



**دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت**

**پایان نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد (M.sc)**

**رشته: بیوشیمی**

**عنوان**

.......

**استاد راهنما**

......

**دانشجو**

.....

نیمسال تحصیلی

......

فرم شماره 11



باسمه تعالی

**صورتجلسه دفاع**

با تأییدات خداوند متعال جلسة دفاع از پایان­نامه کارشناسی ارشد خانم/آقای..... در رشتة ...... با حضور استاد راهنما، استاد (استادان) مشاور و هیأت داوران در دانشگاه آزاد اسلامی- واحد رشت در تاریخ تشکیل گردید.

در این جلسه، پایان­نامه با موفقیت مورد دفاع قرار گرفت.

نامبرده نمرة ) با احتساب نمره مقاله(، امتیاز دریافت نمود.

استاد راهنما:

استاد (استادان مشاور):

هیأت داوران: دکتر

مدیر گروه یا رئیس تحصیلات تکمیلی واحد :

معاون پژوهشی و فناوری دانشگاه آزاد اسلامی- واحد رشت

اطلاعات این قسمت حتما توسط کارشناس پژوهشی تکمیل گردد) نمره حاصل از ارزشیابی مقاله دوم و بیشتر(دستاورد پژوهشی)، دانشجو طبق بخشنامه شماره 311567/73 مورخه ( ازسقف 1نمره ) ........ محاسبه و نمره نهایی پایان نامه ( مجموع نمره دفاع و مقاله ) با درجه .......... و نمره به عدد .......... به حروف ........................................... به تصویب رسید.

تایید کارشناسان حوزه پژوهشی

تایید معاون پزوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت

**«تعهدنامه اصالت رساله یا پایان نامه»**

اینجانب ...... آموخته مقطع کارشناسی ارشد ناپیوسته در رشته میکروبیولوژی که در تاریخ ................. از پایان نامه خود تحت عنوان........................................................................................................ با کسب نمره........ و درجه ....... دفاع نموده­ام، بدینوسیله متعهد می شوم:

این پایان نامه حاصل تحقیق و پژوهش انجام شده توسط اینجانب بوده و در مواردی که از دستاورد های علمی و پژوهشی دیگران (اعم از پایان نامه، کتاب، مقاله و ... ) استفاده نموده ام، مطابق ضوابط و رویه موجود، نام منبع مورد استفاده و سایر مشخصات آن را در فهرست مربوطه ذکر و درج کرده ام.

1)این پایان نامه / رساله قبلا برای دریافت هیچ مدرک تحصیلی ( هم سطح، پایین تر یا بالاتر ) در سایر دانشگاه ها و مؤسسات آموزش عالی ارائه نشده است.

2)چنانچه بعد از فراغت از تحصیل، قصد استفاده و هر گونه بهره برداری اعم از چاپ کتاب، ثبت اختراع و ... از این پایان نامه داشته باشم، از حوزه معاونت پژوهشی واحد مجوزهای مربوطه را اخذ نمایم.

3) چنانچه در هر مقطعی زمانی خلاف موارد فوق ثابت شود، عواقب ناشی از آن را می پذیرم و واحد دانشگاهی مجاز است با اینجانب مطابق ضوابط و مقررات رفتار نموده و در صورت ابطال مدرک تحصیلی ام هیچگونه ادعایی نخواهم داشت.

نام و نام خانوادگی

تاریخ و امضاء

**تقدیر و تشکر**

**تقدیم به**

**فهرست مطالب**

**عنوان** **صفحه**

**فصل اول: مقدمه**

1- مقدمه .......................................................................................................................................................2

**فصل دوم: پیشینه تحقیق**

2- پیشینه تحقیق .........................................................................................................................................28

2-1- پیشینه تحقیقات داخلی... ...................................................................................................................28

2-2- پیشینه تحقیقات خارجی ...................................................................................................................28

**فصل سوم: مواد و روش ها**

3- مواد و روش ها .....................................................................................................................................32

3-1- مواد ...................................................................................................................................................32

3-2- روش ها ............................................................................................................................................32

3-2-1- شناسایی و ........................................................................32

3-2-2- عصاره...........................................................................................................................................32

3-2-2-1- تهیه ................................................................................33

3-2-2-2- تهیه عصاره ...................................................................33

3-2-3- بررسی ........................................................................33

3-2-4- بررسی ..............................................................34

3-2-4-1- روش .......................................................................................34

3-2-4-2- تعیین .....................................................................................................35

3-2-4-2-1 تهیه محیط ......................................................................................36

3-2-4-2-2 تهیه ........................................................................................36

3-2-4-2-3- تهیه سوسپانسیون .................................................................................................36

3-2-4-2-4- محاسبه................................................................................................................................36

3-2-4-3- تعیین ............................................................................................37

3-2-5- بررسی ...............................................................37

3-2-5-1- تهیه بافر .......................................................................................................37

3-2-5-2- تهیه .......................................................................................................................38

3-2-5-3- تولید رشته های .......................................................................................................38

3-2-5-4- بررسی رشته ........................................................39

3-2-6- بررسی تشکیل رشته .................................40

**فصل چهارم: نتایج**

4- نتایج .......................................................................................................................................................42

4-1- نتایج حاصل از تهیه پودر گیاه ..........................................................................................................42

4-2- نتایج حاصل از عصاره گیاه ..........................................................................42

4-3- نتایج حاصل از بررسی عصاره به روش گاز کروماتوگرافی جرمی ....................................................42

**فصل پنجم: بحث و نتیجه گیری**

5- تحلیل نتایج حاصل از.....................................................................................................................42

5- تحلیل نتایج حاصل .................................................................................................................42

فهرست جداول

**عنوان** **صفحه**

جدول 1-

جدول 2-

فهرست شکل ها

عنوان صفحه

شکل 1-1 .....................................................................................................................................................3

شکل 1-2 ..................................................................................................................................................7

شکل 1-3 ...................................................................................................................................................10

شکل 1-4 ...................................................................................................................................................14

شکل 1-5 ...................................................................................................................................................16

شکل1-6 .....................................................................................................................................................16

شکل1-7 .....................................................................................................................................................17

شکل 4-1 ..................................................................................................................................................42

شکل 4-2 ...................................................................................................................................................44

شکل 4-3 ...................................................................................................................................................44

شکل 4-4 ...................................................................................................................................................45

شکل 4-5 ...................................................................................................................................................46

شکل 4-6 ...................................................................................................................................................47

شکل 4-7 ...................................................................................................................................................48

شکل4-8 ....................................................................................................................................................49

شکل4-9 ....................................................................................................................................................49

شکل 4-10 ................................................................................................................................................53

شکل 4-11 ................................................................................................................................................54

شکل 4-12 ................................................................................................................................................56

شکل 4-13..................................................................................................................................................57

چکیده:

واژگان کلیدی:

**فصل اول**

**(کلیات)**

* 1. **بیماری آلزایمر**

بیماری آلزایمر یک **بیماری مغزی** پیش‌رونده و غیرقابل ‌برگشت است که به آرامی حافظه و قدرت تفکر را از بین برده و حتی توانایی انجام کارهای ساده را از فرد می‌گیرد. بیماری آلزایمر به آرامی شروع می‌شود. این بیماری در وهله اول قسمت‌هایی از مغز که کنترل حافظه و زبان را به عهده دارند دربر می‌گیرد. آلزایمر یک بیماری پیش‌رونده است. این بدان معناست که به مرور زمان قسمت‌های بیشتری از **مغز** آسیب می‌بیند. زمانی که این اتفاق می‌افتد، علائم بیشتری دیده شده و بیماری تشدید می‌شود. بیماری آلزایمر یک بیماری مهلک است که در نهایت بر تمام شرایط زندگی فرد تأثیر می‌گذارد. اين بيماري در سال 1906 توسط آلویس آلزایمر معرفي شد، و نوع شايعي از جنون زودرس است که در زندگی میانسالی اتفاق می­افتد و با از دست دادن پيش رونده حافظه و کاهش قوه شناختي مشخص می شود. علايم بيماري آلزايمر پلاك­هاي آميلوئيدي هستند كه در نتيجه متراكم شدن پپتيدهای آمیلوئیدي-β مي­باشد كه از مشتقات پروتئين­هاي پیش­ساز آمیلوئید (APP) و توده­هاي نامنظم سلول­هاي عصبي فيبريله شده(NFTs) (فرم­هاي بسيار فسفريله و پروتئین­هاي وابسته به میکروتوبول­ها tau) و التهابات سيستم عصبي محيطي است ([Castellani, Rolston, & Smith, 2010](#_ENREF_6)).

تاكنون علت و مکانیسم پیشرفت آلزايمر به صورت فاميلي و پراكنده كاملاً روشن نيست. مطالعات اخیر پاسخ التهاب موضعی را در بیماری آلزایمر اثبات کرده است. یافته­هاي اخير ارتباط نزديك بين سایتوکاین ها و توليد پلاك­هاي آميلوئيدي در بیماری آلزایمر را تایید مي­کند و نشان داده شده است که آستروسیت­ها و میکروگلیا ممکن است بطور فعالانه در رویدادهای القاء شده توسط سایتوکاین­ها در AD در­گیر مي­باشند. منوسیت­ها و ماکروفاژهای در حال گردش وقتي که به وسيله کموکاین­ها توليد شده توسط سلول­های گلیال فعال، به کار گرفته می­شوند ممکن است باعث افزايش تخريب­هاي التهابي مغز در بیماری آلزایمر شوند. پپتیدهای آمیلوئید-β به همراه اینترفرون γ فعال سازي میکروگلیاها را تحريك كرده و منجر به افزايش آزاد سازي TNF-α از میکروگلیای فعال شده می­شود. غلظت TNF-α و بقيه سایتوکاین­های در سلول­های گلیال فعال كه به پلاک­های آمیلوئیدي نزديك­اند افزايش مي­يابد. تركيبي از TNF-α، اینترفرون γ، فاکتورهای β ی تغییر شکل یافته رشد (TGFB)، میکروگلیا و آستروسیت­هاي فعال شده و پپتیدهای آمیلوئید- βدر نوروتوکسیستی بيماري AD شركت مي­كنند ([Cummings & Cole, 2002](#_ENREF_8)).

در سال ۱۹۰۱ روان‌شناس و عصب‌شناس آلمانی آلویز آلزهایمر اولین مورد این بیماری را کشف و در مورد آن مطالبی نوشت، که بعدها به بیماری آلزایمر معروف شد. بیمار یک زن ۵۰ ساله بود به اسم «آگوست دتر». آلویز آلزهایمر این زن را از زمان بستری شدنش در آسایشگاهی در شهر فرانکفورت تا زمان مرگ او در سال ۱۹۰۶ همراهی کرد. فرضیه های در حال رقابتی وجود دارند که در حال تلاش برای بیان علت بیماری می باشند. قدیمی ترین فرضیه ، که در آن در دسترس ترین روشهای دارو درمانی مبنا هستند ، فرضیه ی کولینرژیک است ، که پیشنهاد می کند بیماری آلزایمر به علت کاهش سنتز استیل کولین انتقال دهنده یا پیام رسان عصبی ایجاد می شود.در سال ۱۹۹۱ ، فرضیه ی آمیلوئید نتیجه گیری نمود که رسوبات آمیلوئید بتا (Aβ) علت اساسی بیماری می باشد. پشتیبانی از این نتیجه گیری از محل یک ژن برای پروتئین پیش ساز آمیلوئید بتا (APP) بر روی کروموزوم شماره ی ۲۱ نشأت می گیرد ، همراه با این واقعیت که افراد مبتلا به تریزومی ۲۱ (سندروم داون) یک نسخه ی ژن اضافی دارند که تقریبا به صورت گسترده بیماری آلزایمر را تا سن ۴۰ سالگی بروز می کند. بیماری آلزایمریک بیماری پیچیده چندعاملی است. سن بالا ، سابقه خانوادگی ، جنس مونث بودن و سندرم داون ، مهمترین عوامل خطر ساز برای آلزایمر هستند. حدود۱۰ درصد موارد آن بصورت ارثی است.اگر بیماران ، خویشاوند درجه اولی داشته باشند که آلزایمر در او پس از 65 سالگی بروز کرده باشد، خطر نسبی ابتلای آنها 3 - 6 برابر ، افزایش می یابد. اگر بیماران خواهر یا برادری مبتلا به آلزایمر پیش از 60 سالگی و نیز یک والد مبتلا باشند، خطر نسبی آنها 7 - 9 برابر می شود. گروه خونی افراد می‌تواند در ابتلای آن‌ها به بیماری‌های زوال شناختی مانند آلزایمر تأثیرگذار باشد. گروه خونی نقش مهمی در رشد سیستم ایمنی بدن ایفا کرده و ممکن است باعث خطر بالاتر ابتلا به زوال شناختی شود. افراد دارای گروه خونی O از ماده خاکستری بیشتری در مغزخود نسبت به گروه‌های خونی A و B و AB برخوردارند که این امر به حفاظت در برابر بیماری‌هایی مانند آلزایمر کمک خواهد کرد ([Mayeux & Stern, 2012](#_ENREF_23)).

* 1. **رادیکال های آزاد**

رادیکال های آزاد و سایر (Ros) برای زندگی لازم هستند. چرا که در پیام رسانی سلولی شرکت می کنند و عمل فاگوسیتوزی آن ها جهت از بین بردن باکتری ها لازم است. به علاوه با توجه به عملکردهای لازم و کنترل شده، Ros در تمام موجودات هوازی نیز به عنوان پیامد تنفس میتوکندریایی که اکسیژن را در فرآیند تولید ATP از طریق همراه کردن انتقال الکترون و فسفریله کردن اکسیداتیو مصرف می کند، تولید می شود. محصولات غیر ضروری ROS، یعنی اکسیداتیو می تواند به وسیله فاکتور های برون زاد نظیر داروها و سم های محیطی القا شود ([Huang, Ullah, Zhou, Yi, & Zhao, 2019](#_ENREF_16)).

استرس اکسیداتیو به طور بلقوه برای سلول ها مضر بوده وROS در علت شناسی و پیشرفت بسیاری از فرآیند های بیماری مانند سرطان درگیر هستند. هرچند مکانیسم های اکسیداتیو که ROS را جمع آوری می کنند، به وسیله سیستم های آنزیمی اکسیداتیو با وزن مولکولی کم، اندام را از آثار مخرب استرس اکسیداتیو محافظت می کند. در شرایط طبیعی این سیستم های دفاعی آنتی اکسیدانی قادر هستند کهROS راسمیّت زدایی کنند و ماکرومولکول های سلولی و اندامک ها را از تخریب محافظت کنند. اگرچه تحت شرایط اکسیداتیوی بیش از حد، آنتی اکسیدان های سلولی کاهش می یابند وROS می تواند ترکیبات سلولی را تخریب و با فعالیت های بحرانی سلولی تداخل ایجاد کند ([Srinivas, Tan, Vellayappan, & Jeyasekharan, 2019](#_ENREF_41)).

زمانی که تعادل حیاتی بین نسل رادیکال آزاد و دفاع آنتی اکسیدانی نامطلوب شود. میتواند منجر به آسیب اکسیداتیو شود، این آسیب اکسیداتیو می تواند توسط سیستم های دفاعی endogenous مانند: کاتالاز، سوپراکسیددسموتاز، سیستم گلوتاتیون پراکسیداز، امّا این سیستم ها کاملاً کار آمد نیستند. اگرچه پاتوژنز فیبروزیس کبدی کاملاً مشخص نشده است اما بدون شک نمونه های واکنشگر اکسیژن(Reactive Oxygen Species=ROS) نقش مهمی در تغیرات پاتولوژی کبد دارند. آسیب اکسیداتیو فرضیه ارائه شده است به ایفای نقش کلیدی در بیماری های قلبی و عروقی، شروع سرطان، تشکیل آب مروارید، روند پیری، بیماری های التهابی و انواع اختلالات عصبی ([Sies & Jones, 2020](#_ENREF_39)).

* 1. **سیستم های مقابله با آسیب رادیکال های آزاد**

سیستم های حفاظتی آنزیماتیک: شامل آنزیم های سوپر اکسید دیسموتاز،کاتالاز و گلوتاتیون پر اکسیداز می باشد. سیستم های حفاظتی غیر آنزیماتیک: ویتامین های آنتی اکسیدان، آنتی اکسیدان های با وزن مولکولی پایین مثل گلوتاتیون، پروتین های که به مقدار کم در بدن وجو دارند و از عملکرد یون های آهن و مس جلوگیری می کنند مثل ترانسفرین ([Noctor, Reichheld, & Foyer, 2018](#_ENREF_26)).

