نشان داده شد که این نانو ذره قادر است رشد باکتری های بیماری زا از جمله شیگلا، اشریشیاکلی و استافیلوکوکوس را مهار کند(۲۱). استیون و همکاران با مطالعه روی کاندیدا آلبیکنس نتیجه گرفتند که روش فتوکاتالیتیک اکسید روی روش سودمندی برای مهار قارچ ها می باشد(۲۲). هم چنین این نانو ذره در برخی موارد سبب اثرات حفاظتی شده و قادر است میزان سمیت برخی ترکیبات را کاهش دهد از این ویژگی نیز در تحقیقات مختلف به منظور کاهش اثر سمیت برخی ترکیبات دارویی استفاده شده است. برای مثال در طی مطالعه ای اثر هم زمان اکسید روی و دوکسوروبیسین مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد که این ترکیب قادر است سبب کاهش سمیت تولید مثلی دوکسوروبیسین گردد(۲۳). در سال های اخیر سنتز سبز نانو ذرات فلزی به یک موضوع مورد علاقه در علم نانو تبدیل شده است. توجه به سزایی برای بیوسنتز نانو ذرات فلزی با استفاده از ارگانیسم ها وجود دارد. در میان این ارگانیسم ها گیاهان مورد توجه قرار گرفته است زیرا نانو ذراتی که بدین طریق سنتز می شوند پایدار هستند و میزان گسترده ای از آن ها سنتز می گرد(۲۴،۲۵). در طی سنتز سبز نانو ذرات، واکنش ردوکس در محلول های نمکی رخ می دهد به صورتی که عصاره های ارگانیسم های مختلف شامل مواد احیاء کننده هستند که الکترون ها را به یون های فلزی انتقال داده و در نهایت نانو ذرات فلزی تولید می شوند(۲۶،۲۷). برای



[ Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-11 ]

[ DOI: 10.18869/acadpub.sjimu.24.4.71 ]

تولید نانو ذرات اکسید روی روش های فیزیک و شیمیایی متنوعی وجود دارد(۲۸). باید توجه داشت که نانو ذراتی که با استفاده از روش های فیزیکی و شیمیایی سنتز می شوند دارای محدودیت هایی می باشند از جمله آن که استفاده از حلال های سمی در ساخت این ترکیبات سبب تغییر در پایداری و اندازه آن ها شده و بنا بر این استفاد از میکروارگانیسم ها به منظور از بین بردن و یا کاهش این اثرات حائز اهمیت می باشد(۲۹). سیستم های زیستی از قبیل گیاهان، جلبک، کپک های رشته ای، مخمر ها و باکتری ها قادر به تولید نانو ذرات هستند که در این میان قارچ های رشته ای به علت وجود مقادیر در خور توجهی از آنزیم ها و پروتئین های ترشحی، سهولت کار با آن ها در آزمایشگاه و شاید از همه مهم تر پردازش پایین دستی ساده از جذابیت بالاتری برخوردار هستند(۳۰). اخیراً قارچ ها در نانو تکنولوژی برای تولید نانو ذرات مورد استفاده قرار گرفته است. سنتز با استفاده از قارچ نشان داده است که این منبع تجدید شدنی و سازگار با محیط زیست می تواند به عنوان یک عامل احیاء کننده موثر برای سنتز نانوذرات نقره و نانو ذرات طلا مورد استفاده قرار گیرد. این احیاء زیستی فلزات می تواند برای تولید نانو ذرات فلزی به روش سبز مورد استفاده قرار بگیرد که روشی سازگار با محیط زیست و غیر سمی است(۳۱). اثرات ناشی از این ترکیبات نیز تا حدود زیادی ناشناخته است از این رو در این تحقیق سعی شده است اثرات آنتی اکسیدانی نانو ذره اکسید روی سنتز شده به طریق سبز بررسی شود. گونه های قارچی متعدد مانند Fusarium oxysporum ،Fusarium semi- tectum ،Alternaria alternata ، Penicillium brevicompactum ، Pleurotus ،sojarcaju ،Aspergillusfumigates ،Clostridium versicolor برای سنتز نانو ذرات مورد استفاده قرار گرفته اند، از این رو در مطالعه حاضر نانو ذرات اکسید روی سنتز شده از قارچ آسپرژیلوس مورد استفاده قرار گرفته است.

## مواد و روش ها

*مواد مورد استفاده در این مطالعه:* رده سلولی سرطان کبد(HepG2) از انستیتو پاستور ایران خریداری شد. مواد کشت سلول از Gibco-USA، کیت استخراج High pure RNA شرکت Roche، کیت سنتز cDNA از شرکت فرمنتاز. و گلوتاتیون احیاء شده، محلول ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) (سیگما آلدریش آمریکا) تهیه شد. قارچ آسپرژیلوس نیگر در محیط کشت حاوی دکستروز و سیب زمینی در دمای ۴±۲۸ درجه سانتی گراد بر روی شیکر دورانی با سرعت ۱۵۰ rpm انکوبه شد. بعد از ۷۲ ساعت انکوباسیون توده قارچی با استفاده از فیلتراسیون به کمک کاغذ صافی واتمن جدا شد. سوپرناتانت جداسازی شده در لوله سانتریفوژ یخچال دار برای استفاده بیشتر نگهداری شد. سپس ۱۰۰ میلی لیتر از محلول ۰/۱ مولار زینک سولفات(۳ میلی مولار) با ۱۰ میلی لیتر سوپرناتانت به فلاسک انتقال داده شد و بر روی شیکر با سرعت ۱۵۰ rpm به مدت ۹۶ ساعت هم زده شد. فلاسک های حاوی سوپرناتانت حاصل از قارچ یا زینک سولفات به ترتیب به عنوان کنترل مثبت و منفی در نظر گرفته شد.

