



Metal/Metal Oxide-Based Nanoplatfoms with Eugenol: A Comparative Paradigm for Green Synthesis and Dual-Functional (Cytotoxic/Antioxidant) Therapies in Gastric and Lung Cancers

Somayeh Ataei Jaliseh^{1,**}, Fahimeh Najafi^{2,*}, Zahra Nikuei¹

^{1, **} Department of Biology, Ra. C., Islamic Azad University, Rasht, Iran

^{2,*} Department of Chemistry, Ro.C. Islamic Azad University, Roudehen, Iran

Received: 2026-04-12

Revised: 2026-05-01

Accepted: 2026-06-10

Abstract: The convergence of green nanotechnology and phytopharmacology represents a transformative strategy to overcome the limitations of conventional cancer therapies. In this review, the green synthesis design and dual-functional biological activity of eugenol-capped metal/metal oxide nanoparticles (specifically Ag, ZnO, and Fe₃O₄) were synthesized and evaluated against two major malignancies: lung and gastric cancers (lung adenocarcinoma (A549) and gastric adenocarcinoma (AGS)). The results indicate that a simple and reproducible co-precipitation method, utilizing Eg as a dual reducing and stabilizing agent, produces stable crystalline and colloidal nanoparticles (20-50 nm) with prominent physicochemical properties. Comparative cytotoxicity evaluation demonstrates a consistent potency (Ag-NPs > ZnO-NPs > Fe₃O₄-NPs) and reveals significant tumor-type dependent sensitivity, with A549 cells exhibiting greater vulnerability than AGS cells. Conversely, these same nanoparticles, particularly ZnO nanoparticles, demonstrate considerable free radical scavenging capacity in cell-free DPPH assays, indicating a unique property imparted by Eg. Consequently, this innovative approach is promising for the development of effective cancer therapies with fewer side effects.

Keywords: Green synthesis, eugenol, metal nanoparticles, gastric and lung cancer, cytotoxicity and antioxidant activity.

Corresponding Author. Email: fahimnajafi@gmail.com

How to Cite This Article:

najafi F, Ataei jaliseh S, Nikuei Z. Eugenol as a green bridge: A comparative study of metal/metal oxide nanoplatfoms for simultaneous cytotoxicity and antioxidant therapy in gastric and lung cancers.. Nanomeghyas. 2026;():e738109 (In Persian). doi: 10.22034/ns.2026.2090758.1431



This is an open access article under the CC-BY license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

اوژنول به عنوان یک پل سبز: مطالعه تطبیقی نانوپلتفرم‌های فلز/اکسید فلز برای سمیت سلولی همزمان و درمان آنتی‌اکسیدانی در سرطان‌های معده و ریه

سمیه عطائی جلیسه^{۱*}، فهیمه نجفی^{۲*}، زهرا نیکوئی^۱

^{۱*} گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت، رشت، ایران

^{۲*} گروه شیمی، واحد رودهن، دانشگاه آزاد اسلامی، رودهن، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۳/۲۰

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۵/۰۲/۱۱

تاریخ دریافت: ۱۴۰۵/۰۱/۲۳

چکیده: همگرایی فناوری نانو سبز و فیتو فارماکولوژی، یک راهبرد متحول‌کننده برای غلبه بر محدودیت‌های درمان‌های رایج سرطان است. در این بررسی، طراحی سنتز سبز و فعالیت بیولوژیکی دو عملکردی نانوذرات فلزی/اکسید فلزی پوشش‌دار شده با اوژنول (به ویژه Ag، ZnO و Fe_3O_4) در برابر دو بدخیمی اصلی سرطان ریه - معده (آدنوکارسینوم ریه (A549) و آدنوکارسینوم معده (AGS)) ترکیب و ارزیابی شد. نتایج نشان می‌دهد که یک روش هم رسوبی ساده و تکرارپذیر، با استفاده از Eg به عنوان یک عامل کاهنده و پایدارکننده دوگانه، نانوذرات کریستالی و کلئیدی پایدار (۲۰-۵۰ نانومتر) با ماهیت‌های فیزیکیوشیمیایی برجسته تولید می‌کند. ارزیابی مقایسه‌ای سمیت سلولی، قدرت ثابتی را نشان می‌دهد ($Ag-NPs > ZnO-NPs > Fe_3O_4-NPs$) و حساسیت وابسته به نوع تومور چشمگیری را نشان می‌دهد، به طوری که سلول‌های A549 آسیب‌پذیری بیشتری نسبت به سلول‌های AGS نشان می‌دهند. از طرف دیگر، همین نانوذرات، به ویژه نانوذرات ZnO، ظرفیت قابل توجهی در جذب رادیکال‌های آزاد در سنجش‌های DPPH بدون سلول نشان می‌دهند که نشان‌دهنده یک ویژگی منحصر به فرد ناشی از Eg است.