آنتی اکسیدان ها

از اصطلاح آنتی اکسیدان اغلب در متون بیولوژي و پزشکی استفاده می شود. طبق تعریف جدید هر ماده اي که در غلظت کم، اکسیداسیون سوبستراي اصلی را به طور چشم گیري مهار کند یا به تاخیر اندازد، آنتی اکسیدان نامیده می شود و آنتی اکسیدان ها باعث مهار رادیکال هاي آزاد می شوند. تحقیقات اخیر نشان می دهد که آنتی اکسیدان ها با منشا خارجی ( اگزوژن ) در کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از ورزش نقش عمده اي دارند. آنتی اکسیدان هاي اگزوژن با آنتی اکسیدان هاي درون زاد (اندوژن ) اثر تعاونی دارند. امروزه متخصصان سلامت، توجه ویژه اي به مصرف محصولات طبیعی و مکمل هاي شیمیایی جهت کاهش و به تعویق انداختن زمان ایجاد صدمات ناشی از اکسیداسیون در بافت ها دارند. پلی فنول ها ترکیبات زیستی با منشا گیاهی هستند که حداقل دو گروه هیدروکسیل دارند. پلی فنول ها به چهار زیر کلاس شامل فلاونوئیدها، اسیدهاي فنولیک، استیلبن ها و لیگنان ها تقسیم می شوند. عمده اثرات مفید پلی فنول ها به خاصیت آنتی اکسیدانی آن ها بر می گردد ([Santos-Sánchez, Salas-Coronado, Villanueva-Cañongo, & Hernández-Carlos, 2019](#_ENREF_35)).

**آمیلوئید ها**

**آمیلوئید پروتئین غیرطبیعی است که معمولاً در مغز استخوان ایجاد می گردد و می تواند در هریک از بافت ها یا اندام های شما رسوب کند. آمیلوئیدها مربوط به فیبروزهای غیرطبیعی و پروتئین‌دار در خارج سلول می‌باشند که در اندام‌ها و بافت‌ها می‌توانند ته‌نشین شوند. آمیلوئید پروتئینی است با ساختار صفحه ای شکل** (plate form) **و از نظر ساختار سه بعدی صفحات چین خورده ای است که این صفحات به وسیله پیوندهای مولکولی به یکدیگر متصل اند. این صفحات چین خورده در میکروسکوپ الکترونی به صورت نوارهای ریزی دیده می شوند که به موازات یکدیگر دسته هایی از میله های نواری شکل را تشکیل می دهند و در جاهای مختلف ممکن است رسوب کنند و بیماری ایجاد کنند (**[**Chiti & Dobson, 2016**](#_ENREF_7)**).**

## **گياهان دارويي در جهان و ايران**

در بین ملل جهان، مصریان قدیم را باید نخستین ملتی دانست که از گیاهان دارویی به طور غیر قابل تصوری استفاده می‌نمودند. استفاده از خواص گیاهان جهت درمان بیماری‌ها، نزد ملل هند و اروپایی، رواج فراوان داشته است. دانشمندان یونانی نظیر تئوفراست، بقراط، ارسطو، جالینوس اشخاص نامداری در جهان بودند که در زمینه‌ی درمان‌های گیاهی خدماتی بسیار ارزنده به جامعه‌ی بشری عرضه نمودند. در غالب کشورهای جهان، مراکزی وجود دارد که در آن‌ها، گیاهان مفید دارویی و فرآورده‌های آن‌ها در معرض استفاده‌ی مردم قرار می‌گیرد. زیرا به علت اعتقادی که مردم به اثرات درمانی گیاهان و بی‌زیان بودن آن‌ها دارند، به مواد شیمیایی پناه نمی‌برند و از گیاهان معرق استفاده می‌کنند ([Sharafzadeh & Alizadeh, 2012](#_ENREF_38)).

به طور کلی گیاهان دارویی بیشتر در نواحی معتدل می‌رویند، ولی برخی از تیره‌های گیاهی واجد گیاهان دارویی که گستردگی بیشتری نیز دارند، به نواحی گرمسیری و مدیترانه‌ای تعلق دارند. جایگاه گروهی یا جغرافیایی برخی از گیاهان دارویی شناخته شده در جهان عبارتند از: اروپا، منطقه‌ی مدیترانه، آسیای غربی و مرکزی، جنوب آسیا (شبه قاره‌ی هند)، آسیای شرقی و جنوب شرقی، آفریقا، آمریکا، استرالیا. توزیع جغرافیایی و پراکندگی گیاهان دارویی و ادویه‌ای در دو ناحیه‌گرمسیری و نیمه‌گرمسیری و ناحیه‌ی معتدل، نشانگر اقلیم مناسب برای کشت این گیاهان است ([Van Wyk & Wink, 2018](#_ENREF_44)).

کشور کهن ایران از نظر گیاهان دارویی توانمندی کم‌نظیری دارد. از نظر تنوع گیاهی وجود بیش از 10000 گونه که 3000 گونه آن بومی و اختصاصی است، بیانگر غنی بودن فلور گیاهی کشور است. نکته جالب برای یک مقایسه‌ی ساده این‌که تعداد گونه‌های گیاهی که در ایران رویش دارند از تعداد گونه‌های گیاهی در تمام اروپا بیشتر است. از میان کتب و تعالیم پزشکی، می‌توان از اشخاص نامداری مانند محمد ابن زکریای رازی، علی ابن عباس، مجوسی، ابن سینا، ابن مندویه، ابن هندو و سید اسماعیل رازی یاد نمود. هم چنین اولین کتاب اطلاعات داروسازی توسط شاهپور سهل در دانشگاه جندی شاپور تدوین و به جامعه بشری عرضه گردید. ازجمله اقدامات در سالیان اخیر می‌توان به تهیه و تدوین فهرست گیاهان دارویی متداول در طب سنتی و فهرست عرقیات گیاهی متداول اشاره نمود ([Dar, Shahnawaz, & Qazi, 2017](#_ENREF_9)).

### **مزایای استفاده از گیاهان دارویی**

کم بودن عوارض جانبی، عدم مقاومت پاتوژنی در برابر داروهای گیاهی در مقایسه با داروهای سنتزی یا شیمیایی، پایین بودن هزینه‌ی تولید آن‌ها، دسترسی آسان و عدم آلودگی محیط زیست از عوامل مهم استفاده از داروهای گیاهی در درمان عوامل میکروبی به حساب می‌آیند. ترکیب‌های ثانویه در گیاهان، به دلیل نقش حفاظت در مقابل عوامل بیماری‌زا یا انگل‌های گیاهی نظیر قارچ‌ها، باکتری‌ها، نماتدها و ویروس‌ها از اهمیت فراوانی برخوردار است. اين تركيبات كه داراي خاصيت ضد باكتري، قارچي و ويروسي در برخي گونه هاي گياهي مي باشند، معروف به فيتوآلكسين‌ها [[1]](#footnote-1) هستند كه وجود اين تركيبات يكي از دلايل درمان با داروهاي گياهي است ([Van Wyk & Wink, 2018](#_ENREF_44)).

فرآیند تولید این نوع ترکیب‌ها به صورتی است که گیاه پس از حمله عامل بیماری‌زا و آلودگی به واسطه‌ی mRNA شروع به کد کردن ژن‌های آنزیم‌های بیوسنتزی می‌کند. سپس این ترکیب‌ها در سلول و بافت‌های اختصاصی ساخته می‌شوند و به تدریج غلظت آن‌ها افزایش می‌یابد. در نهایت این ترکیب‌ها می‌توانند از گستره‌ی هجوم عوامل بیماری‌زا، آفات و چراکننده‌ها ممانعت به عمل آورند. برای نمونه، وجود ایزو‌فلانوئیدها (گروه فنل‌ها)، و سزکوئی‌ترپن‌ها (گروه ترپن‌ها) در برخی از گونه‌های گیاهی، در مقایسه با سایر ترکیب‌های ثانویه از نقش فیتوآلکسینی مهم‌تری برخوردارند. شایان ذکر است که فیتوآلکسین‌ها قبل از آلودگی گیاهان به عوامل بیماری‌زا وجود نداشته ولی به سرعت طی چند ساعت پس از سرایت عامل بیماری‌زا، تولید شده، به محل آلودگی انتقال می‌یابند([Rafieian-Kopaei, 2012](#_ENREF_30)).

توماس کریستی معتقد است که هر قدر پیشرفت علم، موجبات کشف آلکالوییدها و گلوکوزیدهای جدید و یا سنتز این مواد را فراهم سازد، هیچ‌گاه نخواهد توانست ارزش گیاهان تولید کننده‌ی ‌مواد مذکور را از بین ببرد و‌آن هم به این دلیل است که به کار بردن مواد مؤثره به صورت خالص، غالباً مسمومیت‌هایی به وجود می‌‌‌‌‌‌‌‌‌‌‌‌‌‌‌‌‌‌‌‌‌آورد ولی با مصرف گیاهان مفید که مقادیر کمتری از مواد مذکور در بر دارند، هیچ‌گونه اثر سوئی در اعضای حساس بدن به وجود نمی‌آید و چون متعادل کردن اثر درمانی یک ماده‌ی مؤثره گیاهی که به حالت خالص به کار می‌رود، با افزودن ترکیبات مختلف، تقریباً به نحوی که مورد نظر است میسر نمی‌باشد، از این جهت امتیاز و برتری گیاهان در طبابت ، همیشه پایدار باقی خواهد ماند ([Budovsky, Yarmolinsky, & Ben‐Shabat, 2015](#_ENREF_4)).

### **معایب استفاده از گیاهان دارویی**

یکی از معایب استفاده از داروهای گیاهی محدودیت دسترسی به برخی گونه‌های گیاهی در همه‌ی فصول سال است. از دیگر معایب این دسته داروها این است که زمان درمان با داروهای گیاهی بسیار طولانی بوده ودر حال حاضر تیمار با این منابع دارویی جهت کنترل بیماری‌های اپیدمیک مؤثر نمی‌باشد ([Mamedov, 2012](#_ENREF_22)).

اندام‌های خشک شده و مؤثر گیاهان حتی اگر دور از نور یا رطوبت و یا در شیشه‌های در بسته به مدتی طولانی قرار گیرند، از اثرات درمانی آن‌ها کاسته می‌شود و یا آن‌که انواع اسانس‌دار این گیاهان، به کلی عاری از اسانس می‌گردند که خود موجبات بی‌تأثیر شدن آن‌ها را در درمان بیماری‌ها فراهم می‌آورد و چون رعایت این امر در مورد گیاهان اسانس‌دار، کاملاً ضروری است و همواره باید دقت به عمل آید که که از انواع تازه‌ی آن‌ها استفاده گردد، از این جهت پیش‌بینی لازم جهت نگهداری مقدار کافی از بعضی گیاهان دارویی که در صورت کهنه شدن، اثرات درمانی خود را به طور کامل یا ناقص از دست می‌دهند، کاری بسیار مشکل است. از پرورش گیاهان، معمولاً با همه‌ی احتیاط‌های لازم که جهت تأمین شرایط ضروری، به عمل می‌آید، هیچگاه یک گیاه مشابه که میزان ماده‌ی مؤثره‌ی آن با نوع وحشی منطبق باشد، به بار نمی‌‌آید و این خود یکی از مشکلاتی است که در استفاده از گیاهان دارویی پیش می‌آید. به علت همین عدم انطباق نوع پرورش یافته با گیاه وحشی است که سنجش میزان ماده‌ مؤثره باید قبل از مصرف، در گیاهان انجام گیرد. زیرا اگر این گیاهان به مقادیر کم به کار روند ممکن است اثر درمانی ظاهر ننمایند و اگر به مقادیر نسبتاً زیاد مصرف گردند ممکن است به علت دارا بودن مقادیر زیادی از ماده‌ی مؤثره، خطراتی به بار آورند ([Srivastava, Lambert, & Vietmeyer, 2017](#_ENREF_42)).

## 

## **معرفی گیاه مرزه**

جنس مرزه (*Satureja*) یکی از جنس‌های خانواده نعناعیان (Lamiaceae) متعلق به زیر خانواده Nepetoideae و قبیله Mentheaeمی‌باشد. از نظر فیلو ژنتیکی به جنس‌های *Gonstscharovia* و *Calamintha*، *Acinos*، *Clinopodium* و *Micromeria* نزدیک می‌باشد. مبدأ پیدایش *Satureja* دوران سوم زمین شناسی می‌باشد که از این دوران در رویشگاه‌های خشک گسترش یافته است. به عقیده پلینی نام *Satureja* از کلمه لاتین Satureja به معنی Saturate (اشباع شدن) گرفته‌ شده و این به دلیل استفاده از این گیاهان در غذا می‌باشد. جنس مرزه در حدود 235 گونه دارد. این جنس در بررسی گیاه‌شناسان مختلف به طور بسیار متفاوت ارائه گردیده و مرور بر منابع جدایی 17 جنس از آن نشان می‌دهد چهار جنس شامل*Calamintha* ، *Gardoquia*، *Micromeria* و *Satureja* را معرفی کرده است. بنتهام جنس‌های *Clinopodium* و *Acinos* را در جنس *Calamintha* ادغام نموده و در (Section) هایی تحت عنوان این جنس‌ها قرار داده است. در حالی‌که (Briquet, 1895-1897) تنها یک جنس را پذیرفته و همه گونه‌های متعلق به گروه را تحت عنوان *Satureja* معرفی می‌نماید. فلورهای مدرن اروپا و آسیا، چهار چوب کوچکتری برای جنس در نظر گرفته‌اند، مثلاً در فلور اروپا پنج جنس متفاوت (*Clinopodium* ، *Calamintha*، *Acinos*، *Satureja* و *Micromeria*) و هم‌چنین در فلور‌های شوروی، چین، ترکیه و ایران با توجه به پراکندگی جغرافیایی جنس‌ها کم و بیش روش مشابهی به کار برده شده است. در جدیدترین بررسی انجام شده با استفاده از روش‌های مولکولی، روش محدودی برای این جنس تعیین شده و کلیه گونه‌های متعلق به آمریکا از جنس *Satureja* جدا و در جنس‌های *Calamintha* و *Clinopodium* قرار داده شده‌اند([Novak, Bahoo, Mitteregger, & Franz, 2006](#_ENREF_27)).

### بررسی جایگاه سیستماتیکی تاکسون مورد تحقیق

جنس مرزه متعلق به سلسله‌ی گیاهان[[2]](#footnote-2)، زیر سلسله‌ی امبریوفیت‌ها یا فارسی ان, گیاهان آوند‌دار[[3]](#footnote-3)، شاخه‌اسپرماتوفیت‌ها[[4]](#footnote-4) (گیاهان دانه‌دار)، بخش آنژیوسپرم‌ها[[5]](#footnote-5) (گیاهان نهان‌دانگان)، رده‌ی دولپه‌‌‌‌‌‌‌‌‌‌‌‌‌‌‌‌ای‌ها[[6]](#footnote-6)، راسته‌یلامیال[[7]](#footnote-7)، تیره‌ی نعناعیان است ([Novak et al., 2006](#_ENREF_27)).