*بررسی قابلیت حذف رادیکال ABTS:* مولکول ABTS به عنوان ماده ای معرفی می شود که در سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی مواد در صنایع غذایی و در تحقیقات کشاورزی کاربرد زیادی دارد. این ترکیب دارای وزن مولکولی ۵۱۴/۶۲ گرم بر مول است. این روش هم برای ترکیبات هیدروفیل و هم برای ترکیبات لیپوفیل قابل استفاده است. این ماده هم چنین در تعیین سنتیک واکنش های شیمیایی کاربرد دارد و نیز در تشخیص اتصالات مولکولی و آنزیمی به خصوص تکنیک الایزا استفاده می شود. در این مطالعه فعالیت نانو ذره اکسید روی در حذف رادیکال ABTS ارزیابی شد. اساس این روش به صورتی است که در مرحله اول باید رادیکال های ABTS (حالت کاتیونی) تولید شده و پس از آن در یک دوره زمانی، کاهش جذب محلول با اضافه کردن نمونه حاوی نانو ذره ثبت می شود. برای انجام این از روش لی و همکاران استفاده شد(۳۲). به منظور تهیه محلول رادیکال ABTS، ۲ میلی لیتر ABTS ۷ میلی مولار و ۱ میلی لیتر پتاسیم پرسولفات ۲/۴۵ میلی مولار با یکدیگر مخلوط گردید و به مدت



[ Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-11 ]

[ DOI: 10.18869/acadpub.sjimu.24.4.71 ]

۱۶ ساعت در تاریکی و دمای ۲۵ درجه سانتی گراد قرار داده شد. محلول حاصل با افزودن آب، تا رسیدن به جذب ۰/۷۵۶ در طول موج ۷۴۳ نانومتر رقیق شد. غلظت محلول رقیق شده حدود ۰/۵۱۴ میلی مولار بود. سپس ۱ میلی لیتر از محلول رقیق شده رادیکال ABTS با ۱ میلی لیتر از محلول نانو ذره در غلظت های متفاوت مخلوط شد و پس از انکوباسیون به مدت ۱ ساعت در ۳۷ درجه سانتی گراد جذب محلول در ۷۳۴ نانومتر اندازه گیری شد. برای به دست آوردن $IC_{50}$ در این آزمایش پنج غلظت مختلف از نانو ذره ۳۱۲، ۶۲۵، ۱۲۵۰، ۲۵۰۰، ۵۰۰۰ µg/ml و ترکیب استاندارد استفاده شد. از گلوتاتیون به عنوان ترکیب استاندارد استفاده شد. محلول شاهد محتوی ۱ml آب مقطر به جای محلول حاوی نانو ذرات اکسید روی یا استاندارد بود این آزمایش در سه نوبت انجام شد و مقادیر میانگین، ملاک محاسبات قرار گرفت. درصد فعالیت حذف رادیکال از رابطه ذیل به دست آمد:

$$\text{درصد جذب رادیکال} = \frac{\text{جذب نمونه} - \text{جذب بلانک}}{\text{جذب بلانک}} \times ۱۰۰$$

در این رابطه جذب بلانک بیانگر جذب محلول شاهد و جذب نمونه نشان دهنده جذب محلول حاوی نانو ذرات اکسید روی در غلظت ها مختلف ذکر شده می باشد.

*بررسی فعالیت آنتی اکسیدانتی و بیان ژن آنزیم کاتالاز با استفاده از Real time PCR در سلول های سرطان کبد انسان(HepG2) تیمار شده با نانو ذره اکسید سنتز شده به روش سبز:* رده سلولی سرطان کبدی انسان(HepG2) از بانک سلولی پاستور تهران خریداری شد. این این سلول ها در فلاسک ۷۵ حاوی محیط کشت سلولی RPMI ۱۰ درصد FBS به همراه ۱ml پنی سیلین استرپتومایسین به عنوان آنتی بیوتیک به مدت ۲۴ ساعت در ۵ درصد $co_2$ و دمای ۳۷ درجه سانتی گراد کشت داده شدند. پس از پراکنش سطحی ۸۵ درصد به منظور جداسازی سلول ها از کف فلاسک تریپسینه شدند. سوسپانسیون سلولی پس از انتقال به فالکون سانتریفوژ شد که سوپرنتانت را دور ریخته و پلت سلولی با ۱ml محیط کشت رقیق شد. سپس ۴ عدد فلاسک ۲۵ را انتخاب کرده و پس از شمارش سلول ها ۲۵۰ µl از سوسپانسیون سلولی به فلاسک ها اضافه شد پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون محیط کشت را خالی کرده غلظت های مختلف نانو ذرات اکسید روی ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ µg/ml به ۳ فلاسک اضافه می شود. فلاسک شاهد نانو ذرات را دریافت نمی کند. پس از ۴۸ ساعت سلول ها از کف فلاسک جدا و سانتریفیوژ و به منظور استخراج RNA به کار گرفته شدند. بدین منظور تمام RNA از سلول های HepG2 (سلول های حاوی نانو ذره و فاقد نانو ذره) با استفاده از کیت استخراج (Roche, RNA (Germany، مطابق با دستورالعمل شرکت استخراج شد و این RNA برای سنتز DNA مکمل(cDNA) مورد استفاده قرار گرفت. cDNA با استفاده از oligo(dT)، پرایمر، 5X Reaction Buffer، مهار کننده Ribo Lock RNase، dNTP، Revert Aid RT در مدت زمان ۶۰ دقیقه در ۴۲ درجه سانتی گراد و ۵ دقیقه در ۷۰ درجه سانتی گراد در دستگاه ترموسایکلر(Biotech (London, England انکوبه گردید. برای انجام Real time PCR از دستگاه Bio-rad CFX96 استفاده شد. محلول واکنش برای انجام Real time PCR شامل ۱ µ cDNA، ۱µ پرایمر فوروارد، ۱ µ پرایمر ریورس و ۷µ آب و ۱۰ µ SYBR Green Master mix بود. دناتوراسیون اولیه در دمای ۹۶ درجه سانتی گراد به مدت ۳ دقیقه انجام گرفت، و دما و مدت زمان هر سیکل دناتوراسیون ۹۴ درجه و ۳۰ ثانیه در نظر گرفته شد. دمای اتصال برای پرایمرها ۵۹ درجه به مدت ۳۰ ثانیه با استفاده از دمای گرادیان تعیین گردید به منظور تکمیل نهایی ساختار DNA های تکثیر شده، نمونه ها به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۷۲ درجه تکثیر نهایی را انجام دادند. بدین صورت تغییرات سطوح بیان ژن کاتالاز در سلول هایی که تحت تاثیر غلظت های مختلف نانو ذره قرار گرفته بودند در مقایسه با سلول های فاقد نانو ذره بررسی شد. ژن GAPDH به عنوان ژن کنترل برای نرمالیزه کردن بیان ژن ها مورد استفاده قرار گرفت.



[ Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-11 ]

[ DOI: 10.18869/acadpub.sjimu.24.4.71 ]

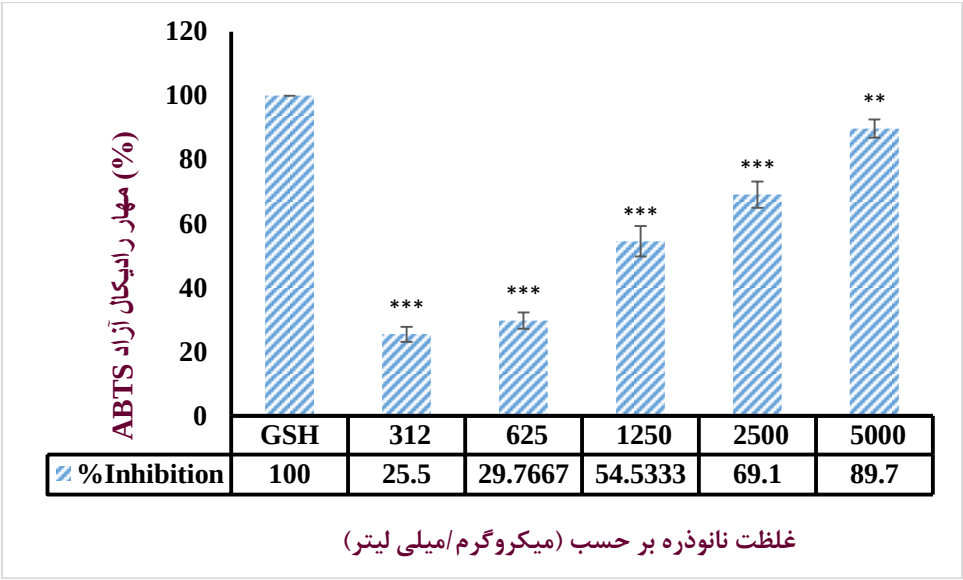
**جدول شماره ۱. توالی پرایمر**

| Genes | Forward 5'→3' | Reverse 5'→3' |
|---|---|---|
| GAPDH | 5'-TGTGTCCGTCGTGGATCTGA-3' | 5'-TTGCTGTTGAAGTCGCAGGAG-3' |
| CAT | 5'CGTGCTGAATGAGGAACAGA3' | 5'AGTCAGGGTGGACCTCAGTG3' |

*روش تجزیه و تحلیل آماری داده ها:* انحراف معیار و انحراف از میانگین داده ها روش تجزیه و تحلیل آماری داده ها به وسیله نرم افزار SPSS محاسبه شد. به منظور مقایسه بقای سلول های تیمار شده با نانو ذره اکسید روی و بررسی وجود اختلاف معنی دار در نتایج حاصله، از نرم افزار SPSS و آزمون آنالیز واریانس یک طرفه(one-way ANOVA) و تست Tukey استفاده شد.

## یافته های پژوهش

فعالیت آنتی اکسیدانتی نانو ذره اکسید روی سنتز شده از قارچ آسپرژیلوس به روش سبز مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه فعالیت جذب رادیکال های ABTS و هم چنین تغییرات بیان ژن کاتالاز در غلظت های مختلف نانو ذره اکسید روی سنتز شده از آسپرژیلوس در سلول های سرطان کبدی انسان(HepG2) ارزیابی شد. فعالیت جذب رادیکال ABTS توسط نانو ذرات اکسید روی در مقایسه با گلوتاتیون بیان می کند که با افزایش غلظت نانو ذره اکسید روی میزان فعالیت جذب رادیکال ABTS افزایش می یابد(شکل شماره ۱). همان طور که مشخص است، حدود ۵۰ درصد رادیکال های آزاد ABTS در غلظت حدود µg/ml ۱۲۰۰ نانو ذره مهار می شود، که نشان می دهد نانو ذره اکسید روی سنتز شده از قارچ آسپرژیلوس دارای خاصیت آنتی اکسیدانی است.



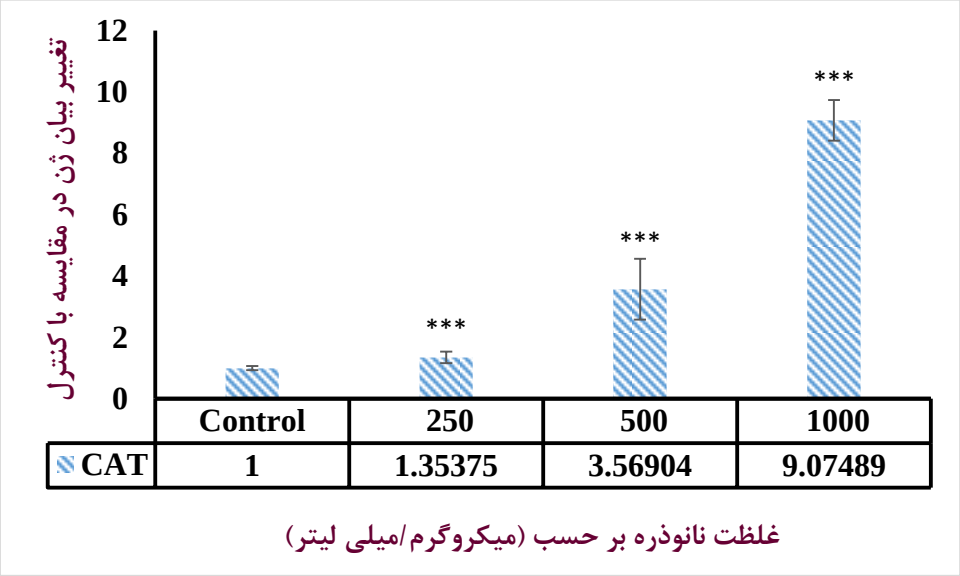

**شکل شماره ۱. افزایش غلظت نانو ذره اکسید روی افزایش فعالیت مهار رادیکال ABTS را نشان می دهد. در این آزمون گلوتاتیون به عنوان استاندارد مورد استفاده قرار گرفت. داده ها بر اساس میانگین±انحراف معیار گزارش شده است.**



[ Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-11 ]

[ DOI: 10.18869/acadpub.sjimu.24.4.71 ]

تیمار سلول های سرطان کبدی انسان(HepG2) با غلظت های مختلف نانو ذره(µg۱۰۰۰- ۲۵۰) نشان می دهد که با افزایش غلظت نانو ذره اکسید روی سنتز شده از قارچ آسپرژیلوس، بیان ژن کاتالاز در مقایسه با ژن کنترل GAPDH افزایش می یابد. لذا نانو ذره اکسید روی سنتز شده از آسپرژیلوس به روش سبز دارای فعـــالیت آنـــتی اکسیدانی است(شکل شماره ۲).




**شکل شماره ۲. افزایش غلظت نانو ذره بیان ژن آنزیم کاتالاز را افزایش می دهد. ژن GAPDH به عنوان استاندارد مورد استفاده قرار گرفته است.**

## بحث و نتیجه گیری

در مطالعه حاضر به منظور بررسی اثرات آنتی اکسیدانی نانو ذرات اکسید روی سنتز شده از قارچ آسپرژیلوس از روش مهار رادیکال ABTS استفاده شد و هم چنین تغییرات بیان ژن کاتالاز در پاسخ به تیمار سلول های سرطان کبد انسانی(HepG2) با غلظت های مختلف نانو ذرات با بهره گیری از Real time pcr مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که با افزایش غلظت نانو ذرات ۶۲۵، ۱۲۵۰، ۲۵۰۰، ۵۰۰۰µg/ml درصد مهار رادیکال ABTS افزایش یافت. غلظت مهاری $IC_{50}$ معادل ۱۲۰۰µg/ml محاسبه شد. رادیکال ABTS تولید شده از اکسیداسیون ABTS از طریق پتاسیم پرسولفات یک ابزار بسیار مناسب برای تعیین فعالیت آنتی اکسیدانتی است که این روش بر اساس رایش رادیکال نسبتاً پایدار سبز آبی ABTS است که به یک محصول بی رنگ تبدیل می شود. شدت کاهش رنگ نشان دهنده مقدار رادیکال $ABTS^{0+}$ است که توسط آنتی اکسیدان مهار می شود که میزان آن توسط دستگاه طیف سنج نوری اندازه گرفته می شود(۳۳). در مطالعه انجام شده توسط ناگاجیوتی و همکاران(۲۰۱۴) فعالیت مهار رادیکال ABTS توسط نانو ذرات نقره سنتز شده از قارچ Inonotus obliqqus، مورد بررسی قرار گرفت. رادیکال های کاتیونی ABTS از طریق واکنش ۷ABTS میلی مولار و پتاسیم پرسولفات ۲/۴۵ میلی مولار پس از ۱۶ ساعت قرار دادن در تاریکی تولید شدند. پس از رقیق سازی با PBS غلظت های مختلف نانو ذرات نقره اضافه شـــد و بلافاصـــله جـــذب در ۷۳۴ nm اندازه گیری شد. در این آزمایش از BHT به عنوان استاندارد استفاده شد. نتایج نـــشان داد فعالیت



[ Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-11 ]

[ DOI: 10.18869/acadpub.sjimu.24.4.71 ]