واژگان کلیدی: سنتز سبز، اوژنول، نانوذرات فلزی، سرطان ریه و سرطان معده، سمیت سلولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی.

نویسنده مسئول : fahimnajafi@gmail.com

نحوه استناد به این مقاله: نجفی فهیمه، عطائی جلیسه، نیکوئی زهرا. اوژنول به عنوان یک پل سبز: مطالعه تطبیقی نانوپلتفرم‌های فلز/اکسید فلز برای سمیت سلولی همزمان و درمان آنتی‌اکسیدانی در سرطان‌های معده و ریه. Nanomeghyas. 1405();e738109. doi: 10.22034/ns.2026.2090758.1431

این مقاله تحت مجوز دسترسی آزاد CC-BY منتشر شده است (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>)



۱- مقدمه

در سال ۲۰۲۳، Shabbir و همکاران با سنتز نانوذرات اکسید آهن به روش گیاهی، توانستند اثرات سمی قابل توجهی بر سلول‌های سرطانی مشاهده کنند [۱۳].

اوژنول (۴-آلیل-۲-متوکسی فنول)، جزء فنلی اصلی روغن میخک، به عنوان یک کاندیدای ایده‌آل برای نانوسنتز سبز است. دارای خواص ضد میکروبی و ضد التهابی است که به خوبی شناخته شده و دارای مستندات زیادی است و از طریق مهار رادیکال‌های آزاد و کلیلت کردن فلزات، فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی دارد (۸). همچنین Eg از طریق مکانیسم‌هایی شامل توقف چرخه سلولی، دیلاریزاسیون غشای میتوکندری و تعدیل مسیرهای MAPK و PI3K/Akt، اثرات مستقیم پیش‌آپوپتوتیک را در برابر رده‌های سلولی سرطانی مختلف، از جمله سرطان‌های ریه و معده، نشان می‌دهد [۹]. وقتی که Eg در سنتز نانوذرات به کار می‌رود، این Eg از نقش یک معرف سبز ساده فراتر رفته و به یک جزء جدایی‌ناپذیر و از لحاظ عملکردی فعال نانوپلتفرم تبدیل می‌شود. و به طور بالقوه خاصیت زیست‌فعالی خودش را به نانوساختار هیبریدی می‌دهد [۹]. در بررسی مروری پادی و همکاران در سال ۲۰۲۲ تأکید شده است که اوژنول علاوه بر خواص ضدسرطانی، در سنتز نانوذرات زیست‌سازگار نقش مهمی ایفا می‌کند. بنابراین به نظر میرسد در سنتز سبز نانوذرات به منظور کاربرد دارویی آنها موثر باشد. بررسی‌های گوناگونی این پتانسیل را نشان داده اند به طوری که تاکنون از در تحقیقات بسیاری از سنتز سبز در درمان‌های مختلفی مانند خواص آنتی اکسیدانی و مهار سلول‌های سرطانی و ضد میکروبی استفاده شده است [۱۰]. در سال ۲۰۲۵، Guo و همکار در بررسی نشان دادند که نانوذرات ZnO توانایی بالایی در القای آپوپتوز سلول‌های سرطان معده دارند [۱۵]. همچنین در سال ۲۰۲۵، Zhao و همکاران گزارش کردند که نانوذرات نقره سنتز شده به روش سبز، مرگ سلولی و توقف چرخه سلولی در سلول‌های سرطان معده را به طور معناداری افزایش می‌دهند [۱۶]. جهان پیمای ثابت و همکاران در سال ۲۰۲۲ بر روی سنتز سبز نانو ذرات اکسید روی توسط عصاره گیاه آویشن شیرازی (Zataria multiflora) و بررسی اثرات ضد میکروبی، سیتوتوکسیک و آپاپتوتیک آن روی رده سلولی HT-29 کار کردند و دریافتند که IC50 نانوذرات ۴/۲۸۲ ml/μg بوده و در این غلظت بیان ژن p53 و Casp3 به ترتیب به میزان ۱/۲۲ و ۳/۸۱ برابر افزایش پیدا کرده است که از لحاظ آماری معنادار بوده است و نتایج فلوسایتومتری میزان آپاپتوز ۷۶٪ درصدی را نشان داد [۱۱]. فراهانی و همکاران در سال ۲۰۲۲ بر روی بررسی مقایسه ای اثرات سمیت سلولی نانوذرات اکسید آهن، اکسید روی و نقره روی گلبول‌های سفید و رده سلولی لوکمیایی HPB-ALL در In Vitro کار کردند و دریافتند که هر سه نانوذره، اثرات سمیت سلولی را در هر دو رده سلولی نشان دادند. اثرات سمیت سلولی نانوذرات در رده سلولی لوکمیایی HPB-ALL بیشتر از گلبول‌های سفید بود. در بین این نانوذرات، نانوذرات نقره نسبت به دو نانو