### 

### خصوصیات ظاهری تیره نعناعیان

گیاهان علفی،‌ درختچه‌ای یا درختی، ساقه اغلب در برش عرضی چهارگوش، اغلب دارای ایریدوئید و گلیکوزیدهای فنولیک. کرک‌ها سر غده‌ای، با روغن‌های اتری (از جمله ترپنوئیدها)، و ساده، غیر غده‌ای، در صورت وجود کرک‌های غیر غده‌ای معمولاً چند‌سلولی (و یک ردیفی) یا مخلوطی از کرک‌های چند‌سلولی و تک‌سلولی. برگ‌ها معمولاً متقابل، گاهی چرخه‌ای، ساده، گاهی لوب‌دار یا پاره پاره، مرکب شانه‌ای یا پنجه‌ای، کامل تا دندانه‌ اره‌ای، گوشواره وجود ندارد. گل‌آذین دارای محور اصلی نامحدود و شاخه‌های جانبی (انشعابات گرزنی) محدود، اغلب انبوه شده به صورت چرخه‌ای کاذب، انتهایی یا جانبی است. گل‌ها دو جنس، معمولاً دو طرفه، کاسبرگ‌ها معمولاً 5 عدد، پیوسته، کاسه شعاعی تا دو طرفه، لوله‌ای، فانوس مانند، یا قیف‌ مانند، پایا، گاهی در میوه بزرگ شده، گلبرگ‌ها معمولاً 5 عدد،‌ پیوسته، معمولاً 5 عدد، پیوسته، معمولاً 2 لبه، لوب‌ها همپوش است. پرچم‌ها 4 عدد، دی‌‌ دینام، گاهی تحلیل‌رفته به 2 عدد، میله‌ها متصل به جام، دانه‌های گرده سه شیاری یا شش شیاری هستند. برچه‌ها 2 عدد، پیوسته، تخمدان فوقانی، بدون لوب تا عمیقاً 4 لوبه،‌ 2 حجره‌ای اما به علت ایجاد دیواره‌های کاذب 4 حجره‌ای به نظر می‌آیند. تمکن محوری، خامه معمولاً در رأس تقسیم شده، انتهایی تا زیر تخمدانی، کلاله 2 عدد، ریز و ناپیدا در نوک شاخه‌های کلاله بوده، تخمک‌ها 2 عدد در هر برچه (یعنی در هر حجره ظاهری 1 عدد) هرکدام از پهلو چسبیده (چسبیده به دیواره کاذب کاملاً نزدیک به لبه‌های برگشته برچه)، با یک پوسته و مادر مولد تخمک با دیواره‌ی نازک است. میوه فندقه با 4-1 هسته، نیام 4 دانه‌ای نا‌شکوفا، یا شیزوکارپی که به 4 فندقچه یا 4 شفتچه می‌شکند، اندوسپرم اندک یا وجود ندارد. گل‌های خوش‌نمای تیره‌ی نعناعیان توسط زنبورهای عسل، زنبورها، پروانه‌ها، بیدها، مگس‌ها، سوسک‌ها و پرندگان گرده‌افشانی می‌شوند. خمیده بودن لب بالایی جام دولبه معمولاً از پرچم‌ها و کلاله‌ها حفاظت می‌کند، در حالی که لب پایینی یک سکوی فرود را به وجود می‌آورد و اغلب خوش‌نما است. هنگامی که گرده‌افشان به دنبال شهد می‌گردد سر و پشت آن به گرده آغشته می‌شود. اما در جنس *Ocimum* و وابستگان آن پرچم‌ها چسبیده به لب پایینی قرار دارند و گرده‌ها بر روی سطح شکمی گرده‌افشان رسوب می‌کنند. اکثر گونه‌ها دارای بساک پیش‌رس‌اند و برون‌گشنی در آن‌ها رایج است. برخی از گونه‌های *Lamium* گل‌های بسته لقاح دارند. گونه‌های دارای میوه‌های شفتی معمولاً توسط پرندگان یا پستانداران پراکنده می‌شوند. فندقچه‌های برخی از گونه‌ها به وسیله‌ی باد یا به هم خوردن گیاه از کاسه‌ی پایا تکانده می‌شوند. فندقچه‌ها هم‌چنین می‌توانند به وسیله‌ی پرندگان خورده شوند یا به وسیله‌ی آب پراکنده شوند ([Karpiński, 2020](#_ENREF_19); [Raja, 2012](#_ENREF_31)).

### اهمیت تیره نعناعیان

این تیره شامل گونه‌های زیادی است که به خاطر تولید روغن‌های اسانسی یا استفاده از آن‌ها به عنوان ادویه از نظر اقتصادی با ارزش‌اند از جمله *Mentha* (پونه، نعناع)، *Lavandula* (اسطوخودوس)، *Marrubium* (فراسیون)، *Nepeta* (پونه‌سا)، *Ocimum* (ریحان)، *Origanum* (مرزنگوش)، *Rosmarinus* (رومارون)، *Salvia* (مریم‌گلی، سالوی)، *Satureja* (مرزه) و *Thymus* (آویشن). غده‌های چند گونه از *Stachys* خوراکی‌اند. *Tectona* یک درخت چوبی مهم است. جنس‌های زیادی از جمله *Ajuga* (لبدیسی)، *Plectranthus*، *Clerodendrum*، *Callicarpa*، *Holmskioldia* (کلاه‌ چینی)، *Monarda* (بلسان زنبور عسلی)، *Pycnanthemum* (نعناع کوهی)، *Scutellaria*،  *Salvia* (مریم‌گلی) دارای گونه‌های زینتی هستند ([Panizzi, Flamini, Cioni, & Morelli, 2017](#_ENREF_28)).

## 

## جنس مرزه

مرزه‌ها گیاهانی یک‌ساله یا چندساله علفی یا با قاعده چوبی و به فرم بالشتکی هستند. گیاهانی معطر بوده و دارای ساقه‌های متعدد، افراشته یا خیزان و یا ساقه‌ها کمانی هستند. اغلب گیاهان جنس مرزه کوتاه قد بوده و ارتفاع آن حداکثر تا 60 سانتی‌متر است. ساقه و شاخه‌ها معمولاً پوشیده از کرک‌های به شکل‌های مختلف هستند ([Bezić, Šamanić, Dunkić, Besendorfer, & Puizina, 2019](#_ENREF_2)).

کرک‌ها در تمام سطح ساقه و شاخه‌ها را به طور یکنواخت می‌پوشاند، هم‌چنین در قسمت‌های مختلف گیاه دیده می‌شوند. کرک‌ها ساده و به طور گسترده و یا خوابیده هستند و یا ممکن است زگیل مانند و غده‌دار باشند. غده‌های ترشحی بدون پایک و به شکل دایره‌ای کوچک و در روی اندام‌های مختلف دیده می‌شود. تراکم کرک‌ها در گونه‌های مختلف متغیر است و بر اساس آن گیاه به رنگ‌های سبز و یا خاکستری و نقره ای دیده می‌شود. با توجه به تراکم کرک‌های غده‌دار و غده‌های ترشحی، میزان عطر گونه‌های مختلف و اساس آن‌ها متغیر می‌باشد. غده‌های ترشحی معمولاً در سطح تحتانی برگ با تراکم بیشتر دیده می‌شوند ولی در بعضی از گونه‌ها در هر دو سطح برگ با تراکم یکسان دیده می‌شوند. رنگ غده‌های ترشحی از سبز تا زرد و یا قرمز و نارنجی متغیر است ([Satıl & Kaya, 2019](#_ENREF_36)).

برگ‌ها متقابل، دارای دمبرگ‌های کوتاه یا تقریباً بدون دمبرگ هستند. سطح برگ‌ها ممکن است صاف و مسطح بوده یا دارای تا خوردگی و ناودانی شکل و یا حاشیه برگ ممکن است به طرف بیرون دارای تاخوردگی و به عبارت دیگر برون پیچ باشد. معمولاً مجموعه‌ای از برگ‌های کوچک در محور برگ‌های اصلی دیده می‌شوند. برگ‌ها به شکل‌های مختلف خطی، مستطیلی، قاشقی، سر نیزه‌ای، تخم‌مرغی می‌باشند. شکل برگ‌ها یکی از صفاتی است که در شناسایی و تفکیک گونه‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد ([Suárez, Echandi, Ulate, & Cicció, 2013](#_ENREF_43)).

گل‌آذین گرزن به صورت چرخه‌های جدا از هم با 2 تا 17 گل در محور برگ‌های بالایی ظاهر می‌شود. چرخه‌های گل در انتها به هم نزدیک شده و گاهی گل‌آذین سنبله مانند را تشکیل می‌دهند. چرخه گل‌ها ممکن است دارای دم گل‌آذین و یا بدون دم گل‌آذین باشند. براکته‌ها خطی، راست یا خمیده و از کاسه گل کوتاه‌تر هستند. گل‌ها دوجنس بوده و به رنگ‌های سفید، صورتی، قرمز، شیری، لیمویی، ارغوانی یا بنفش دیده می‌شوند. کاسه گل لوله‌ای و یا استکانی و دارای 10 تا 13 رگه است و ممکن است دارای پنج دندانه کم و بیش مساوی و دارای دو لبه نامشخص باشد و یا دندانه‌ها نامنظم بوده و در دو لبه مشخص دیده شوند. لوله کاسه ممکن است راست و یا کم و بیش قوزدار باشد. گلوی کاسه کم و بیش کرک‌دار است و در صورت وجود دو لبه مشخص، لبه پایینی دارای بریدگی عمیق است. جام گل دارای دو لبه مشخص و لوله راست می‌باشد؛ لوله جام گل ممکن است درون کاسه مخفی و یا بلندتر از آن بوده و مشخصاً از کاسه بیرون آمده باشد؛ لبه بالایی راست و دارای بریدگی در وسط بوده و به شکل دو دندانه نوک گرد و یا کم و بیش نوک تیز باشند؛ لبه پایینی دارای سه لوب کم و بیش یک اندازه و به حالت گسترده است. اندازه گل‌ها بین 3 تا 20 میلی‌متر و در گونه‌های مختلف متغیر می‌باشد. پرچم‌ها 4 عدد بوده و بساک‌ها دور از یکدیگر و توسط یک رابط که در وسط پهن‌تر است از یکدیگر جدا می‌شوند، درون لوله گل مخفی و یا از آن خارج می‌شوند. کلاله دارای دو لوب مساوی و دور از یکدیگر است.



شکل1. مرزه ([Satıl & Kaya, 2019](#_ENREF_36)).

دانه گرده دارای شش شیار و جور قطب است. تزئینات سطح گرده معمولاً از نوع شبکه‌ای است. مادگی از تخمدان چهار‌خانه تشکیل شده و میوه فندقه‌ای کوچک به طول حدود 1 تا 2 میلی‌متر، تخم‌مرغی، مستطیلی می‌باشد و در محل اتصال به نهنج با دو لوب مورب کوتاه، سطح فندقه صاف، گاهی دارای رگه‌های مشخص در سطح پشتی است ([Cabana, Silva, Valentão, Viturro, & Andrade, 2013](#_ENREF_5)).

* 1. **فیتو‌شیمی جنس مرزه**

مهم‌ترین ترکیبات شیمیایی موجود در جنس مرزه ترپنوئیدها و فلاونوئیدها هستند. گروه اول از تأکید و توجه بیشتری توسط محققان برخوردار است و گزارش‌های متعددی از تجزیه ترکیبات شیمیایی اسانس در گونه‌های مرزه وجود دارد. مهم‌ترین ترکیبات شیمیایی اسانس مربوط به گروه منوترپنوئیدها است و از میان آن‌ها دو ترکیب فنلی تیمول و کارواکرول جزء ترکیبات شاخص به حساب می‌آیند. ترکیب شاخص دیگر در این جنس پاراسیمن (P-Cymene) است که مانند دو ترکیب یاد شده جزء منوترپن‌های تک‌‌حلقه‌ای می‌باشد. از دیگر ترکیبات این گروه که در جنس مرزه جزء ترکیبات شاخص به حساب می‌آید گاما ترپینن (-Terpinene ) است که در تعدادی از گونه‌ها به مقدار بیش از 10 درصد وجود دارد. لیمونن (Limonen) و ا و 8 ـ سینئول (1,8 Cineole) از دیگر منوترپن‌های تک‌حلقه‌ای هستند که در تعدادی از گونه‌های این جنس حضور دارند. از منوترپن‌های دو حلقه‌ای که به میزان متوسط در گونه‌های این جنس حضور دارند می‌توان از بورنئول (Borneol) و کامفور (Camphor)نام برد و از منو‌ترپن‌های غیر‌حلقوی ترکیباتی نظیر ژرانیول[[8]](#footnote-8) به میزان بیش از 7٪ در گونه *S. icarica* از کشور ترکیه گزارش شده است (Azaz *et al*., 2002). ترکیب نرال (Neral) نیز از این گروه ترکیبات است که در گونه‌های مرزه به میزان نسبتاً متوسط گزارش شده است(Sefidkon & Jamzad, 2006). سزکوئی‌ترپن‌ها در بعضی از گونه‌های مرزه با غلظت بیشتر از 10 ٪ حضور دارند. مهم‌ترین سزکوئی‌ترپن‌هایی که در گونه‌های مرزه گزارش شده‌اند عبارتند از : گرماکرن ـ دی (Germacrene D)، بتا ـ بیزابولن- bisabolene) ، اسپاتولنول (Spathulenol)، بتاـ کاریوفیلنcaryophyllene) (، بی سایکلو گرماکرن Bicyclogermacrene) (، گاما ـ ائو دسمول- Eudesmol) (، بتا ائو دسمول Eudesmol)، آلفا ـ ائو دسمول) - Eudesmol، گاما مورولن Muurolene)- و هشت ـ سدرن ـ 13 اول ( 8 – Cedrene – 13 – ol) ([Frezza, Venditti, Serafini, & Bianco, 2019](#_ENREF_13)).

* 1. خواص درمانی جنس مرزه

کارواکرول و دیگر مونوترپن‌ها، چربی‌دوست بوده و به راحتی با غشاهای پروتئینی و غشای سلولی زنده ترکیب می‌شوند. وجود این ویژگی می‌تواند تا حدی توجیه‌کننده اثرات ضد تشنجی، ادرار آوری، میکروب‌کشی و تحریک ترشح در این گیاه باشد. مرزه به عنوان یک گیاه دارویی مؤثر در طب سنتی به ثبت رسیده است. سرشاخه‌های گل‌دار و به طور کلی قسمت‌های هوایی گیاه مرزه که معمولاً در زمان گل‌دهی چیده می‌شود و در سایه خشک می‌گردد، بوی معطر و اثر نیرودهنده، تسهیل‌کننده عمل هضم، مقوی معده، مدر، بادشکن، و به طور خفیف اثر قابض، رفع اسهال و ضد کرم دارد. این گیاه عمدتاً برای درمان ناراحتی‌های معده شامل سوء‌هاضمه، نفخ و قولنج استفاده می‌شود. علاوه بر این مرزه برای درمان عفونت‌های مجاری تنفسی و ادراری و نیز عفونت‌های قارچی استفاده می‌گردد. کل گیاه یا اسانس روغنی آن برای درمان زخم‌ها، سوختگی‌ها و عفونت‌های پوستی استفاده می‌شود ([Suárez et al., 2013](#_ENREF_43)).

* 1. اسانس و مواد مؤثره

اسانس و مواد مؤثره در قسمت‌های مختلف گیاهان، باعث بهره‌برداری از گیاه در زمان‌های مختلف سال می‌شود که آن قسمت از گیاه دارای حداکثر مواد مؤثره می‌باشد. این اندام‌ها عبارت است از: گل نظیر گیاهان رز و بنفشه؛ گل و برگ: مثل گیاهان نعناع و اکلیل کوهی؛ برگ و ساقه: نظیر گیاهان عطر چای ودارچین؛ پوست تنه: شامل گونه گیاهی دارچین؛ چوب: نظیر گیاهان صندل؛ میوه: نظیر گیاهان برگاموت، لیمو و پرتقال؛ دانه: مانند گیاهان بادام تلخ، رازیانه و زیره؛ صمغ: مانند گیاهان باریجه و آنغوزه. در این گیاهان، مواد مؤثره مختلفی، نظیر آلکالوئیدها (کافئین، مورفین، تئین و...)، گلیکوزیدها (آمیگدالین در گیاهان خانواده گل سرخ، پروانه آسا و ...)، اسانس‌ها، موسیلاژ و ساپونین وجود دارد. اسانس‌ها از ترکیبات متفاوتی برخوردارند، بنابراین استخراج آن‌ها از گیاهان به یک صورت انجام نمی‌گیرد و برای استخراج هر یک باید از روش مناسب خاص خود استفاده نمود ([Ebadollahi, Ziaee, & Palla, 2020](#_ENREF_10)).