مهار رادیکال ABTS توسط نانو ذرات نقره با افزایش غلظت نانو ذره افزایش می یابد. به طوری که حداکثر مهار در غلظت ۱ میلی مولار ۷۶/۵۷ درصد و حداقل مهار در غلظت ۰/۱۲۵ میلی مولار ۶۰/۹۸ درصد است(۳۴)، که این مشابه نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر است بدین صورت که از روش یکسانی برای بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی استفاده شد و با افزایش غلظت نانو ذرات اکسید روی ۶۲۵، ۱۲۵۰، ۲۵۰۰، ۵۰۰۰ µg/ml مهار رادیکال ABTS افزایش می یافت و $IC_{50}$ معادل ۱۲۰۰ µg/ml به دست آمد. آنتی اکسیدان استاندارد گلوتاتیون به عنوان استاندارد انتخاب شد. در مطالعه دیگری خواص آنتی اکسیدانتی نانو ذرات طلا و نقره تولید شده از عصاره میوه زردآلو (Prunus armeniaca) مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه فعالیت آنتی اکسیدانتی وابسته به غلظت نانو ذرات طی آزمایشات حذف رادیکال های DPPH و ABTS مشاهده شد. $IC_{50}$ نانو ذرات طلا و نقره برای تست DPPH به ترتیب ۱۱/۲۷ و ۱۸/ ۱۶ میلی گرم و طی آزمایش ABTS به ترتیب ۳/۴۰ و ۷/۱۲ میلی گرم گزارش شد. بنا بر این نانو ذرات نقره فعالیت آنتی اکسیدانتی بیشتری نسبت به نانو ذرات طلا از خود نشان دادند. در هر دو مورد با افزایش غلظت نانو ذرات فعالیت آنتی اکسیدانتی نیز افزایش یافت(۳۵). که این نتایج مشابه نتیجه گیری استخراج شده از مطالعه حاضر است. در مطالعه ای مشابه ظرفیت مهار رادیکال ABTS توسط نانو ذرات طلا سنتز شده از Inonotus obliqqus با اندازه ۲۳ نانومتر مورد بررسی قرار گرفت. رادیکال های کاتیونی ABTS از طریق واکنش ۷ABTS میلی مولار و پتاسیم پرسولفات ۲/۴۵ میلی مولار پس از ۱۶ ساعت قرار دادن در تاریکی تولید شد. پس از رقیق سازی با PBS غلظت های مختلف نانو ذرات طلا اضافه شد و بلافاصله جذب در ۷۳۴ nm اندازه گیری شد. در این آزمایش از BHT به عنوان استاندارد استفاده شد و درصد مهار طبق رابطه: [ ۱۰۰ جذب کنترل/(جذب نمونه–جذب کنترل)] محاسبه شد. نتایج نشان داد که تاثیر مهار رادیکال ABTS با افزایش غلظت نانو ذرات افزایش می یابد. در غلظت های مختلف نانو ذرات طلا ۱، ۰/۵، ۰/۲۵، ۰/۱۲۵ میلی مولار حداکثر مهار رادیکال ABTS در ۱mM و حداقل مهار در ۰/۱۲۵mM گزارش شده است(۳۶). در این مطالعه مشابه با بررسی مهار رادیکال ABTS فعالیت آنتی اکسیدانی نانو ذرات طلا مورد ارزیابی قرار گرفت که تفسیراین نتایج مشابه نتایج حاضر است. روش های زیادی به شیوه های گوناگون در شرایط مختلف، ظرفیت آنتی اکسیدانی و موثر بودن آن ها را بررسی می کند که در اکثر مطالعات انجام شده روش ABTS و DPPH بسیار کاربرد دارد و هر دو بر اساس انتقال الکترون و کاهش رادیکال آزاد با تغییر رنگ اندازه گیری می شوند(۳۷). براجش کومار و همکاران(۲۰۱۴) فعالیت آنتی اکسیدانی نانو ذرات اکسید روی در اندازه ۱۲–۷۲ نانومتر استخراج شده در میوه گریپ فروت(Citrus paradise) را بررسی کردند. برای بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی از روش اندازه گیری رادیکال DPPH استفاده شد. در این روش آنتی اکسیدان با رادیکال DPPH ($DPPH^0$) پایدار به رنگ بنفش واکنش می دهد و آن را به ۱ و ۱–دی فنیل–۲–پیکریل هیدرازین بی رنگ تبدیل می کند. غلظت های مختلف نانو ذرات اکسید روی با ۲ میلی لیتر از ۲۰µM $DPPH^0$ محلول در متانول مخلوط شد. و پس از ۳۰ دقیقه تاریکی جذب محلول در ۵۱۷ نانومتر اندازه گیری شد. نتایج نشان داد که درصد مهار رادیکالی در غلظت های ۰/۳ تا ۱/۵ میلی مولار با افزایش غلظت نانو ذرات افزایش پیدا کرده است به طوری که در ۱/۵ میلی مولار ظرفیت آنتی اکسیدانی ۸۰≤ درصد نسبت به 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl می باشد. هم چنین گزارش شده است نانو ذرات اکسید روی سنتز شده یه روش سبز به طور قابل توجهی در پزشکی و به صورت سازگار با محیط زیست مورد توجه قرار گرفته است(۳۸). نتیجه این بررسی به طور مشابه فعالیت آنتی اکسیدانی نانو ذرات اکسید روی را ثابت می کند. در مطالعه ای دیگر تاثیرآنتی اکسیدانی نانو ذرات اکسید روی سنتز شده از عصاره گیاهی Cassiafistula در غلظت های مختلف ۲، ۴، ۶، ۸ mg در اندازه ۱۵–۵ نانومتر با استفاده از روش مهار رادیکال های آزاد DPPH اندازه گیری شد و نتایج نشان داد که با افزایش غلظت نانو ذرات اکسید روی از ۲۰۰۰ تا



[ Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-11 ]

[ DOI: 10.18869/acadpub.sjimu.24.4.71 ]