سرطان ریه، عمدتاً کارسینوم ریه سلول غیرکوچک (NSCLC) و آدنوکارسینوم معده همچنان از علل اصلی مرگ و میر جهانی مرتبط با سرطان هستند که با تشخیص دیرهنگام، پیشرفت تهاجمی و مقاومت مکرر به درمان مشخص می‌شوند [۱-۲]. درمان‌های اساسی کنونی (پروتودرمانی، جراحی، شیمی‌درمانی براساس پلاتین و عوامل هدفمند) اغلب با سمیت شدید خارج از هدف، شاخص‌های درمانی محدود و بروز اجتناب‌ناپذیر کلون‌های مقاوم روبرو می‌شوند [۳]. این تنگنای بالینی، پیشرفت سریع روش‌های درمانی نوینی را که می‌توانند سلول‌های بدخیم را به طور گزینشی هدف قرار دهند و در عین حال بافت سالم را حفظ کنند، الزامی و واجب است که یک اصل اساسی در مداوا و معالجه سرطان است.

دانش نانوفناوری دورنمای درمانی سرطان را به شیوه برگشت‌ناپذیری متحول کرده است. یکی از روش‌هایی که اخیراً در پروژه‌های پزشکی سرطان بسیار گسترده شده است، استفاده از نانوذرات به عنوان حامل و هم چنین هدفدار نمودن داروهای ضد سرطانی جهت تحویل اختصاصی دارو به بافت سرطانی و کم نمودن عوارض جانبی میباشد [۱۲].

تمام نانوذرات (NPs)، به علت نسبت سطح به حجم زیاد و شیمی سطح قابل تنظیم، مزیت‌های بی‌همتایی را دارا است که عبارتست از افزایش حلالیت دارو، گردش طولانی مدت، تجمع غیرفعال به وسیله اثر افزایش نفوذپذیری و ماندگاری (EPR)، و پتانسیل هدف‌گیری فعال به وسیله اتصال لیگاند سطحی [۴]. نانوذرات فلزی / اکسید فلزی معدنی (مانند Ag، ZnO، Fe₃O₄) تنها حامل‌های غیرفعال داروی ضد سرطانی نمی باشند، بلکه عامل‌های درمانی فعالی می باشند که توانایی القای مرگ سلول‌های سرطانی به وسیله مکانیزم‌هایی نظیر تولید کاتالیزوری ROS، اختلال یون و هایپرترمی هستند [۵]. در روش سنتز شیمیایی نانوذرات فلزی و اکسید فلزی غالباً از کاهنده‌ها و تثبیت‌کننده‌های سمی استفاده می شود که نگرانی‌هایی را در مورد اثرات زیست‌محیطی ایجاد می‌کند و بقایای مضر بیولوژیکی را ایجاد می‌کند که می‌تواند پاسخ‌های ایمنی ناخواسته را تحریک کرده و ترجمه بالینی را پیچیده کند [۶]. سنتز سبز با استفاده از مواد شیمیایی گیاهی مشتق شده از گیاه، یک راه حل نوین است. این رویکرد از خاصیت ذاتی ردوکس زیست‌مولکول‌ها جهت کاهش یون‌های فلزی و همچنین پوشش نانوذرات به وجود آمده استفاده می‌کند و باعث ایجاد ساختارهایی می شود که ذاتاً زیست‌سازگارتر، پایدارتر و غالباً دارای فعالیت زیستی افزایش‌یافته مشتق شده از خود عامل پوشش‌دهنده هستند [۷].

نمونه در هر نقطه طول موج تحلیل شد و طیف نهایی در بازه ۴۵۰۰ الی ۵۰۰ cm^{-1} به دست آمد.

۲-۲- آنالیز XRD

برای بررسی و تشخیص ساختار کریستال نمونه های نانوذرات ساخته شده از دستگاه پراش اشعه ایکس (PW1730، فیلیپس هلند) با طول موج ۱/۵۴۰۵۶ آنگستروم ($\lambda = 1.54056 \text{ \AA}$, Cu-K α X-ray tube) استفاده شد. ابتدا نمونه به صورت پودر کمتر از ۰/۰۶۲ میلی متر آسیاب شد. مقدار از نمونه در مرکز یک دیسک کوارتز قرار گرفت. حدود ۳ قطره استون به نمونه پودری اضافه شد. نمونه بوسیله یک میله شیشه بصورت یک لایه نازک پخش شد. سپس نمونه پخش شده بر روی مرکز پراش سنج چرخان در دستگاه قرار گرفت و اشعه ایکس با زاویه ده تا هشتاد درجه روی نمونه منعکس شد و زاویه ۲ θ اندازه گیری شد.