* 1. **آلبومین سرم گاوی**

آلبومین در بدن انسان در کبد ساخته شده و میزان تولید آن حدود ۱۵ گرم در روز است. نیمه‌عمر آلبومین در بدن ۲۰ روز است و روزانه نزدیک به ۴٪ تخریب و جایگزین می‌گردد. و در واقع پروتئین اصلی خون است. پروتئین ساده و فاقد کربوهیدرات است. در pH فیزیولوژیک بار منفی دارد. وظیفه آن حفظ فشار اسمزی خون است؛ بنابراین هنگام دهیراتاسیون که آلبومین کاهش می‌یابد ما شاهد خیز یا ادم خواهیم بود. از نظر کاربرد و مقدار یکی از مهمترین پروتئین‌های درون پلاسما بوده و جزو پروتئین‌هایی است که گلیکوزیله نمی‌شود. عموماً به گروهی از پروتئینهای محلول در آب گفته می‌شود. آلبومین از سال ١٣١٩ در دسترس پزشکان بوده است. آلبومین در سه شکل قابل دسترس است. نوع سرم انسانی یا سرم آلبومین نوع آلبومین گاوی که مورد استفاده آزمایشگاهی دارد نوع آلبومین موجود در مواد ارگانیک مانند سفیده تخم‌مرغ آلبومین در بدن انسان کارهای زیر را اجرا می‌کند: نگهداری فشار اُنکتیک – فشار اُنکُتیک فشاری اسمزی است که بواسطه پروتئین در خون پدید می‌آید. – در مقدار ثابت ترابری و حمل هورمون‌های تیروئید ترابردن و حمل اسیدهای چرب آزاد ترابری و حمل بیلیروبین غیر کنژوگه بیشتر داروها توسط آلبومین در خون گردش می‌کنند تراز و تعدیل پی‌هاش خون سرم جنینی گاوی، FBS یا FCS بخشی از پلاسمای خون است که پس از انعقاد خون باقی می ماند که در طی این فرآیند، پروتئین پلاسمایی فیبرینوژن تبدیل به فیبرین شده و در لخته خون باقی می ماند. FBS از سیستم جریان خون بسته سیاهرگی جنین گاو در کشتارگاه تهیه می گردد. این سرم پر مصرف ترین نوع سرم در کشت سلولی است چراکه میزان آنتی بادی های آن در پایین ترین سطح و میزان فاکتور های رشد آن بسیار زیاد بوده که این امر انعطاف پذیری لازم برای استفاده در زمینه های گوناگون را به آن می دهد. پروتئین های گلوبولار و آلبومین سرم گاوی ( BSA ) اصلی ترین ترکیبات FBS را تشکیل می دهند. محیط غنی از پروتئین در FBS باعث حفظ و دوام سلول های کشت شده در محیط کشت و افزایش رشد، تقسیم و بقاء سلول ها می گردد. آلبومین گاوی (BSA) با غلظت22 گرم درصد کاربردهای متفاوتی در سرولوژی گروه‌های خونی دارد. این محصول می‌تواند باعث تقویت واکنش آنتی‌بادی‌های گروه‌های خونی شود که به طور مستقیم نمی‌توانند گلبول‌های قرمز را آگلوتینه کنند. همچنین می‌تواند واکنش‌های هماگلوتینین را در دستگاه‌های اتومات تعیین گروه خون و یا روش‌های آزمایش با میکروپلیت تقویت نماید. آلبومین سرم گاوی (BSA) همراه با آنتی‌هیومن گلوبوبین انسانی در آزمایشات سازگاری خون، غربالگری و شناسایی آنتی‌بادی مورد استفاده قرار می‌گیرد. محلول‌های با قدرت یونی پایین (Lowionic-strength saline, LISS ) که باعث می‌شود اتصال آنتی‌بادی به گلبول قرمز تسریع شود، محتوی گلیسین و یا مواد دیگر غیریونی است که مانع لیز گلبول قرمز در قدرت یونی پایین شود. این محلول‌های با قدرت یونی پایین همچنین می‌تواند محتوی آلبومین باشد. سرم آلبومین گاوی در محلول‌های الوت شده نیز استفاده می‌شود. الوشن باعث کنده شدن آنتی‌بادی از سطح گلبول قرمز حساس شده می‌شود. جدا کردن این آنتی‌بادی‌ها از سطح گلبول قرمز با تکنیک‌های متفاوتی صورت می‌گیرد. در الوشن آنتی‌بادی معمولا هدف حفظ و بازیافت آنتی‌بادی‌ها در یک فرم قابل استفاده است. محلول الوت شده بلافاصله باید آزمایش شود و در صورت تاخیر در آزمایش باید در آلبومین گاوی در غلظت نهایی 6% (w/v) فریز گردد. وقتی که تست آنتی‌گلوبولین با کلیه رآژنت‌ها مثبت می‌شود، گلبول قرمز باید با یک رآژنت خنثی کنترل شود. این رآژنت می‌تواند آلبومین گاوی 6% و یا سالین باشد ([Lin & Koenig, 2020](#_ENREF_21)).

* 1. **فناوري نانو**

اگر بتوانيم 100 اتم را در يک نانومتر مکعب قرار دهيم و هر اتم بتواند جزئي از صد قسمت باشد، آنگاه در حدود 100×100 راه متفاوت براي چيدن اتم‌ها در يک نانومتر مکعب خواهيم داشت. ، فاينمن در سال 1959، در سخنراني معروفش چنين گفت: «تا جايي که توانايي درکش را دارم، اصول فيزيک ساخت اجسام را به صورت اتم به اتم رد نمي‌کند. اين تلاش براي شکستن هيچ قانوني نيست، در اصل چيزي است که مي‌توان آن را انجام داد ولي در عمل تا کنون انجام نشده، چون ما بسيار بزرگ هستيم». نانو به معناي واقعي ريز است که همان يک ميلياردم متر است. کلمه نانو از نانوز[[9]](#footnote-9) گرفته شده که در زبان يوناني قديم به معناي کوتوله و يا هر چيز ديگر کوچک‌تر از حد معمول است. جهان ريز موجودات يا دنياي نانو شامل اتم‌ها، ماشين‌هاي مولکولي مانند ريبوزوم‌ها و اعضاي سلولي که پروتئين توليد مي‌کنند است. در فناوري نانو، رسيدن به ساختار نانو با دو روش امکان پذير است؛ روش‌هاي بالا به پائين و روش‌هاي پائين به بالا.روش بالا به پائين به تبديل مواد از اندازه ماکرو به اندازة نانو مربوط مي‌شود و روش پائين به بالا، به توليد محصولات، از مولکول‌هاي مجزا يا اتم‌ها، به ساختارها و مولکول‌هاي بزرگتر اشاره دارد. امروزه، فناوري نانو شامل پنج رشته عمده نانوالکترونيک، نانو مواد، فناوري نانومولکولي، فناوري نانوزيستي و ميکروسکوپي (با تفکيک‌­پذيري در مقياس نانو؛ نانوسکوپي)است. اگرچه مرزها نامعلوم است، اما هر يک از اين موارد مسيرهاي متفاوتي را در زمينة ايجاد فرصت‌هاي جديد نشان مي‌دهند.

رابطه فناوري نانو و زيست ‌فناوري را شايد بتوان به اين صورت بيان نمود که فناوري نانو، راه حل‌هاي جديدي براي تغيير شکل سامانه‌هاي زيستي ارائه مي‌کند و مي‌تواند زمينه وسيع فناوري را براي کاربرد در بعضي حوزه‌ها مانند فرآيندهاي زيستي در صنعت و پزشکي مولکولي، رسيدگي به تأثيرات زيست­‌محيطي نانوساختارها، بهبود سامانه‌هاي کشاورزي و غذايي (مانند افزايش محصولات کشاورزي، محصولات جديد غذايي، نگهداري غذا) وبهبود عملکرد انسان (مانند افزايش ظرفيت حسي، اتصال مغز و سامانة اعضا با نانوالکترونيک و مواد نانوساختار)، فراهم کند ([Hulla, Sahu, & Hayes, 2015](#_ENREF_17)).

به عبارتي، فناوري نانوزيستي، حاصل تعامل دو فناوري نوظهورزيستي و نانو است. فناوري نانو ابزار و فناوري‌هاي لازم براي بررسي و دگرگوني در سامانه‌هاي زيستي را فراهم مي‌کند و فناوري زيستي نيز مدل‌هايي را به فناوري نانو ارائه مي‌نمايد. به بياني ديگر،فناوري نانوزيستي، زمينه‌اي است که از اصول و روش‌هاي مقياس نانو براي درک و تغيير شکل سامانه‌هاي زيستي (زنده يا غيرزنده) استفاده مي‌کند و با استفاده از اصول و مواد زيستي،دستگاه‌ها و سامانه‌هاي جديدي را در مقياس نانو مي‌سازد ([Poole Jr & Owens, 2013](#_ENREF_29)).

اين فناوري نوظهور (فناوري نانو زيستي) آنقدر گسترده و متنوع است که هنوز تعريف واحد و جامعي براي آن ارائه نشده‌است؛به طوري که تعيين مرزهاي مشخص فناوري زيستي را بيشتر با کاربردهاي آن مي‌شناسند. ويژگي بارز فناوري نانو، باز کردن افقي جديد براي کاربرد نانوذرات در شيمي تجزيه است. نانوذرات در علوم نانو، ويژگي‌هاي فيزيکي و شيميايي منحصر به‌فردي دارند. بعضي از اين ويژگي‌ها، داراي جنبه‌هاي عالي براي حسگرهاي بيولوژيکي و شيميايي هستند. به­طور ويژه، ذراتي که بيشترين جذابيت را براي بسياري از کاربردهاي آناليز زيستي دارند، نانوذرات نيمه‌رساناي ذرات کوانتومي و ذرات کلوئيدي طلا هستند. قدرت و حوزة عمل نانوذرات به وسيلة همراه کردن آن­ها با واکنش‌هاي تشخيص زيستي و فرايندهاي الکترونيکي به ميزان زيادي افزايش مي‌يابد. بعضي از اين همراه کردن‌ها، به طور چشمگيري حساسيت ارزيابي‌هاي زيستي را افزايش مي‌دهد. هم‌اکنون توجه زيادي در استفاده از بيومولکول‌ها براي ساخت نانوساختارها و عملگرا کردن سطوح نانوذرات وجود دارد. اتصالات نانوذره‌ بيوپليمر، پتانسيل وسيعي براي تشخيص‌هاي DNA داشته و مي‌توانند اثر زيادي در شيمي تجزيه زيستي داشته باشند ([Bhushan, 2017](#_ENREF_3)).

در طول دهه گذشته استفاده از نانوذرات در تشخيص DNA افزايش يافته است ، پيشرفت‌هاي اخير در ذرات عامل دار شده با اوليگونوکلئوتيدها و ويژگي‌هاي سطحي آن­ها، راه را براي توسعه يک سري از سيستم‌هاي تشخيص زيستي کاربردي و جديد باز مي‌کند. ترکيب کردن اين توانايي‌هاي جديد براي کنترل اندازة ذره و ترکيب ساختماني، با تغييرات سطحي آسان اجازه دسترسي به پروب‌هاي نانوذره‌اي را که به طور شيميايي يا نوري بيان مي‌شوند، فراهم مي‌کند. اين پروب‌ها که در ارزيابي تشخيص زيستي به‌کارمي‌روند، در مقايسه با ارزيابي‌هاي متداول و قديمي داراي مزاياي زيادي هستند. علاوه بر ويژگي‌هاي تشخيصي و نوري که به وسيله مولکول‌هاي سطحي ايجاد مي‌شود، نانوذرات فلزي، الکتريسيته را نيز هدايت مي‌کنند و به سبب سطح بالايي که دارند، به عنوان کاتاليست کاملاً مفيد هستند و براي هدف‌هاي نوکلئيک اسيد، همة اين ويژگي‌هااجازه طراحي روش‌هاي زيادي را فراهم مي‌کند ([McNeil, 2005](#_ENREF_24)).

* 1. **تعاريف فناوري نانو و گستره آن**

فناوري نانو،واژه‌اي است کلي که به تمام فناوري‌هاي پيشرفته در عرصة کار با مقياس نانو اطلاق مي‌شود. معمولاً منظور از مقياس نانو، ابعادي در حدود 1/0 تا 100 نانومتر است. واژه فناوري نانواولين ‌بار توسط نوريوتانيگوچي [[10]](#footnote-10)استاد دانشگاه علوم توکيو در سال 1974 بر زبان‌ها جاري گرديد. او اين واژه را براي توصيف ساخت مواد و وسايل دقيقي که ابعاد آنها در حد نانومتر است، به‌کار برد. در سال 1986 اين واژه توسط کي اريکدکست[[11]](#footnote-11) در کتابي با عنوان «موتور آفرينش: آغاز دوران فناوري نانو» بازآفريني و تعريف مجدد شد. وي اين واژه را به شکل عميق‌تري در رسالة دکتري خود مورد بررسي قرار داده و بعدها آن را در کتابي با عنوان «نانوسامانه‌ها، ماشين‌هاي مولکولي، چگونگي ساخت و محاسبات آن­ها » توسعه داد. تعاريف زيادي براي فناوري نانو وجود دارد،سازمان ان ان آي[[12]](#footnote-12) در ايالات متحده تعريفي را براي فناوري نانو ارائه مي‌دهد که در بر گيرنده هر سه خصوصيت ذيل باشد:

1- توسعه فناوري و تحقيقات در سطوح اتمي، مولکولي و يا ماکرومولکولي در مقياس اندازه‌اي 1/0 تا 100 نانومتر.

2- خلق و استفاده از ساختارها، ابزار و سامانه‌هايي که به دليل دارا بودن اندازه کوچک خود، خواص و عملکرد نويني دارند.

3- توانايي کنترل يا دستکاري در سطوح اتمي ([Poole Jr & Owens, 2013](#_ENREF_29)).

بنابراين، علم فناوري نانو توانمندي توليد مواد، ابزارها و سيستم‌هاي جديد براي در دست گرفتن کنترل در سطوح مولکولي و اتمي، با استفاده از خواصي که در آن سطوح ظاهر مي‌شوند را داراست. البته بايد در نظر داشت که ممکن است اصول و قواعد معمولي علم شيمي و فيزيک در سطوح فوق، به دو دليل قابل اعمال نباشد.

1- خواص ذرات کوچک يک ماده با خواص توده‌هاي بزرگتر آن مي‌تواند متفاوت باشد؛

2- نسبت سطح به حجم در ذرات کوچک بسيار بالا مي‌رود و از آن­جا که خصوصيات در سطوح اتمي بسيار متفاوت است، اين امر باعث تغيير خصوصيات مواد به شکل غير قابل پيش‌­بيني مي‌شود.

افزايش نسبت مساحت سطحي به حجم که به تدريج با کاهش اندازه ذره رخ مي دهد، باعث غلبه يافتن رفتار اتم­هاي واقع در سطح ذره به رفتار اتم­هاي دروني مي شود. اين پديده بر خصوصيات ذره در حالت انزوا و بر تعاملات آن با ديگر مواد اثر مي گذارد. مساحت سطحي زياد، عاملي کليدي در کارکرد کاتاليزورها و ساختارهايي همچون الکترودها يا افزايش کارآيي فناوري­هايي همچون پيل سوختي و باتري­ها مي باشد. مساحت سطحي زياد نانوذرات باعث تعاملات زياد بين مواد مخلوط شده در نانوکامپوزيت­ها مي شود و خواص ويژه­اي همچون افزايش استحکام يا افزايش مقاومت حرارتي يا شيميايي را موجب مي شود. به محض آن­که ذرات به اندازه کافي کوچک شوند، شروع به رفتار مکانيک کوانتومي مي­کنند. خواص نقاط کوانتومي مثالي از اين دست است. اين نقاط گاهي اتم­هاي مصنوعي ناميده مي شوند؛ چون الکترون­هاي آزاد آن­ها مشابه الکترون­هاي محبوس در اتم­ها، حالات گسسته و مجازي از انرژي را اشغال مي کنند. علاوه بر اين، کوچک­تر بودن ابعاد نانوذرات از طول موج بحراني نور، آن­ها را نامرئي و شفاف مي نمايد. اين خاصيت باعث شده است تا نانوذرات براي مصارفي چون بسته بندي، مواد آرايشي و روکش­ها مناسب باشند. برخي از خواص نانوذرات با درک افزايش اثر اتم­هاي سطحي يا اثرات کوانتومي به راحتي قابل پيش بيني نيستند. مثلاً اخيراً نشان داده شده­است که «نانوکره­هاي» به خوبي شکل يافتۀ سيليکون به قطر 40 تا 100 نانومتر، نه تنها سخت تر از سيليکون مي­باشند بلکه از نظر سختي بين سافير و الماس قرار مي گيرند ([Emerich & Thanos, 2021](#_ENREF_12)).

در مثالي ديگر وقتي نقره به ذرات بسيار کوچک تبديل مي‌شود به صورت ماده‌اي ضدميکروب عمل مي‌کند. همچنين ذرات کوچک طلا (برخلاف تصور ما از رنگ طلا)، رنگ‌هاي متنوعي را از خود منعکس مي‌کنند .در آينده‌اي نه چندان دور،فناوري نانو بشر را قادر خواهد ساخت تا ماشين‌هايي را بسازد که توانايي محاسبه، حرکت، احساس محيط اطراف و حتي بازسازي خود را داشته باشند. از اين رو براي اين فناوري، کاربردهايي را در حوزه‌هاي مختلف از غذا، دارو،تشخيص پزشکي و بيوتکنولوژي تا الکترونيک، کامپيوتر، ارتباطات، حمل و نقل، انرژي، محيط زيست، هوافضا و امنيت ملي،برشمرده‌اند. سازه‌هاي نانو مي‌توانند باعث انقلاب در علوم و در تمام سطوح، به‌ويژه در علم کامپيوتر، پزشکي و بهداشت، بيوتکنولوژي و کشاورزي گردند. بنابراين کاربردهاي وسيع اين عرصه به همراه پيامدهاي اجتماعي، سياسي و حقوقي آن، اين فناوري را به عنوان يک زمينه فرارشته‌اي و فرابخشي مطرح نموده است ([Ramsden, 2016](#_ENREF_32)).

* 1. **نقره**

**1-18-1- خصوصيات نقره**

نقره يک عنصر فلزي براق و سفيد رنگ است که در موقعيت 47 جدول تناوبي قرار دارد. نماد شيميايي آن Ag، مخفف کلمه آرجنتيوم معادل لاتين نقره است. نقرة خالص،رساناي برق و چکش‌خوار بوده، داراي بالاترين هدايت گرمايي و الکتريکي است. نقره داراي وزن مولکولي g/mol 868/107، چگالي g/cm3 5/10 در دماي 20 درجه سانتي‌‌گراد، نقطة ذوب 9/961 درجه سانتي‌گراد و نقطة جوش 2212 درجه سانتي‌گراد است ([Yu, Yin, & Liu, 2013](#_ENREF_46)).