$\mu g$ ۸۰۰۰ درصد مهار رادیکال افزایش می یابد. $IC_{50}$ در این مطالعه ۲۸۵۳$\mu g/ml$ گزارش شده است(۳۹). نتایج این مطالعه مشابه داده های مطالعه های حاضر است اگر چه در مطالعه حاضر از روش ABTS استفاده شده است اما اساس هر دو روش DPPH و ABTS بر پایه انتقال الکترون و رنگ سنجی است. مطالعات حاصل از تیمار کردن گندم با نانو ذرات اکسید روی و کوپراکسید نشان می دهد که رشد گندم در حضور نانو ذرات کوپر اکسید و به میزان کمتری با نانو ذرات اکسید روی باعث پراکسیداسیون لیپید در غشای ریشه گندم با توجه به افزایش میزان مالون دی آلدهید، در عصاره گیاهان رشد کرده همراه نانو ذرات نسبت به گیاهان کنترل افزایش یافت. سطوح کلروفیل در برگ گیاهان تیمار شده با نانو ذرات اکسید روی و کوپر اکسید در مقایسه با کنترل کاهش یافت. بر اساس پراکسیداسیون لیپیدی در گیاهان تیمار شده با نانو ذرات پاسخ آنتی اکسیدانی گیاه بررسی شد. در عصاره گیاهان تیمار شده با کوپر اکسید نسبت به گیاهان کنترل دارای فعالیت بالاتر سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز مشاهده شد. گیاهان تیمار شده با نانو ذرات اکسید روی با کاهش فعالیت کاتالاز مشاهده شدند. سطح GSSH در ساقه های گیاهان رشد کرده با نانو ذرات به طور چشم گیری در مقایسه با گیاهان کنترل افزایش یافت(۴۰). اکسیژن برای بقاء لازم است اما متابولیت های آن مانند گونه های فعال اکسیژن باید مداوم غیر فعال شوند تا فقط میزان کم آن که برای عملکرد نرمال سلول ضروری است باقی بماند. بنا بر این یک سری از انواع مختلف آنتی اکسیدان ها بر علیه اکسیژن عمل حفاظتی را انجام می دهند(۴۱). کاتالاز یک آنزیم آنتی اکسیدانی است و به طور فراوان در بافت های مختلف وجود دارد و سلول ها را در مقابل اثرات مضر هیدروژن محافظت می کند. اکونو و همکاران(۱۹۹۵) گزارش کردند که بافت چربی نسبت به کبد و کلیه کاتالاز بیشتری را بیان می کند(۴۲). بر اساس مطالعه انجام شده بر روی سلول های سرطان کبد انسانی(HepG2) تیمار شده با $\mu g/ml$ ۱۵ نانو ذرات اکسید روی سنتز شده به روش رسوب گذاری طی ۲۴ ساعت، گونه های فعال اکسیژن و لیپید پراکسیداز به عنوان مارکرهای اکسیدانی در حالی که وضعیت آنتی اکسیدانی با توجه گلوتاتیون، سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، گلوتاتیون ردوکتاز، گلوتاتیون پراکسیداز مورد بررسی قرار گرفت. نتایج افزایش تولید ROS و لیپید پراکسیداز غشایی و از سوی دیگر کاهش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی گلوتاتیون ردوکتاز، گلوتلتیون پراکسیداز، سوپر اکسید دیسموتاز و کاتالاز مشاهده شد. تولید زیاد ROS داخل سلولی و لیپید پراکسیداز غشایی در سلول های تیمار شده با نانو ذرات اکسید روی همراه کاهش اجزای آنتی اکسیدانی حاکی از آن است که تولید ROS و استرس اکسیداتیو احتمالاً به عنوان مکانیسم اولیه در ایجاد سمیت سلولی نانو ذرات اکسید روی در سلول های سرطانی کبد انسان مطرح می شود(۴۳). در مقایسه با مطالعه حاضر که بیان کاتالاز افزایش پیدا کرده است می توان اظهار کرد نانو ذرات اکسید روی خریداری شده در این مطالعه از قارچ آسپرژیلوس سنتز شده است و این قارچ تحت شرایط استرس اکسیداتو فعالیت آنتی اکسیدانی را افزایش می دهد. لذا افزایش بیان کاتالاز را در مطالعه حاضر احتمالاً به علت قارچ آسپرژیلوس نیگر است. مطالعه دیگری سمیت نانو ذرات اکسید روی را در ریه رت های تیمار شده با نانو ذرات اکسید روی به صورت خوراکی مورد بررسی قرار داد. موش ها به چهار گروه ده تایی تقسیم شدند. گروه یک و دو به صورت خوراکی ۴۰ و $mg/kg$ ۱۰۰ نانو ذرات اکسید روی را برای ۲۴ ساعت دریافت کردند. گروه سه و چهار به مدت ۱ هفته روزانه ۴۰ و $mg/kg$ ۱۰۰ را دریافت کردند. ده تا موش به عنوان کنترل انتخاب شد. سطوح گلوتلتیون احیاء شده در بافت ریه در چهار گروه پایین تر از گروه کنترل بود. اگر چه کاهش گلوتاتیون در رت های تیمار شده با دریافت روزانه نانو ذرات به مدت یک هفته در هر دو دوز کم و زیاد ۴۰ و $mg/kg$ ۱۰۰ در مقایسه با گروه دریافت کننده دوز $mg/kg$ ۴۰ برای ۲۴ ساعت بیشتر بود. هر چهار گروه مورد مطالعه کاهش فعالیت کاتالاز را در هموژنات ریه رت ها نشان دادند(۴۴). مطالعه بالا در محیط in vivo انجام شده است در حالی که مطالعه حاضر در in vitro انجام شد. علاوه بر این خصوصیات قارچ آسپرژیلوس نیگر باعث



[ Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-11 ]

[ DOI: 10.18869/acadpub.sjimu.24.4.71 ]

شده است که نانو ذرات اکسید روی فعالیت آنتی اکسیدانی از خود نشان دهند. مشخص شده است که شوک حرارتی باعث ایجاد استرس اکسیداتیو در قارچ آسپرژیلوس نیگر می شود. تحت این شرایط سطوح گونه های فعال اکسیژن، آنیون های سوپراکسید($O_2^{0-}$) و هیدروژن پراکسید افزایش می یابد. سلول های آسپرژیلوس زنده تحت شوک حرارتی افزایش چشمگیری در سطوح آنزیم های آنتی اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز نشان می دهند(۴۹). در مطالعه دیگری از قارچ آسپرژیلوس نیگر B1-D استفاده شد که مشخص شد تیمار کردن قارچ با غلظت های پایین $H_2O_2$ به طور کامل از کشته شدن سلول ها در غلظت های بالای این اکسیدانت جلوگیری می کند که نشان می دهد آسپرژیلوس نیگر B1-D قابلیت تطابق با $H_2O_2$ را از طریق کاهش رشد و افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانت شامل سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز، کاتالاز و گلوتاتیون ردوکتاز است(۴۵). با توجه به این که در مطالعه حاضر نانو ذرات اکسید روی از قارچ آسپرژیلوس نیگر سنتز شده است می توان نتیجه گرفت که فعالیت آنتی اکسیدانی نانو ذرات اکسید روی مرتبط با بسیاری از ویژگی های این قارچ است. بررسی سمیت نانو ذرات اکسید روی در گیاه دارویی Fagopyrum esculentum از طریق بررسی اثرات بیومس و فعالیت آنزیم های اکسیدانی، افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز و آنتی اکسیدان گلوتاتیون را به صورت وابسته به غلظت نانو ذره را نشان داد(۴۶). مطالعات حاکی از آن است که سلول های C2CI2 و 3T3-LI تحت تاثیر قرار گرفته با غلظت های مختلف نانو ذره اکسید روی طی ۲۴ ساعت، افزایش چشمگیری در گلوتاتیون ردوکتاز، گلوتاتیون پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و LDH را به صورت وابسته به دوز نشان دادند. فعالیت آنزیم کاتالاز در سلول های C2CI2 به صورت ۳۸/۴، ۱۵/۳، ۵۳/۸ درصد و ۲۰، ۵۰، ۷۰ درصد در سلول های 3T3-LI به ترتیب در غلظت های ۱۰، ۲۰، ۳۰ نانو ذرات اکسید روی، افزایش یافت. هم چنین این سلول ها در غلظت های مختلف نانو ذره تغییرات زیادی را در بیان mRNA ژن آنزیم آنتی اکسیدانتی به صورت وابسته به دوز نشان دادند. بیان mRNA کاتالاز در سلول های C2CI2 به صورت ۰/۳۷، ۰/۷۵، ۱/۵ فولد و در سلول های 3T3-LI به صورت ۰/۶، ۰/۷ و ۱ فولد در غلظت های به ترتیب ۱۰، ۲۰، ۳۰ نانو ذره افزایش یافت(۴۷). که این نتایج با یافته های ما مطابقت دارد و نتایج ما را تایید می کند.