**1-18-2- کاربردها**

در طول تاريخ بشر، نقره کاربردهاي وسيعي داشته است از جمله،جواهرسازي، ساخت ظروف غذاخوري، پول وسکه، ماده پرکننده دندان، عکاسي، مواد منفجر کننده، آبکاري فلزات، ساخت هادي‌هاي الکتريکي، توليد آينه، باروري ابرها و غيره. از ميان کاربردهاي بسيار زياد نقره، استفاده از خاصيت ضدعفوني کنندگي آن براي مقاصد پزشکي و بهداشتي،کاربردي بارز به شمار مي‌آيد.ظروف نقره در قرون گذشته براي نگهداري آب و شراب استفاده مي‌شده و بقراط، پزشک معروف يوناني، از خواص شفادهندگي و ضدبيماري آن آگاه بوده است و براي درمان زخم‌ها از نقره استفاده مي‌کرد. ترکيبات نقره از سلاح‌هاي اصلي عليه عفونت زخم‌هادر جنگ جهاني اول بودند تا اينکه آنتي بيوتيک‌ها به عرصه آمدند. در سال 1884، يک متخصص مامايي آلماني به نام سي.اس.اف. اعلام کرد، محلول نيترات نقرة يک درصد را به عنوان يک محلول شست و شوي چشم براي پيشگيري از عفونت گونولکي چشمي نوزادان معرفي کرد که با احتمال زياد، اولين استفادة علمي و مستند نقره در پزشکي است. علاوه بر اين، استفاده موضعي از کرم سولفاديازين نقره، درمان آنتي‌باکتريال استاندارد براي درمان زخم‌هاي سوختگي جدي است که هنوز هم به طور وسيع در بخش‌هاي سوختگي استفاده مي‌شود ([Ravindran, Chandran, & Khan, 2013](#_ENREF_34)).

* 1. **نانوذرات نقره فلزي**

**1-19-1- تعريف**

وقتي ذرات نقره داراي حداقل يک بعد با اندازه کمتر از 100 نانومتر باشند، به آنها نانوذرات نقره مي‌گويند ([Khaydarov et al., 2009](#_ENREF_20)).

**1-19-2- کاربردها**

در حوزه پزشکي، نانوذرات نقره داراي کاربردهاي وسيعي هستند، از جمله، استفاده در پوشش زخم‌ها، وسايل پيشگيري از بارداري، ابزارهاي جراحي و پروتزهاي استخوان. در زندگي روزمره نيز اين مواد در اسپري‌هاي خانگي، شوينده­هاي لباس، ضدعفوني‌کنندة آب و رنگ ديوار، استفاده مي‌شوند. همچنين در صنايع نساجي براي تهيه لباس، زيرپوش و جوراب براي جلوگيري از بو گرفتن و ضدعفوني نمودن استفاده مي‌شوند ([Elechiguerra et al., 2005](#_ENREF_11)).

* 1. **سنتز**

**20-1-1 استفاده از باكتري‌ها در سنتز نانوذرات نقره**

*Pseudomonas stutzeri AG259* از معادن نقرن جدا شده و نشان داده است كه نانوذرات نقره توليد مي‌كند نانوذرات توليد شده بالاي 200نانومتر بودند.

شاهوردي و همکاران در سال 2007 با تحقيق بر روي باکتري­هاي خانواده Entrobacteriacae نشان دادند که سوپرناتانت باکتري­هاي Klebsiella pneumonia, Escherichia coli , Enterobacter cloacae توانايي سنتز نانوذرات نقره را در پنج دقيقه دارند و در اين مدت زمان اندک رنگ محلول به رنگ قهوه اي تبديل شد.

در مطالعه­اي که بر روي باکتري Bacillus Subtilis انجام شد مشخص شد که اين باکتري قادر به توليد نانوذرات نقره به صورت خارج سلولي با محدوده اندازه 60-5 نانومتر مي­باشد ([Shahverdi, Minaeian, Shahverdi, Jamalifar, & Nohi, 2007](#_ENREF_37)).

**20-1-2- استفاده از مخمر در سنتز نانوذرات نقره**

شرايط براي سنتز مقادير زيادي نانوذرات نقره با استفاده از گونه *MKY3* مخمر مقاوم به نقره فراهم شده است. شيوه‌هاي جداسازي نانوذرات نقره براساس حرارت نمونه‌هابوده ذرات بدست­آمده از اين مخمر با اندازه 5- 2نانومتر وبه صورت خارج سلولي مي­باشند ([Niknejad, Nabili, Ghazvini, & Moazeni, 2015](#_ENREF_25)).

**20-1-3 استفاده از قارچ­ها در سنتز نانوذرات نقره**

قارچ *Aspergillus flavus* وقتي كه با محلول نيترات نقره انكوباسيون مي‌شود روي سطح ديواره سلولي اين قارچ­ها نانوذرات نقره تجمع مي‌يابد.آنزيم ردوكتاز وابسته به نيترات و يك كوئينون ناقل از چندين گونه *Fusarium oxysporum* كشف شدهاست كه در توليد خارج سلولي نانوذرات نقره يا هيدروزل نقره درگير است. اين امر در مورد همه *Fusarium sp* صدق نمي‌كند. *Fusarium moniliforme* آنزيم ردوكتاز توليد مي‌كند اما به محض تماس با يون‌هاي نقره نمي‌تواند نانوذرات نقره را سنتز كند.قارچ Coriolus Versicolor قادر به توليد نانوذرات نقره با محدوده اندازه 75-10 نانومتر به صورت خارج سلولي مي­باشد ([Guilger-Casagrande & Lima, 2019](#_ENREF_14)).

**20-1-4 استفاده ازگياهان در سنتز نانوذرات نقره**

عصاره برگ گياه (*indica Azadirachta) نيم[[13]](#footnote-13)* براي سنتز خارج سلولي فلز خالص نقره و نانوذره دو فلزي Au/Ag مورد استفاده قرار گرفته است استفاده عصاره برگ نيم براي سنتز نانوذره داراي مزايايي به شكل تشكيل سريع نانوذرات طلا و نقره در غلظت‌هاي بالا مي‌باشد. نانوذرات طلا و نقره بسيار متفرق بودند اگر درصد نانوذره طلا بيشتر باشد از لحاظ ريخت‌شناسي ميل به مسطح شدن دارد ولي اگر مقدار نانوذرات نقره بيشتر باشد شكل كروي دارد كه قطر 5 تا 53 نانومتر دارد. اين كاهش رقابتي يون‌هاي Au+3 وAg+ بوسيله عصاره برگ نيم منجر به سنتز دو فلزي‌هاي با هسته نانوذره Au و پوسته نانوذره Ag مي‌شود كه اندازه آن بين 100 تا 50 نانومتر است. گياه­هاني كه تنها با استفاده از يون‌هاي نقره به عنوان سوبسترا نانوذرات نقره سنتز مي‌كنند نيز كشف شده‌اند. محلول نيترات نقره بعد از واكنش با عصاره برگ شمعداني باعث تشكيل سريع نانوذرات كريستالي نقره با پايداري بالا (40-16 نانومتر) مي‌شود كه در محيط واكنش به صورت يك روبناي شبه خطي تجمع مي‌يابد. ميزان سنتز نانوذرات بسيار بالاست كه استفاده از ميكروارگانيسم‌ها را در بيوسنتز فلزات از طريق روش‌هاس سبزتر و ايمن‌تر توجيه مي‌كند. كنترل اندازه نانوذرات نقره تابع زمان واكنش است.در نانوذرات نقره‌اي كه بوسيله تيمار يون‌هاي نقره با عصاره *L annuum* Capsicum سنتز شده‌اند فاز كريستالي نانوذرات از چندكريستالي[[14]](#footnote-14) به تك كريستالي تغيير مي‌كند و اندازه آنها با زمان واكنش افزايش مي‌يابد. اگر زمان واكنش 5 ساعت باشد منجر به كروي و پلي‌كريستالي شدن نانوذرات (نانومتر 10±2) مي‌شود. با افزايش زمان واكنش تا 9 ساعت و 13 ساعت اندازه نانوذرات به ترتيب تا 3± 25 و 5 ± 40 افزايش مي‌يابد. در تعيين مولكولهاي مسئول درگير در سنتز نانوذرات پروتئين‌هاي 3نانومتركشف شد كه نانوذرات نقره را مي‌پوشاند. علاوه براين مشخص شد كه گروه هاي آمين حاوي پروتئين باعث تقليل يون‌هاي نقره مي‌شود كه منجر به تشكيل نانوذرات نقره در محلول مي‌شود ([Srikar, Giri, Pal, Mishra, & Upadhyay, 2016](#_ENREF_40)).

گياه مرزه در سنتز نانوذرات نقره در داخل خود گياه بسيار مؤثر است. در اين گياه ريشه قادر است Ag (0) را از محيط كشت آگار جذب كند و به انشعابات منتقل مي‌كند. در آنجا اتم‌هاي نقره از طريق مجتمع شدن براي تشكيل نانوذرات خودشان را منظم مي‌كنند. نانوذرات تجمع‌ يافته براي نظم بيشتر به هم متصل مي‌شوند كه سطوح سازماندهي شده مختلفي را ارائه مي‌دهند. تصاوير زمينه سياه ميکروسکوپ الکتروني گذاره از چنين نانوذراتي، نانوذرات نقره را با اندازه گوناگون نشان مي‌دهد. تنظيم اندازه و مقدار سنتز نانوذرات نقره با استفاده از ساقه گياه فلفل وبرنج به عنوان عامل كاهش دهنده و ثابت كننده، تأييد شده است. اين چنين كنترلي با تغيير شرايط واكنش امكان‌پذير است. در شرايط مطلوب محتوي ذرات نقره كه اندازه انها زير 100 نانومتر است در ماتريكس مي‌توانند به 8/1 درصد وزني خود برسند. نانوذرات نقره با اندازه‌هاي مختلف كه بوسيله اين مسير سنتز مي‌شوند براي فعاليت ضد ميكروبيشان آزمايش شده‌اند ([Rasaee, Ghannadnia, & Baghshahi, 2018](#_ENREF_33)).

**فصل دوم**

**پیشینه تحقیق**

# 2- پیشینه تحقیق

# ۲-1- پیشینه تحقیقات داخلی

**در مطالعه ای که توسط کریمی و همکاران در سال 2018 بر روی سنتز سبز نانوذرات نقره با استفاده از عصاره گیاه خوراکی دارویی بن سرخ (Allium jesdianum) انجام شد. در این مطالعه از عصاره گیاه دارویی بن سرخ به عنوان عامل کاهنده و پایدارکننده برای تولید زیستی نانوذرات نقره استفاده گردید. با افزودن عصاره به نمک نیترات روی با غلظت ۱/۰ مول همراه با افزایش دما به ۷۵ درجه سانتی گراد در مدت ۲ ساعت، واکنش انجام شد. تغییر رنگ عصاره از قهوه‌ای به زرد نشان دهنده تولید نانو ذرات نقره بود.**

**تشکیل نانوذرات نقره با تشکیل پیک جذبی در طول موج حدود ۳۷۵ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتری و همچنین الگوی پراش اشعه‌ی ایکس نشان داده شد. اندازه و مورفولوژی نانوذرات سنتز شده توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی تعیین شد و مشخص گردید که شکل ذرات چند وجهی و گرد و اندازه متوسط آن‌ها در حدود ۳۰ نانومتر است. در این پژوهش، نانوذرات نقره با یک روش زیست‌سازگار با طبیعت و بدون استفاده از مواد شمیایی مضر تولید گردید و مشخص گردید که گیاهان به دلیل داشتن متابولیت‌های ثانویه بالا و خواص آنتی اکسیدانی، نقش احیاء کنندگی و پایدار کردن نانوذرات را انجام می‌دهند(Karimi et al., 2018).**

**طی مطالعاتی که امرانی و همکاران در سال 2018 در بیوسنتز نانو ذرات نقره با استفاده از گیاهان مرزه و نعناع و بررسی اثر ضد میکروبی آن بر برخی باکتری‌های عامل پوسیدگی دندان انجام دادند مشخص گردید، عصاره گیاهان به دلیل داشتن خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات ثانویه فراوان، نقش احیاکنندگی و پایدارسازی نانو ذرات را ایفا می‌کنند. در این پژوهش، نانو ذرات نقره به خوبی توسط عصاره آبی گیاهان مرزه و نعناع سنتز شدند و نانو ذرات سنتز شده فعالیت ضد باکتریایی خوبی را علیه باکتری‌های عامل پوسیدگی دندان مورد آزمون نشان دادند(Emrani et al., 2018)**

**طی مطالعاتی که شریعتی و همکاران در سال 2018 بر روی بررسی اثر ضد التهابی عصاره اتانولی گیاه مرزه در موش کوچک آزمایشگاهی نر بالغ نژاد NMRI‏ با استفاده از آزمون هاي زایلن و کاراکینان انجام دادند مشخص گردید که که عصاره اتانولی مرزه، ادم گوش ناشی از زایلن را کاهش می دهد. علاوه بر این، عصاره اتانولی مرزه، به صورت معنی داري ادم پاي القا شده توسط کاراگینان را کاهش داده است. بنابر استفاده از عصاره مرزه در برابر التهاب ایجاد شده توسط آسیب هاي مختلف را توصیه شد(Shariati et al., 2018).**

**همچنین شماسی و همکاران در سال 2019 مطالعه ای در بررسی خصوصیات زیستی نانو ذرات نقره سنتز شده به روش سبز به وسیله عصاره آبی گیاه روناس انجام دادند. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که نانو ذره نقره سنتز شده، خاصیت آنتی اکسیدانی موثری طی تستهای DPPH و ABTS دارد، به طوری که با افزایش غلظت نانوذره خاصیت آنتی اکسیدانی افزایش یافته و IC50 آن به ترتیب 1000 و 125 میکروگرم برمیلی لیتر گزارش شد. همچنین نتیجه حاصل از تست MTT نشان داد که با افزایش غلظت نانو ذره میزان زیستایی سلولهای سرطانی پستان ( MCF7) کاهش می یابد و مقدار IC50 حدود 70 میکروگرم بر میلی لیتر گزارش شد. نانوذره نقره سنتز شده دارای خاصیت آنتی اکسیدانی در غلظت پایین بوده و سلولهای سرطانی را از بین برد و در غلظت مشابه بر سلولهای نرمال اثر سمیت نداشته که همین امر این نانوذره را کاندیدی مناسب جهت استفاده در مهار سلولهای سرطانی کرد(Shamasi et al., 2019).**

# ۲-2- پیشینه تحقیقات خارجی

**در سال (1396) مطالعه ای بر روی روشی جدید در سنتز سبز نانوذرات منگنز با استفاده از عصاره مرزه انجام گرفت که نتیجه بدین صورت بود که سنتز نانوذرات منگنز، از پیش ماده منگنز استات که در آب دیونیزه حل شده بود صورت گرفت, محلول حاصله در دمای معین و تحت همزدن شدید قرار گرفت، سپس مخلوط عصاره گیاه مرزه به آن افزوده شد و pH ودمای آن کنترل شد. تشکیل نانو ذرات منگنز بوسیله تغییر رنگ محلول از سبز روش به زرد تایید شد. خاصیت آنتی اکسیدانی و میزان فنول های عصاره برگ مرزه جهت سنتز نانوذرات به ترتیب با آزمون DPPH و تست فنول تام معیین گردید. ساختار نانوذرات سنتز شده بوسیله الگو های پراش اشعه ایکس(XRD) تایید گردید. گروههای عاملی و اجزای موجود در سطح بوسیله طیف سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه(FTIR) نشان داده شد و با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی مورفولوژی و اندازه حدودی نانو ذرات تعیین گردید (**[**حصاریان, 1396**](#_ENREF_47)**)**

**در سال (۲۰۱۶) تحقیقی بر روی برهمکنش های نانو موتورهای عملکردی و پیش سازهای آميلوئيدي بتا به عنوان استراتژی نوین ضد آلزایمری با مدل سازی و شبیه سازی صورت گرفت. نتیجه  گرفتند که در تحقیقات درمانی آلزایمر با در نظر گرفتن ساختار سه بعدی و پارامتر‌های دینامیکی، نانوموتور رتینولی بر روی پپتید موتانت ترانس ممبرن بسیار ایده آل بوده و می‌تواند راهکار درمانی مناسبی برای آلزایمرباشد. اما چون هر نانوموتوری تنها بر روی پپتید موتانتی خاص تأثیرگذار است و آلزایمر ناشی از موتاسیون‌های مختلف می‌باشد، نمی‌توان برای درمان آلزایمر تنها از یک نوع نانوموتور بهره برد(Stem et al., 2016).**

**در تحقیقات سال (۲۰۱۸) که بر روی قابليت نانو ذرات نقره روي مهار تجمعات آميلوئيدي و نقش دارويي احتمالي آنها در جلوگيري از بيماري آلزايمرانجام گرفته شده ، نشان داده شده است سطوح نانو ذرات نقره مثل يک نانو چاپرون عمل کرده و باعث مهار تشکيل فيبرهاي آميلوئيدي ليزوزيم شده است و بنابراين احتمال استفاده دارویی برای درمان بیماری آلزایمر وجود دارد(Kate et al., 2018).**

**پژوهشگران دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره) قزوین در سال (2018) در بخشی از یک پژوهش آزمایشگاهی اقدام به بررسی تأثیر شوری محیط کشت گیاه مرزه، بر روی مقدار و کیفیت نانوذرات نقره استخراج شده از این گیاه کردند. نانوذرات استخراج شده از اندازه و شکل ظاهری مطلوبی برخوردارند که این موضوع موجب افزایش کارایی آنان شده‌است. نتایج حاصل‌شده از آزمون‌های مربوط به سنجش کارایی ضد باکتری نانوذرات حاکی از آن است که نانوذرات استخراج شده از گیاهی که در تیمار حاوی 150 میکرومولار نمک طعام رشد کرده، کوچک‌ترین اندازه و بیشترین کارایی را داشته‌اند . (**[**Rasaee et al., 2018**](#_ENREF_33)**)**

**در سال (۲۰۲۰) بر روی فیتوتراپی و بررسی گیاهان مهم در درمان آلزایمرتحقیقی انجام گرفت که به اثرات ترمیمی عصاره اتانولی ماتریکاریا بابونه بر روی سیستم عصبی، پی بردند که ممکن است در بیماران با مشکل آلزایمر، اختلالات رفتاری و درتقویت حافظه توسط عصاره می تواند مفید باشد که به اثرات آنتی اکسیدانی فعال آن نسبت داده می شود(Kerl et al., 2020).**

**در سال (۲۰۲۱) آزمایشی با هدف تاثیربرخی از فلاونوئیدهای مشتق از گیاهان در مدل‌های مختلف آلزایمرانجام شد و مکانیسم اثر و مسیرهای پیام رسانی مهم در کاهش التهاب عصبی، آپوپتوز و آسیب اکسیدانی را بررسی کردند. نتیجه گرفتند با وجود اثرات سودمند این ترکیبات، بررسی‌های بیشتری مورد نیاز است تا بتوان فلاونوئیدها را به‌طور جدی به‌عنوان دارو در درمان آلزایمر استفاده نمود(Booster et al., 2021).**

**فصل سوم**

**مواد و روش­ها**

# ۳- مواد و روش ها

**3-1- شناسایی گیاه و تهیه پودر گیاهی**

در ابتدا اندام های هوایی گیاه مرزه (تهیه شده از پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی) با آب مقطر به خوبی شستشو داده شدند سپس در دمای اتاق قرار گرفته تا خشک شوند و پس از آن با قیچی و هاون به خوبی پودر شدند. 5 گرم پودر تهیه شده از گیاه مرزه را با 100میلی لیتر آب دیونیزه مخلوط شد و به مدت زمان 15 دقیقه در دمای جوش روی هیتر  قرار گرفت و بعد از سرد شدن با استفاده از کاغذ واتمن شماره 1 فیلتر شد و عصاره آبی حاصل برای آزمایشات بعدی در دمای 4 درجه سانتی گراد نگهداری شد.

**3-2- عصاره گیری**

**3-2-1- تهیه عصاره با روش سوکسله**

در این مطالعه 1 کیلوگرم از گیاه مرزه خشک پس از خریداری و تأیید توسط بخش گیاه شناسی دانشکده کشاورزی در محیط خشک و تاریک، به دور از نور خورشید نگهداری شده و سپس آسیاب و به صورت پودر در می اید. پودر در بالن یک لیتری و با نسبت 1 به 5 با الکل اتیلیک 80 % مخلوط شده و به مدت48 ساعت بر روی دستگاه شیکر به آرامی انکوبه میشود. سپس مخلوط به دست آمده توسط صافی و قیف بوخنر صاف میشود. عصاره اولیه به دست آمده وارد دستگاه روتاری گردیده و در دمای 80 درجه سانتیگراد و به مدت 4 ساعت الکل پرانی صورت میگیرد. عصاره تغلیظ شده به دست آمده تا زمان استفاده در یخچال نگهداری میشود.

**3-2-2- تهیه عصاره آبی**

براي عصاره گیري، ابتدا 200 گرم از برگ آسیاب شده گیاه مرزه در یک بشر 1000 میلـی لیتـري ریختـه و 800 میلی لیتر آب مقطر به آن اضافه و براي مـدت 48 سـاعت نگهداري شد. سپس مخلوط به کمـک همـزن شیشـه اي همزده و در هر 12 ساعت یک بار محتویـات بشـر تکـان داده شد. عصاره به دست آمده توسط کاغذ صـافی و قیـف صاف گردید و در دسـتگاه بـن مـاري (دمـاي زیـر نقطـه جوش) قرار داده شد تا آب آن خشک شود ([KalantariMianaji & Rahnema, 2016](#_ENREF_18)).

**3-2-3- بررسی عصاره با کروماتوگرافی گازی-طیف سنجی جرمی (GC–Mass)**

آنالیز گاز کروماتوگرافی متصل به طیف نگار جرمی (GC-MS) عصاره گیاه با Chromatograph Gas 6890 Agilent انجام گرفت. برنامه ریزي حرارتی ستون از °C 50 تا 250 با سرعت افزایش دماي 6°C در دقیقه انجام گرفت. گاز حامل هلیوم 99/99 % و مقدار تزریق 1 میکرولیتر و سرعت جریان گاز 15 میلی لیتر 15 در دقیقه تنظیم شده بود. حجم µl 1 از عصاره گیاه به دستگاه GC-MS تزریق شد ([میرزایی, 1395](#_ENREF_54)).

**3-2-4- تولید نانوذرات نقره با استفاده از عصاره**

10 ميلي ليتر از عصاره مورد نظر به 90 ميلي ليتر نيترات نقره (شركت مرك كشور آلمان)1 ميلي مولار اضافه شده و به منظور كاهش يون هاي نقره، محلول در دماي اتاق و در شرايط تاريكي به مدت يك شبانه روز نگهداري میشود. تغيير رنگ عصاره از زرد كمرنگ به قهوه اي تيره تا سياه نشان دهنده توليد نانو ذرات نقره است. سپس عصاره هاي حاوي نانوذرات با دور 8000 به مدت 20 دقيقه سانتريفيوژ میشود. رسوب به دست آمده در آون 70 درجه سانتيگراد به مدت 5 ساعت خشك میگردد. نانوذرات نقره بدست آمده جهت مطالعه بيشتر در داخل ميكروتيوب در دماي 4 درجه سانتيگراد نگهداري میشود ([دوستی, 1395](#_ENREF_48)).

**3-2-5- تائید تولید نانوذرات نقره**

**3-2-5-1- تائید تولید نانوذرات با روش UV-Vis**

حدود يک سي سي از عصاره مورد نظر را براي تشخيص اوليه وجود نانوذرات جهت آناليز به دستگاه اسپکتروفوتومتري UV-visible (مدل Perkinelmer Lambda 35) انتقال داده شد بلنک در اين دستگاه عصاره گياه شاهد مي باشد. حدود 5 میلی لیتر از همين نمونه را جهت اندازه گيري قطر ديناميکي ذرات به وسيله دستگاه نانوپارتيکل آنالايزر (مدلStabisize 200) به اين دستگاه انتقال داده اين دستگاه در سه تکرار نمونه مورد نظر را قرائت مي­کند ([مرادي, 1398](#_ENREF_51)).

**3-2-5-2- تائید تولید نانوذرات با روش FTIR**

يکي از روش‌هاي طيف­سنجي که به شناسايي نوع پيوندهاي موجود در يک ترکيب کمک مي‌کند طيف‌سنجي تبديل فوريه­ی مادون قرمز است. اين طيف­سنجي ساختار گسترده يک ترکيب را نشان نمي‌دهد ولي ماهيت پيوندها را بر اساس ميزان نور جذب شده بر حسب طول موج بيان مي‌کند. براي استفاده از اين دستگاه، نمونه سنتز شده به­خوبي آسياب شده و به شکل قرص درآورده مي‌شود. با تاباندن پرتو مادون قرمز به قرص تهيه ­شده، پيوندهاي مولکولي مرتعش مي‌شود و انرژي اين پيوندها قله‌ها و دره‌هايي را ثبت مي‌کند. هر پيوند در يک طول موج منحصربه­فرد به ارتعاش در مي‌آيد ([مرادي, 1398](#_ENREF_51)).

**3-2-6- بررسی ویژگی های ساختاری نانوذرات نقره**

**3-2-6-1- بررسی ویژگی های ساختاری نانوذرات با روش DLS**

جهت اندازه گیری سایز ذرات از DLS[[15]](#footnote-15) استفاده شد. این روش، روشی است که برای تعیین اندازه ذرات موجود در محلول ها و سوسپانسیون ها به وسیله دستگاه هایی است که می توانند آنالیز را در یک سوسپانسیون انجام دهند.این روش غیرمخرب و سریع برای تعیین اندازه ذرات در محدوده چند نانومتر تا چند میکرون به کار می رود.جهت تعیین اندازه نانوذرات کلوئید نانو نقره در سل دستگاه قرار گرفت و پس از آن آنالیز بر روی نمونه مورد نظر انجام شد. برای اندازه گیری ذرات 5 میلی لیتر از کلوید نانونقره درون سل ریخته و در دمای 25 درجه سانتیگراد با قدرت لیزر 60 درصد ارزیابی گردید ([طاعتی, 1401](#_ENREF_50)).

**3-2-6-2- بررسی ویژگی های ساختاری نانوذرات با تعیین پتانسیل زتا (Zeta Potencial)**

به منظور تعیین پتانسیل زتاي نمونه ها، از دستگاه زتا سایزر Zs - Nano ساخت شرکت Malvern انگلستان استفاده شد.

**3-2-6-3- بررسی ویژگی های ساختاری نانوذرات با روش EDX**

برای تجزيه و تحلیل ساختاری يا به عبارتی خصوصیات شیمیايی و خلوص نمونه EDX گرفته شد. نتايج EDX حضور عناصر شیمیايی اصلی يعنی C ، O ،N ،Sr و Si را نشان میدهد **(**[**منافی, 1395**](#_ENREF_52)**).**

**3-2-6-4- بررسی ویژگی های ساختاری نانوذرات با روش XRD**

پراش اشعه ايکس XRDيا همان (X-Ray Diffraction)تکنيکي قديمي و پرکابرد در بررسي خصوصيات بلور‌ها مي‌باشد. در اين روش از پراش اشعه ايکس توسط نمونه جهت بررسي ويژگي‌هاي آن استفاده مي‌شود. XRD براي تعيين عموم کميات ساختار بلوري قابل استفاده مي‌باشد.

در پراش اشعه ايکس، مشاهده مي‌شود که شدت اشعه ايکس باز تابيده از بلور، که در هر اتم به\_صورت الاستيک پراکنده شده­اند (بدون تغيير طول موج)، در زواياي خاصي بیشینه خواهد بود و در بقيه زوايا، شدت اشعه­ی پراشيده شده مقدار قابل ملاحظه­اي ندارد. منظور از پراش همين رفتار اشعه ايکس مي‌باشد.

برخورد اشعه ايکس به يک اتم يا مولکول، باعث تحريک و نوسان الکترون‌هاي اتم يا مولکول مي‌شود و ذرات باردار شتابدار، از خود موج الکترومغناطيسي ساطع مي‌کنند. بنابراين اين نوسان‌ها باعث تابش امواج جديدي مي‌شوند ([منافی, 1395](#_ENREF_52)).

**3-2-5- بررسی اثر آنتی اکسیدانی نانوذارت تولید شده با روش DPPH**

اساس این روش بر مبنای احیاء رادیکال آزاد DPPH به وسیله آنتی اکسیدانها در غیاب سایر رادیکالهای آزاد در محیط می باشد که نتیجه این عمل باعث ایجاد رنگی در محیط میشود که شدت آن با دستگاه طیف سنجی قابل اندازه گیری است. ترکیبDPPH یک رادیکال آزاد پایدار است که دارای یک الکترون جفت نشده بر روی یکی از اتمهای پل نیتروژنی میباشد.

مهار رادیکال DPPH پایه و اساس ارزیابی ظرفیت آنتی اکسیدانی است.

DPPH◦ (purple) + H – A → DPPHH (yellow) + A◦

رادیکالDPPH یک رادیکال پایدار است که محلول متانولی آن دارای رنگ بنفش می باشد که بیشترین جذب نوری را در 595-518 نانومتر دارد. پایه و اساس این روش این است که رادیکال DPPH به عنوان پذیرنده الکترون از یک مولکول اهدا کننده مانند آنتی اکسیدان عمل می کند و در نتیجه آن DPPH به DPPH2 تبدیل می شود. در این حالت رنگ بنفش محیط به رنگ زرد تبدیل می شود، بنابراین شدت جذب در 518 نانومتر کاهش می یابد. از روی اندازه گیری کاهش شدت جذب به وسیله طیف سنجی میتوان به خصوصیات آنتی اکسیدانی پی برد. مطابق جدول زیر از استوک (محلول اصلی تولید شده) نانوذره برای تهیه غلظت های مختلف استفاده شد. متناسب با حلال نانوذره خود از آب یا الکل برای تهیه رقت استفاده شد.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| شماره نمونه | نمونه نانوذره  (میکرولیتر) | آب مقطر یا الکل  (میکرولیتر) | ضریب رقت نمونه  (میلی گرم بر میلی لیتر) |
| 1 | 400 | 1600 | 2/0 |
| 2 | 800 | 1200 | 4/0 |
| 3 | 1200 | 800 | 6/0 |
| 4 | 1600 | 400 | 8/0 |
| 5 | 2000 | - | 1 |
| 6 (کنترل مثبت) | 2 میلی لیتر محلول یک میلی مولار آسکوبیک اسید | | |

اکنون آزمایش DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picryl-Hydrazyl) را برای هر کدام از غلظت های تهیه شده از نمونه، به صورت مجزا انجام دادیم و نتایج را در نرم افزار اکسل محاسبه و در یک جدول گزارش کردیم. سه لوله آزمایشی خشک و تمیز انتخاب کرده و مطابق جدول زیر عمل کردیم:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| لوله | نمونه نانوذره  (میلی لیتر) | آب مقطر | محلول 1/0 میلی مولار DPPH در متانول  (میلی لیتر) |
| نمونه (Sample) | 1 | - | 2 |
| کنترل (Control) | - | 1 | 2 |
| بلانک (Blank) | 1 | - | 2 میلی لیتر متانول |

اکنون لوله ها را برای 30 دقیقه در تاریکی و دمای آزمایشگاه قرار دادیم تا شدت رنگ از بنفش پررنگ، کمتر شده و به زرد تبدیل شود. اکنون دستگاه اسپکتروفوتومتر را روی طول موج 518 نانومتر تنظیم نمودیم و با محتویات لوله بلانک (B) صفر کردیم. محلول بلانک حاوی همان ترکیبات لوله نمونه (S) یا کنترل مثبت است، ولی بجای محلول DPPH، 2 میلی لیتر متانول دارد. سپس جذب لوله های کنترل (AControl) و نمونه (ASample) را خوانده و با استفاده از فرمول، درصد فعالیت آنتی اکسیدانی را محاسبه کردیم ([رضایی, 1398](#_ENREF_49)).

**3-2-6- بررسی اثر مهاری نانوذارت تولید شده بر تولید رشته های آمیلوئیدی**

**3-2-6-1- تهیه بافر سیترات- فسفات و بافر کنگورد**

با تهیه یک استوک 1/0 مولار از سیتریک اسید و 2/0 مولار از فسفات سدیم دی بازیک (Na2HPO4) در آب دوبار تقطیر و ترکیب نمودن آنها با نسبت های مشخص، می­توان بافرهایی با pH های مختلف تهیه نمودیم. برای تهیه 100 میلی لیتر از این بافر با pH برابر 3 مطابق جدول زیر عمل نمودیم. سپس برای تنظیم pH از pH متر استفاده کردیم. برای کاهش pH از محلول اسید سیتریک و برای بالا بردن pH از محلول فسفات هیدروژن دی سدیم که تهیه کرده­ایم، استفاده کردیم. بافر را در شیشه­ تیره ریخته و در دمای 4 درجه سانتی­گراد نگه­داری کردیم. جهت جلوگیری از آلودگی میکروبی احتمالی، به میزان 05/0 درصد از سدیم آزید به آن اضافه کردیم .