## *References*


1.Sies H. Oxidative stress: Oxidants and antioxidants. Exp Physiol1997;82:291-5.

2.Abdollahi M, Ranjbar A, Shadnia S, Nikfar S, Rezaiee A. Pesticides and oxidative stress a review. Medl Sci Rev2004;10:141-7.

3.Masters C, Pegg M, Crane D. On the multiplicity of the enzyme catalase in mammalian liver. Mol Cell Biochem1986;70:113-20.

4.Chance B, Sies H, Boveris A. Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. Physiol Rev1979;59:527-605.

5.Simon RH, Scoggin CH, Patterson D. Hydrogen peroxide causes the fatal injury to human fibroblasts exposed to oxygen radicals. J Biological Chem1981;256:7181-6.

6.Meagher E, Rader DJ. Antioxidant therapy and atherosclerosis: animal and human studies. Trends Cardiovasc Med2001;11:162-5.

7.Halliwell B. Lipid peroxidation, antioxidants and cardiovascular disease how should we move forward? Cardiovasc Res2000;47:410-8.

8.Halliwell B. Free radicals antioxidants and human disease curiosity cause or consequence? Lancet1994;344:721-4.

9.Ceriello A. Acute hyperglycaemia and oxidative stress generation. Diabet Med1997;14: 45-9.

10.Dreher D, Junod AF. Role of oxygen free radicals in cancer development. European J Cancer1996;32:30-8.




[ Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-11 ]

[ DOI: 10.18869/acadpub.sjimu.24.4.71 ]

11.Conner EM, Grisham MB. Inflammation free radicals and antioxidants. Nutrition 1996;12:274-7.
12.Gilgunsherki Y, Melamed E, Offen D. Oxidative stress induced-neurodegenerative diseases the need for antioxidants that penetrate the blood brain barrier. Neuropharmacology 2001;40:959-75.
13.Serrano F, Klann E. Reactive oxygen species and synaptic plasticity in the aging hippocampus. Agein Res Rev 2004;3:431-43.
14.Bhattacharya R, Mukherjee P. Biological properties of naked metal nanoparticles. Adv Drug Deliv Rev2008;60:1289-306.
15.Narayanan KB, Sakthivel N. Biological synthesis of metal nanoparticles by microbes. Adv Colloid Interface Sci 2010;156:1-13.
16.Ostrowski AD, Martin T, Conti J, Hurt I, Harthorn BH. Nanotoxicology characterizing the scientific literature 2000–2007. J Nanopart Res 2009;11:251-7.
17.Li J, Guo D, Wang X, Wang H, Jiang H, Chen B. The photodynamic effect of different size ZnO nanoparticles on cancer cell proliferation in vitro. Nanoscale Res lett2010;5:1063-71.
18.Premanathan M, Karthikeyan K, Jeyasubramanian K, Manivannan G. Selective toxicity of ZnO nanoparticles toward Gram-positive bacteria and cancer cells by apoptosis through lipid peroxidation. Nanomedicine 2011;7:184-92.
19.Das D, Nath BC, Phukon P, Dolui SK. Synthesis of ZnO nanoparticles and evaluation of antioxidant and cytotoxic activity. Colloids Surf B Biointerfaces2013;111:556-60.
20.Li L Z, Zhou DM, Peijnenburg WJ, Vangestel CA, Jin SY, Wang YJ, et al. Toxicity of zinc oxide nanoparticles in the earthworm, Eisenia fetida and subcellular fractionation of Zn. Environ Int 2011;37:1098-104.
21.Hosseinkhani P, Zand A, Imani S, Rezayi M, Rezaei Zarchi S. Determining the antibacterial effect of ZnO nanoparticle against the pathogenic bacterium, Shigella dysenteriae (type 1). Int J Nano Dimen2011;1:279-85.
22.Seven O, Dindar B, Aydemir S, Metin D, Ozinel M, Icli S. Solar photocatalytic disinfection of a group of bacteria and fungi aqueous suspensions with TiO 2, ZnO and Sahara desert dust. J Photochem Photobiol A Chem2004;165:103-7.
23.Hosseini D. Protective effect of nano-zinc oxide on reproductive system and fertility of adult male Wistar rats following doxorubicin treatment. Arak Med Uni J2013;16:1-9.
24.Korbekandi H, Iravani S, Abbasi S. Production of nanoparticles using organisms. Crit Rev Biotechnol 2009;29:279-306.
25.Chandran SP, Chaudhary M, Pasricha R, Ahmad A, Sastry M. Synthesis of gold nanotriangles and silver nanoparticles using Aloevera plant extract. Biotechnol prog 2006;22:577-83.
26.Thakkar KN, Mhatre SS, Parikh RY. Biological synthesis of metallic nanoparticles. Nanomedicine2010;6:257-62.
27.Song JY, Kim BS. Rapid biological synthesis of silver nanoparticles using plant leaf extracts. Bioprocess Biosyst Eng2009;32:79-84.
28.Shokuhfar T, Vaezi M, Sadrnezhad S, Shokuhfar A. Synthesis of zinc oxide nanopowder and nanolayer via chemical processing. Int J Nanomanufact2008;2:149-62.
29.Prabhu S, Poulose EK. Silver nanoparticles: mechanism of antimicrobial action, synthesis, medical applications, and toxicity effects. Int Nano Lett2012;2:1-10.
30.Ahmad A, Mukherjee P, Senapati S, Mandal D, Khan MI, Kumar R, et al. Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles using the fungus Fusarium oxysporum. Colloids Surf B Biointerfaces2003;28:313-8.
31.Soni N, Prakash S. Synthesis of gold nanoparticles by the fungus Aspergillus niger and its efficacy against mosquito larvae. Rep Parasitol2012;2:1-7.
32.Erb U, Aust K, Palumbo G. In nanostructured materials processing properties and potential applications. Noyes New York2002:179-222.
33.Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Riceevans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radic Biol Med 1999;26:1231-7.



[ Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-11 ]

[ DOI: 10.18869/acadpub.sjimu.24.4.71 ]

34.Nagajyothi P, Sreekanth T, Lee Ji, Lee KD. Mycosynthesis antibacterial antioxidant and antiproliferative activities of silver nanoparticles synthesized from Inonotus obliquus (Chaga mushroom) extract. J Photochem Photobiol B Biol 2014;130:299-304.
35.Dauthal P, Mukhopadhyay M. Invitro free radical scavenging activity of biosynthesized gold and silver nanoparticles using Prunus armeniaca (apricot) fruit extract. J Nanopart Res2013;15:1-11.
36.Lee K, Nagajyothi P, Sreekanth T, Park S. Eco-friendly synthesis of gold nanoparticles (AuNPs) using Inonotus obliquus and their antibacterial, antioxidant and cytotoxic activities. J Indust Eng Chem2014;22:131-8.
37.Woottonbeard PC, Moran A, Ryan L. Stability of the total antioxidant capacity and total polyphenol content of 23 commercially available vegetable juices before and after invitro digestion measured by FRAP and DPPH and ABTS and Folin–Ciocalteu methods. Food Res Int2011;44:217-24.
38.Kumar B, Smita K, Cumbal L, Debut A. Green approach for fabrication and applications of zinc oxide nanoparticles. Bioinorgan Chem Appl2014;11:83-6.
39.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. Mater Sci Sem Process2015;31:446-54.
40.Dimkpa CO, McLean JE, Latta DE, Manangón E, Britt DW, Johnson WP, et al. CuO and ZnO nanoparticles phytotoxicity metal speciation and induction of oxidative stress in sandgrown wheat. J Nanopart Res 2012;14:1-15.
41.Urata K, Narahara H, Tanaka Y, Egashira T, Takayama F, Miyakawa I. Effect of endotoxin-induced reactive oxygen species on sperm motility. Fertil Steril2001;76:163-6.
42.Ishida A, Kameshita I, Okuno S, Kitani T, Fujisawa H. A novel highly specific and potent inhibitor of calmodulin-dependent protein kinase II. Biochem Biophys Res 1995;212:806-12.
43.Akhtar MJ, Ahamed M, Kumar S, Khan MM, Ahmad J, Alrokayan SA. Zinc oxide nanoparticles selectively induce apoptosis in human cancer cells through reactive oxygen species. Int J Nanomed 2012;7:845.
44.Nounou H, Attia H, Shalaby M, Arafah M. Oral exposure to zinc oxide nanoparticles induced oxidative damage, inflammation and genotoxicity in Rats lung. Life Sci J 2013;10:1969-79.
45.Li Q, Mcneil B, Harvey LM. Adaptive response to oxidative stress in the filamentous fungus Aspergillus niger B1-D. Free Radic Biol Med 2008;44:394-402.
46.Lee S, Kim S, Kim S, Lee I. Assessment of phytotoxicity of ZnO NPs on a medicinal plant, Fagopyrum esculentum. Environ Sci Pollut Res 2013;20:848-54.
47.Pandurangan M, Veerappan M, Kim DH. Cytotoxicity of zinc oxide nanoparticles on antioxidant enzyme activities and mRNA expression in the cocultured C2C12 and 3T3-L1 cells. Appl Biochem Biotechnol 2015;175:1270-80.

[ Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-11 ]

[ DOI: 10.18869/acadpub.sjimu.24.4.71 ]

# Evaluation of Antioxidant Properties of Zinc Oxide Nanoparticles Synthesized by Green Method and Catalase Gene Expression Changes in Human Liver Cancer Cells (HepG2)

*Khaligh F[1*], Namvar F[2], Vesal M[1]*

**(Received: July 20, 2015 Accepted: October 25, 2015)**


## Abstract

*Introduction*: Stress oxidative is a major problem for centuries and the origin of various disease from cataracts to cancer. Free radicals are atoms or molecules the have the single electron that re highly reactive and can be irreversible damage to vital molecules in organisms. Antioxidants are capable of biological systems to protect against this elements. zinc oxide nanoparticle have antimicrobial, anti-cancer and antioxidant properties. The purpose of this study was to assess the antioxidant effect of zinc oxide nanoparticle synthesized by green method and catalase gene expression changes in human liver cancer cells (HepG2) in response to different concentration of nanoparticles.

*Materials & methods*: Antioxidant activity of zinc oxide nanoparticles synthesized by green method was measured using ABTS (2, 2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) radical absorbance. The human liver cancer cells (HepG2) cultured in the six well plates and then were treated with different concentrations of nanoparticles. After extraction of RNA and synthesis of cDNA, Real time PCR was carried out and catalase gene expression changes were assessed.

*Findings*: Antioxidant activity of zinc oxide nanoparticles synthesized by green method was measured by ABTS (2, 2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) ($IC_{50}$= 1200µg) radical scavenging activity. Also, with the increasing concentration of zinc oxide nanoparticles synthesized by green method , catalase gene expression compared to control gene GAPDH increased.

*Discussion & conclusion*s: The results of this study showed that the concentration of zinc oxide nanoparticles synthesized by green method had a strong antioxidant activity.


*Keywords*: Zinc oxide nanoparticle, Antioxidant, Green method , Catalase gene

*1.Dep of Biochemistry, Faculty of Science, Islamic Azad University, Shiraz Branch, Shiraz,Iran*
*2.Research Center for Animal Development Applied Biology, Islamic Azad University, Mashhad Branch, Mashhad, Iran*
** Correspondin author Email: Farzaneh.khaliq@gmail.com*



[ Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-11 ]

[ DOI: 10.18869/acadpub.sjimu.24.4.71 ]