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| ماده | مقدار (گرم) | آب مقطر |
| Citric Acid | 53/1 | 100 میلی لیتر |
| Na2HPO4 | 56/0 |

بافر کنگورد: با تهیه یک استوک 1/0 مولار از سیتریک اسید و 2/0 مولار از فسفات سدیم دی بازیک (Na2HPO4) در آب دوبار تقطیر و ترکیب نمودن آنها با نسبت های مشخص، می­توان بافرهایی با pH های مختلف تهیه نمودیم. برای تهیه 100 میلی لیتر از این بافر با pH برابر 3 مطابق جدول زیر عمل میکنیم. سپس برای تنظیم pH از pH متر استفاده کردیم. برای کاهش pH از محلول اسید سیتریک و برای بالا بردن pH از محلول فسفات هیدروژن دی سدیم که تهیه کرده­ایم، استفاده میکنیم. بافر را در شیشه­ تیره ریخته و در دمای 4 درجه سانتی­گراد نگه­داری میکنیم. جهت جلوگیری از آلودگی میکروبی احتمالی، به میزان 05/0 درصد از سدیم آزید به آن اضافه میکنیم ([Vaziri, Fazilati, Habib, Nazem, & Arasateh, 2018](#_ENREF_45)).

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| ماده | مقدار (گرم) | آب مقطر |
| Citric Acid | 53/1 | 100 میلی لیتر |
| Na2HPO4 | 56/0 |

**3-2-6-2- تولید رشته های آمیلوئیدی در حضور عصاره**

در یک میکروتیوب ته گرد 2 میلی لیتری 20 میلی گرم پودر آلبومین سرم گاوی ریخته و با دقت وزن شد و یک میلی لیتر بافر سیترات-فسفات با pH برابر 3 به آن اضافه و با هم ترکیب میشوند. در شش میکروتیوب دیگر هر کدام 100 میکرولیتر از این محلول ریخته و 300 میکرولیتر بافر سیترات-فسفات اضافه میگردد. بدین ترتیب غلظت نهایی 5 میلی گرم بر میلی لیتر برای تمام میکروتیوب ها تهیه شد. سپس در هر میکروتیوب یک مگنت کوچک برنجی قرار داده و با پارا فیلم بسته شد. میکروتیوب ها برای 48 ساعت تا تولید رشته های آمیلوئیدی روی هیتر استایرر با دمای 60 درجه سانتگراد با دور 100( دور در دقیقه) قرار داده شد([منصوری, 1399](#_ENREF_53)) .

**3-2-6-3- بررسی رشته های آمیلوئیدی به روش طیف سنجی کنگورد**

برای انجام طیف سنجی کنگورد، شش میکروتیوپ تمیز انتخاب کرده و با شماره یک تا شش شماره گذاری نمودیم. سپس 100 میکرولیتر از نمونه های آمیلوئیدی تهیه شده را به ترتیب شماره در آنها ریخته و 1900 میکرولیتر (9/1 میلی لیتر) از بافر کنگورد به آنها افزودیم. میکروتیوب ها را برای 10 دقیقه در دمای آزمایشگاه قرار داده و سپس میزان جذب آنها را توسط اسپکتروفوتومتر در محدوده بین 400 تا 600 نانومتر (در مقابل آب مقطر به عنوان بلانک) خواندیم و منحنی آن را بر روی نرم افزار اکسل رسم نمائید ([Arasteh, Habibi-Rezaei, Ebrahim-Habibi, & Moosavi-Movahedi, 2012](#_ENREF_1)).

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| ماده | مقدار (گرم) | آب مقطر |
| Citric Acid | **53/1** | **100 میلی لیتر** |
| Na2HPO4 | **56/0** |

**طیف سنجی فلورسانس**

برای بررسی دقیق تر و اختصاصی تر تشکیل نانورشته­های آمیلوئیدی از آلبومین سرم گاوی از طیف سنجی فلورسانس ThT استفاده می شود. تیوفلاوینT (ThT) با قرار گرفتن در بین زنجیره های بتا در صفحات باعث افزایش نشر می گردد. برای این کار میزان 2900 میکرولیتر محلول ThT به غلظت 20 میکرومولار با 100 میکرولیتر نمونه ی پروتئینی (با غلظت 5 میلی گرم بر میلی لیتر)، به مدت 3 دقیقه با هم در دمای آزمایشگاه انکوباسیون می شوند. سپس طیف نشری فلورسانس آن در طول موج 482 نانومتر قرائت می شود. طول موج تحریک 450 نانومتر و طیف نشری در محدوده ی 450 تا 600 نانومتر می باشد. با این روش غلظت نهایی پروتئین 1 میکرومولار و غلظت نهایی ThT حدودا 20 میکرومولار است ([حصاریان, 1396](#_ENREF_47)).

**تهیه محلول 20 میکرومولار ThT**

ابتدا پودر تریس-HCl را در آب دوبار تقطیر حل کرده و سپس به حجم مورد نظر میرسانیم، بطوری که غلظت نهایی بافر 20 میلی مولار بدست آید و نهایتا pHرا بر روی 4/7 تنظیم نمودیم. جهت جلوگیری از آلودگی به میزان 05/0% وزن بر حجم از سدیم آزید اضافه کردیم. از این بافر جهت تهیه بافر ThT استفاده می شود. ابتدا یک استوک 2 میلی مولار از تیوفلاوین T در این بافر تریس تهیه کنید و در هنگام نیاز آن را 100 بار با همین بافر رقیق نمائید تا غلظت نهایی 20 میکرومولار از ThT به دست آید ([Yu et al., 2013](#_ENREF_46)).

**میکروسکوپ الکترونی گذاره (Transmission electron microscopy)**

میزان 5 میکرولیتر از نمونه های آمیلوئیدی تولید شده از آلبومین سرم گاوی با غلظت نهایی 1 میلی گرم بر میلی لیتر (در صورت نیاز با همان بافر تشکیل دهنده خودشان رقیق شوند) را برای مدت 45 ثانیه بر روی گرید های مسی پوشیده شده با لایه ای از پلیمر فرموار (Formvar) قرار دادیم. سپس مقادیر اضافه را با کاغذ صافی برداشته و نمونه را توسط محلول 3 درصد وزنی اورانیل استات به مدت یک دقیقه شستشو دهید و باز مقادیر اضافه با کاغذ صافی را بردارید. پس از خشک شدن به مدت دو ساعت در دمای آزمایشگاه، گرید آماده توسط میکروسکوپ الکترونی گذاره در ولتاژ 75 کیلو ولت تصویر برداری نمودیم. از مقادیر بزرگ نمایی مختلف 10 تا 100 هزار برابر استفاده میکنیم ([Holm et al., 2007](#_ENREF_15)).

**میکروسکوپ نیروی اتمی (Atomic force microscopy)**

از نمونه های آلبومین سرم گاوی با غلظت نهایی 1 میلی گرم بر میلی لیتر، توسط لامل بر روی لام شیشه ای یک لایه نازک قرار داده شد. نمونه پس از خشک شدن در هوای آزمایشگاه توسط دستگاه میکروسکوپ نیروی اتمی Dual scope 95-200e (DME Denmark)مورد اسکن قرار گرفت و تصاویر حاصل از آن با ابعاد مختلف (از 200 نانومتر تا 20 میکرومتر) تهیه گردید.

**فصل چهارم**

**نتایج**

**4- نتایج**

**4-4- نتایح حاصل از بررسی تولید نانوذرات نقره**

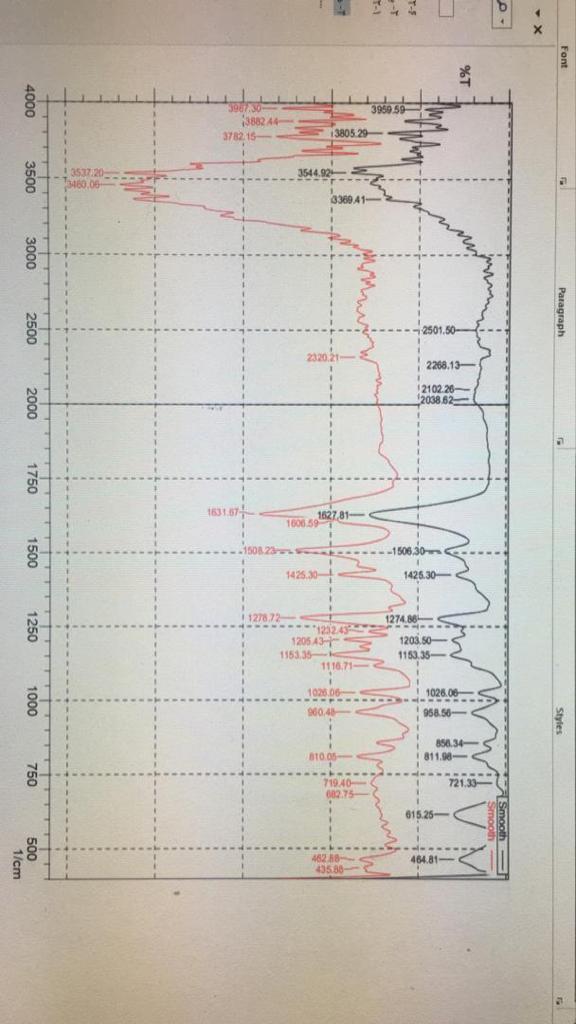
**4-4-1- نتایج حاصل از بررسی تولید نانوذرات با روش UV-Vis**

فلزاتي مانند طلا ونقره داراي جذبي به نام جذب پلاسمون سطحي (SPR) مي­باشند اين جذب فقط خاص نانوذرات فلزي مي­باشد، جذب پلاسمون سطحي به وسيله اسپکتروفتومتري UV-visible نمونه­هاي نقره به دست آمد. نتايج در مورد سنتز نانوذرات نقره تحت تيمارهاي گفته شده نشان مي­دهد که در تمام تيمارهاي اعمال شده پيک جذب در محدوده 400-250 نانومتر (محدوده جذب نانوذرات نقره) مشاهده مي­شود که بهترين پيک بدست آمده مربوط به غلظت 2 ميلي مولار و Ph=4/7 مي­باشد که مطابق نتايج جدول تجزيه واريانس مي­باشد در حالات ديگر پيک­هاي بدست آمده پهن تر بوده و متمايل به طول موج قرمز مي-باشد که احتمالاً دال بر بزرگ­تر شدن اندازه ذرات مي­باشد.

**شکل 4.1. بررسی تولید نانوذرات با روش UV-Vis**

**4-4-2- نتایج حاصل از بررسی تولید نانوذرات با روش FTIR**

در نمودار پایین, خطوط قرمز مربوط به عصاره و مشکی مربوط به نانوذره است. در محدوده 1627 نانوذره وجود دارد که این محدوده از نظر عامل کششی C=O است. پایین ترین قسمت نمودار قرمز هم در محدوده 3537 دارای بیشترین مقدار نانوذره می باشد. در محدوده 3406 هم نانوذره یافت شد. در محدوده 1606 هم حلقه بنزن یافت شد. در محدوده 1000 تا 1250 هم نمودارهایی تکراری ایجاد شده که نشان از پیک جدید نانوذره است.



**4.2. بررسی تولید نانوذرات با روش FTIR**

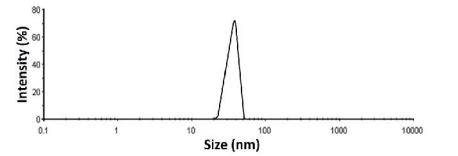
**4-3- نتایج حاصل از بررسی ویژگی های ساختاری نانوذرات**

الگوي طيف XRD نانوذرات سنتز شده در گياه را نشان مي دهد، پيک 46.1درجه مربوط بهساختار کريستالي 111 ، پيک 28.6 درجه مربوط به صفحات کريستالي 220، پيک 33.66 درجه مربوط به صفحات کريستالي 311 مي­باشند،پيک­هاي اضافي مربوط به ناخالصي­هايي است که در بافت گياه وجود داشته و داراي ساختار کريستالي مي­باشد، بر اساس مطالعات انجام شده و با توجه به صفحات کريستالي بيان شده، مشخص شد که نقره در ساختار FCC (مکعبي مراکز وجوه پر) متبلور شده است.

4.3. الگوي طيف XRD نانوذرات

**4-3-1- نتایج حاصل از بررسی ویژگی های ساختاری نانوذرات با روش DLS**

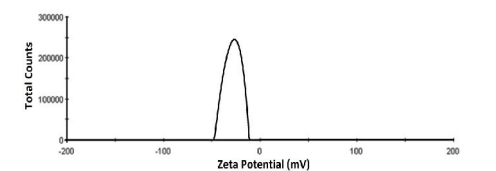
جهت اندازه گیری سایز ذرات از [[16]](#footnote-16)DLS استفاده شد. این روش، روشی است که برای تعیین اندازه ذرات موجود در محلول ها و سوسپانسیون ها به وسیله دستگاه هایی است که می توانند آنالیز را در یک سوسپانسیون انجام دهند.این روش غیرمخرب و سریع برای تعیین اندازه ذرات در محدوده چند نانومتر تا چند میکرون به کار می رود.جهت تعیین اندازه نانوذرات کلوئید نانو نقره در سل دستگاه قرار گرفت و پس از آن آنالیز بر روی نمونه مورد نظر انجام شد .برای اندازه گیری ذرات 5 میلی لیتر از کلوید نانونقره درون سل ریخته و در دمای 25 درجه سانتیگراد با قدرت لیزر 60 درصد ارزیابی گردید. انـدازه میانگین قطر نـانوذرات نقـره تولیـد شـده در ایـن مطالعــه، در ,pH=8 40 نانومتر ثبت شد. منحنی به شـکل زنگولـه اي شـکل اســت کــه نشــان دهنــده پراکنــدگی یکنواخــت نانوذرات نقره تشکیل شده بود. همچنـین شـاخص پراکندگی نانوذرات0.2 ثبـت گردیـد کـه نشان دهنده یکنـواختی بـالاي محلـول کلوئیـدي نانوذرات می باشـد .



شکل 4.4. اندازه میانگین قطر نانوذرات نقره تولید شده که اندازه ذره اي 40 نانومتر را نشان می دهد.

**4-3-2- نتایج حاصل از تعیین پتانسیل زتا (Zeta Potencial)**

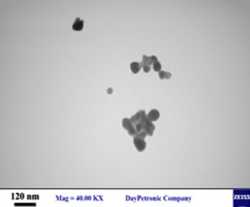
پتانسـیل زتـا، 28 - میلـی ولـت ثبـت گردیـد کـه این عدد حـاکی از پایـداري مناسب محلول کلوئیدي نانوذرات است.

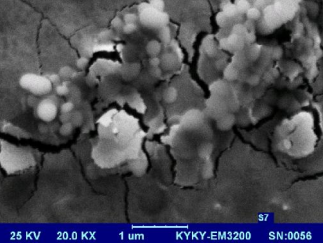


شکل 4.5. پتانسیل زتا نانوذرات نقره که پتانسیل زتاي آن در 28 - میلی ولت ثبت گردید.

**4-3-3- نتایج حاصل از روش TEM و SEM**

تصویر میکروسکوپ الکترونی نشان داد که نانوذرات نقـره بصورت کروي تشکیل شده است.

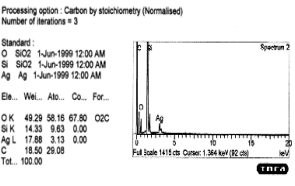




شکل 4.6. TEM (بالا) و SEM (پایین)

**4-3-5- نتایج حاصل از روش EDX**

وجود سيليسيوم در آناليز EDX بيانگر اثرات پايدار ساز بـر نــانوذرات ســاخته شــده اســت وذرات بــاقيمانــده از عامــل پايدارساز، پس از خشك كردن نمونه هـا بـه صـورت ناخالـصي روي سطح ذرات نقره باقي مـيماننـد كـه نقطـة ضـعفي بـراي روش هايي كه از پايدارساز در توليد نانوذرات استفاده ميكننـد، محسوب ميشود.



شکل 4.7. آناليز EDX

**4-4- نتایج حاصل از بررسی اثر آنتی اکسیدانی با روش DPPH**

گیاه مرزه داراي ترکیبات طبیعی فراوانی چون ترکیبات آنتی اکسیدانی، فنل ها و فلاونوئیدها می باشد که تمامی این ترکیبات در احیاي یون هاي فلزي و تبدیل آن ها به اتم هاي فلزي در ابعاد نانومتریک و پایدار کردن نانو ذرات سنتز شده نقش مهمی دارند. در این مطالعه فعالیت جذب رادیکال هاي DPPH توسط نانو ذرات نقره بیوسنتز شده با عصاره گیاه بررسی شد. حذف رادیکال هاي DPPH با افزایش غلظت نانو ذره افزایش یافت.

نتایج این بررسی نشان داد که خواص آنتی اکسیدانی نمونه ها وابسته به غلظت آن ها است و با افزایش غلظت فعالیت آنتی اکسیدانی افزایش می یابد. نانو ذرات نقره در مقایسه با آنتی اکسیدان استاندارد (آسکوربیک اسید) فعالیت آنتی اکسیدانی بسیار خوبی را نشان دادند

شکل 4.8. بررسی اثر آنتی اکسیدانی مرزه با روش DPPH

**4-5- نتایج حاصل از بررسی اثر مهاری نانوذارت تولید شده بر تولید رشته های آمیلوئیدی**

تـأثیر عصـــاره در پنج غلظـت مختلف میلی گرم بر میلی لیتر، بررسـی شـد. بررسـی شـیب غلظت عصـاره نشان داد که در غلظت های پایین تر از 151.5 میلی گرم بر میلی لیتر، تأثیر مهاری مشــاهده نشــد و در غلظت های بالای 757 میلی گرم بر میلی لیتر، میزان مهـار، تغییری نـداشـــت. از طرفی، برای بررســـی دقیق تر و مقـایســـه جزئی تر بین نتـایج silico in و vitro in بهتر اسـت که اجزای عصـاره جدا شـود و مورد ارزیابی قرار گیرند تا تأثیر عوامل دیگر، حذف گردد. نتایج آزمایشــگاهی نشــان دادند میزان IC50 آنزیم اسـتیل کولین اسـتراز برابر با 2.03 ml/mg بوده اسـت و بیشــترین مهار آنزیم با غلظت 606 میلی گرم بر میلی لیتر می باشد.

شکل 4.9 درصد مهار اسـتیل کولین اسـتراز

براي نشان دادن مهار تشكيل فيبرآميلوئيدي از روش كنگورد استفاده شد. همانطور كه شكل پایین نشان ميدهد، طيف جذبي (شدت جذب) فيبرهاي آميلوئيدي در حضور نانوذرات نقره در غلظت بهينه (٣ ميكروگرم/ميلي ليتر( نسبت به ليزوزيم به تنهايي با غلظت ٢ ميلي گرم/ميلي ليتر كاهش يافته و طيف جذبي نيز به سمت چپ جابجايي پيدا كرده است. كه اين نشان دهنده كاهش تشكيل فيبرهاي آميلوئيدي در حضور نانوذرات نقره در غلظت ٣ ميكروگرم بر ميلي ليتر است.

شکل 4.10. مهار تشكيل فيبرآميلوئيدي

**فصل پنجم**

**بحث و**

**نتیجه گیری**

**5- بحث و نتیجه گیری**

**5-1- مقدمه**

روش­هاي شيميايي و فيزيكي که منجر به توليد نانوذرات مي­شوند اگر چه ممكن است به طور موفقيت­آميزي منجر به توليد نانوذرات خالص شوند ولي از لحاظ اقتصادي گران و به صورت بالقوه براي محيط خطرناك مي‌باشد استفاده از موجودات بيولوژيك مانند ميكروارگانيسم‌ها، عصاره گياه يا بيوماس گياه مي‌تواند جايگزيني براي روش­هاي فيزيكي و شيميايي براي توليد نانوذرات باشد به گونه‌اي كه به محيط زيست نيز صدمه‌اي وارد نكند(Bhattacharya and Rajinder 2005,Mohanpuria *et al* 2008, Sastry *et al* 2004). همچنين باکتري­ها و قارچ­ها به دليل داشتن پروتئين­هاي فراوان قادر به توليد نانوذرات فراوان مي باشند ولي به دليل احتمال آلودگي در حين کار و بيماريزا بودن برخي از ميکروارگانيسم ها (قارچ ها و باکتري ها) در اين تحقيق سعي بر آن شد که ازگياهان براي توليد نانوذرات طلا و نقره استفاده گردد و از طرف ديگر گياه يونجه به دليل قابليت پرتئين سازي بالا مي­تواند آنزيم­هايي که در مسير بيوسنتز نانوذرات نقش دارند توليد نمايندبه همين دليل اين گياه يکي از گياهان با قابليت بيوسنتز نانوذرات معرفي مي­شود و همچنين به دليل چين­هاي متعدد گياه يونجه و دسترسي آسان به اين گياه در بين گياهان مورد توجه قرار گرفت.

هدف از اجراي تحقيق حاضر بررسي سنتز سبز نانوذرات نقره با استفاده از عصاره گیاه *Satureja hortensis* و بررسی خواص آنتی اکسیدانی و ضد آلزایمری آن بود.

**5-2- تحلیل نتایج حاصل از بررسی فرایند تولید و ساختار نانوذرات با روش های مختلف**

**5-3- تحلیل نتایج حاصل از بررسی اثر آنتی اکسیدانی با روش DPPH**

**5-4- تحلیل نتایج حاصل از بررسی اثر مهاری نانوذارت تولید شده بر تولید رشته های آمیلوئیدی**

**5-5- نتیجه گیری کلی**

**5-6- پیشنهادات برای کارهای آینده**

**منابع و مآخذ:**

**Abstract**

**Key words:**



Islamic Azad Univercity

Rasht Branch

Faculty of Sciences

Department of Biology

Presented in partial fulfillment of the requirements for (M.Sc) degree

Title:

Supervisor:

Author:

Date:

(January, 2019)

Arasteh, A., Habibi-Rezaei, M., Ebrahim-Habibi, A., & Moosavi-Movahedi, A. A. (2012). Response surface methodology for optimizing the bovine serum albumin fibrillation. *The protein journal, 31*(6), 457-465.

Bezić, N., Šamanić, I., Dunkić, V., Besendorfer, V., & Puizina, J. (2019). Essential oil composition and internal transcribed spacer (ITS) sequence variability of four South-Croatian Satureja species (Lamiaceae). *Molecules, 14*(3), 925-938.

Bhushan, B. (2017). Introduction to nanotechnology *Springer handbook of nanotechnology* (pp. 1-19): Springer.

Budovsky, A., Yarmolinsky, L., & Ben‐Shabat, S. (2015). Effect of medicinal plants on wound healing. *Wound Repair and Regeneration, 23*(2), 171-183.

Cabana, R., Silva, L. R., Valentão, P., Viturro, C. I., & Andrade, P. B. (2013). Effect of different extraction methodologies on the recovery of bioactive metabolites from Satureja parvifolia (Phil.) Epling (Lamiaceae). *Industrial Crops and Products, 48*, 49-56.

Castellani, R. J., Rolston, R. K., & Smith, M. A. (2010). Alzheimer disease. *Disease-a-month: DM, 56*(9), 484.

Chiti, F., & Dobson, C. M. (2016). Protein misfolding, functional amyloid, and human disease. *Annual review of biochemistry, 75*(1), 333-366.

Cummings, J. L., & Cole, G. (2002). Alzheimer disease. *Jama, 287*(18), 2335-2338.

Dar, R. A., Shahnawaz, M., & Qazi, P. H. (2017). General overview of medicinal plants: A review. *The journal of phytopharmacology, 6*(6), 349-351.

Ebadollahi, A., Ziaee, M., & Palla, F. (2020). Essential oils extracted from different species of the Lamiaceae plant family as prospective bioagents against several detrimental pests. *Molecules, 25*(7), 1556.

Elechiguerra, J. L., Burt, J. L., Morones, J. R., Camacho-Bragado, A., Gao, X., Lara, H. H., & Yacaman, M. J. (2005). Interaction of silver nanoparticles *Journal of nanobiotechnology, 3*(1), 1-10.

Emerich, D. F., & Thanos, C. G. (2021). Nanotechnology and medicine. *Expert opinion on biological therapy, 3*(4), 655-663.

Frezza, C., Venditti, A., Serafini, M., & Bianco, A. (2019). Phytochemistry, chemotaxonomy, ethnopharmacology, and nutraceutics of Lamiaceae. *Studies in natural products chemistry, 62*, 125-178.

Guilger-Casagrande, M., & Lima, R. d. (2019). Synthesis of silver nanoparticles mediated by fungi: a review. *Frontiers in bioengineering and biotechnology, 7*, 287.

Holm, N. K., Jespersen, S. K., Thomassen, L. V., Wolff, T. Y., Sehgal, P., Thomsen, L. A., . . . Otzen, D. E. (2007). Aggregation and fibrillation of bovine serum albumin. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics, 1774*(9), 1128-1138.

Huang, H., Ullah, F., Zhou, D.-X., Yi, M., & Zhao, Y. (2019). Mechanisms of ROS regulation of plant development and stress responses. *Frontiers in Plant Science, 10*, 800.

Hulla, J., Sahu, S., & Hayes, A. (2015). Nanotechnology: History and future. *Human & experimental toxicology, 34*(12), 1318-1321.

KalantariMianaji, N., & Rahnema, M. (2016). Effect of aqueous extract of Saturejahortensis on gastric ulcer induced by acetic acid in rats. *Journal of Inflammatory Diseases, 20*(2), 17-10.

Karpiński, T. M. (2020). Essential oils of Lamiaceae family plants as antifungals. *Biomolecules, 10*(1), 103.

Khaydarov, R. R., Khaydarov, R. A., Estrin, Y., Evgrafova, S., Scheper, T., Endres, C., & Cho, S. (2009). Silver nanoparticles *Nanomaterials: risks and benefits* (pp. 287-297): Springer.

Lin, V., & Koenig, J. (2020). bovine serum albumin. *Biopolymers: Original Research on Biomolecules, 15*(1), 203-218.

Mamedov, N. (2012). Medicinal plants studies: history, challenges and prospective. *Med Aromat Plants, 1*(8), e133.

Mayeux, R., & Stern, Y. (2012). Epidemiology of Alzheimer disease. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine, 2*(8), a006239.

McNeil, S. E. (2005). Nanotechnology for the biologist. *Journal of leukocyte biology, 78*(3), 585-594.

Niknejad, F., Nabili, M., Ghazvini, R. D., & Moazeni, M. (2015). Green synthesis of silver nanoparticles: advantages of the yeast Saccharomyces cerevisiae model. *Current medical mycology, 1*(3), 17.

Noctor, G., Reichheld, J.-P., & Foyer, C. H. (2018). *ROS-related redox regulation and signaling in plants.* Paper presented at the Seminars in Cell & Developmental Biology.

Novak, J., Bahoo, L., Mitteregger, U., & Franz, C. (2006). Satureja hortensis L., Lamiaceae. *Flavour and Fragrance Journal, 21*(4), 731-734.

Panizzi, L., Flamini, G., Cioni, P., & Morelli, I. (2017). Lamiaceae. *Journal of Ethnopharmacology, 39*(3), 167-170.

Poole Jr, C. P., & Owens, F. J. (2013). *Introduction to nanotechnology*: John Wiley & Sons.

Rafieian-Kopaei, M. (2012). Medicinal plants and the human needs. *Journal of Herbmed Pharmacology, 1*.

Raja, R. R. (2012). Medicinally potential plants of Labiatae (Lamiaceae) family: an overview. *Research journal of medicinal plant, 6*(3), 203-213.

Ramsden, J. (2016). *Nanotechnology: an introduction*: William Andrew.

Rasaee, I., Ghannadnia, M., & Baghshahi, S. (2018). Biosynthesis of silver nanoparticles using leaf extract of Satureja hortensis treated with NaCl and its antibacterial properties. *Microporous and Mesoporous Materials, 264*, 240-247.

Ravindran, A., Chandran, P., & Khan, S. S. (2013). Biofunctionalized silver nanoparticles: advances and prospects. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 105*, 342-352.

Santos-Sánchez, N. F., Salas-Coronado, R., Villanueva-Cañongo, C., & Hernández-Carlos, B. (2019). *Antioxidant compounds and their antioxidant mechanism*: IntechOpen London, UK.

Satıl, F., & Kaya, A. (2019). Leaf anatomy and hairs of Turkish Satureja L.(Lamiaceae).

Shahverdi, A. R., Minaeian, S., Shahverdi, H. R., Jamalifar, H., & Nohi, A.-A. (2007). Rapid synthesis of silver nanoparticles using culture supernatants of Enterobacteria: a novel biological approach. *Process Biochemistry, 42*(5), 919-923.

Sharafzadeh, S., & Alizadeh, O. (2012). Some medicinal plants cultivated in Iran. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*(Issue), 134-137.

Sies, H., & Jones, D. P. (2020). Reactive oxygen species (ROS) as pleiotropic physiological signalling agents. *Nature reviews Molecular cell biology, 21*(7), 363-383.

Srikar, S. K., Giri, D. D., Pal, D. B., Mishra, P. K., & Upadhyay, S. N. (2016). Green synthesis of silver nanoparticles: a review. *Green and Sustainable Chemistry, 6*(1), 34-56.

Srinivas, U. S., Tan, B. W., Vellayappan, B. A., & Jeyasekharan, A. D. (2019). ROS and the DNA damage response in cancer. *Redox biology, 25*, 101084.

Srivastava, J., Lambert, J., & Vietmeyer, N. (2017). *Medicinal plants: An expanding role in development* (Vol. 320): World Bank Publications.

Suárez, A., Echandi, M. M., Ulate, G., & Cicció, J. F. (2013). Pharmacological activity of the essential oil of Satureja viminea (Lamiaceae). *Revista de biología tropical, 51*(1), 247-252.

Van Wyk, B.-E., & Wink, M. (2018). *Medicinal plants of the world*: CABI.

Vaziri, S., Fazilati, M., Habib, Nazem, O., & Arasateh, A. (2018). Use of amyloid nano?fibrils as a protein scaffold for immobilization of lipase enzyme from Pseudomonas cepacia. *Quarterly Journal of Experimental Animal Biology, 7*(1), 55-71.

Yu, S.-j., Yin, Y.-g., & Liu, J.-f. (2013). Silver nanoparticles in the environment. *Environmental Science: Processes & Impacts, 15*(1), 78-92.

حصاریان. (1396). *روشی جدید در سنتز سبز نانوذرات منگنز*. Paper presented at the اولین کنفرانس ملی نانو از سنتز تا صنعت. https://civilica.com/doc/671851

دوستی. (1395). سنتز سبز نانوذرات نقره با استفاده از عصاره آبی گیاه شاه‌تره و بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی آن. *مجله علوم پزشکی رازی, 26*(6), 105-117.

رضایی. (1398). سنتز سبز نانوذره نقره با استفاده از عصاره گیاه پیچ امین الدوله (Lonicera nummularifolia) و بررسی اثرات آنتی اکسیدانی، ضدمیکروبی و ضدسرطانی آن علیه رده سلولی سرطان ریه (A549). *مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بابل, 21*(1), 207-214.

طاعتی. (1401). سنتز نانوذره نقره با سدیم برو‌هیدرات به روش احیای شیمیایی جهت تولید نانوکامپوزیت نقره آنتی‌باکتریال زیست‌تخریب‌پذیر به روش Solution Blending تولید نانوکامپوزیت نقره آنتی باکتریال زیست‌تخریب‌پذیر. *فصلنامه علوم و تکنولوژی محیط زیست, 22*(11), 1-15. doi: 10.22034/jest.2021.50778.4994

مرادي. (1398). مطالعه جذب سطحي ليزوزيم از محلول هاي آبي برروي نانو پودرهاي هيدروکسي آپاتيت. *نانوفناوری, 63*(4).

منافی. (1395). سنتز و بررسی خواص نانوذرات پروسکایت LaMnO3 به روش حالت جامد. *نانومواد, 8*(27), 163-169.

منصوری. (1399). ارزیابی فیتوشیمیایی، آنتی اکسیدانی و اثر مهاری عصاره گیاه دارویی Citrullus colocynthis L. بر تولید نانوبیوفیبریل های آمیلوئیدی از آلبومین سرم گاوی به عنوان یک پروتئین مدل.

میرزایی. (1395). بررسی ترکیبات و خصوصیات شیمیایی عصاره گیاه گل گندم روی رده سلولی سرطان کولون و آنالیز بیان ژن‌های آپوپتوزی. *Tehran University Medical Journal, 74*(9).

1. -Phytoalexines [↑](#footnote-ref-1)
2. - Plants [↑](#footnote-ref-2)
3. - Embryophyta ( Vascular Plants ) [↑](#footnote-ref-3)
4. - Spermatophytes [↑](#footnote-ref-4)
5. - Angiosperms [↑](#footnote-ref-5)
6. - Dicotyledon [↑](#footnote-ref-6)
7. - Lamiales [↑](#footnote-ref-7)
8. - Geraniol [↑](#footnote-ref-8)
9. - NANOS [↑](#footnote-ref-9)
10. -Norio Taniguchi [↑](#footnote-ref-10)
11. - K Erik Drexler [↑](#footnote-ref-11)
12. - National Nanotechnology Initiative [↑](#footnote-ref-12)
13. -NEM [↑](#footnote-ref-13)
14. polycrystalline [↑](#footnote-ref-14)
15. light Dynamic scattering [↑](#footnote-ref-15)
16. Light Dynamic Scattering [↑](#footnote-ref-16)