۳-۲- آنالیز Zeta potential

آنالیز تعیین پتانسیل زتا نانوذرات ساخته شده جهت مشخص شدن پایداری نانوذره با استفاده از دستگاه شرکت (HORIBA مدل SZ-100، ژاپن) انجام شد. تعیین پتانسیل زتا یک تکنیک قابل توجه برای نانوکریستال ها برای تخمین بار سطح است که می تواند برای درک ثبات فیزیکی نانوسوسپانسیون ها استفاده شود. برای این کار یک دهم گرم از نانوذره در ۵۰ میلی لیتر اتانول ریخته شد و به مدت ۵ دقیقه سونیکه شد. سپس نمونه در سل مخصوص دستگاه ریخته شد و در درون دستگاه قرار گرفت.

۴-۲- آنالیز SEM

برای بررسی سطح نانوذره بیوسنتز شده از میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM) شرکت TESCAN مدل MIRA3 استفاده شد. مقدار یک صدم گرم از نمونه^۲ به اتانول اضافه شد و ظرف حاوی محلول به مدت ۱۰ دقیقه داخل دستگاه اولتراسونیک قرار گرفت، بعد از اتمام کار دستگاه اولتراسونیک یک قطره از نمونه توسط پیپت بر روی فویل آلومینیومی جا نمونه^۳ ای ریخته می^۴ شود و در داخل دستگاه SEM قرار گرفت و با بزرگنمایی های مختلف عکسبرداری شد.

۵-۲- کشت سلولی

رده های سلولی آدنوکارسینومای معده انسان (AGS) و آدنوکارسینومای ریه انسان (A549) از بانک سلولی انستیتو پاستور ایران تهیه شدند. سلول ها در محیط کشت Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) حاوی ۱۰ درصد سرم جنین گاوی (FBS) و ۱ درصد پنی سیلین/استرپتومایسین در شرایط استاندارد (دمای ۳۷ درجه سانتی گراد، رطوبت ۹۵٪ و اتمسفر حاوی ۵٪ دی اکسید کربن) کشت و

ذره دیگر اثر سمیت سلولی معنی دار در رده سلولی لوکمیایی-HPB ALL داشتند. بررسی میزان IC₅₀، تخریب DNA و القای آپوپتوز در رده سلولی لوکمیایی HPB-All با نانوذرات نقره به میزان معنی داری بیشتر از دو نانوذره دیگر بود [۱۲].

هدف این پژوهش، سنتز سبز و همه سه نانوذره نقره، اکسید روی و اکسید آهن با استفاده از اوژنول به عنوان عامل کاهنده و پایدارکننده ی چندمنظوره، و ارزیابی مقایسه ای جامع از خواص سیتوتوکسیک و آنتی اکسیدانی آن ها بر روی رده های سلولی سرطان ریه (A549) و معده (AGS) است.

۲- بخش تجربی

سنتز نانوذره اکسید روی ZnO، نقره Ag، اکسید آهن Fe₃O₄

برای سنتز نانوذرات اکسید روی ZnO، نقره Ag، اکسید آهن (Fe₃O₄) از روش رسوبگذاری استفاده شد. به این ترتیب که ۱/۵ میلی لیتر اوژنول به ترتیب به ۱۲/۵ میلی لیتر محلول ۰/۵ مولار نیترات روی (Zn(NO₃)₂)، نیترات نقره (AgNO₃)، نیترات آهن (Fe(NO₃)₃) III اضافه شد. سپس قطره قطره سود ۲ مولار به همه محلول ها اضافه شد تا pH شان به ۸ برسد. محلولها به مدت نیم ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتیگراد استیرر شد تا به ترتیب رسوب سفید، رسوب سیاه و رسوب آجری رنگ حاصل شود. رسوبهای بدست آمده را دو بار با آب مقطر شستشو داده شدند و در دمای ۵۰ درجه به مدت ۴ ساعت خشک شدند.

برای بهینه سازی سنتز، اثر پارامترهایی شامل غلظت نهایی اوژنول (محدوده ۰/۵ تا ۳ میلی لیتر)، دما (۵۰، ۷۰ و ۹۰ درجه سانتی گراد) و زمان همزدن (۱۵، ۳۰ و ۶۰ دقیقه) ارزیابی شد شرایط بهینه برای هر سه نانوذره شامل غلظت اوژنول ۱/۵ میلی لیتر، دمای ۷۰ درجه سانتی گراد، زمان ۳۰ دقیقه و pH=۸ بدست آمد که منجر به تشکیل نانوذرات با یکنواختی و پایداری کلئیدی بیشینه گردید.

۱-۲- آنالیز FT-IR

طیف سنجی مادون قرمز تبدیل فوری (FT-IR) برای بررسی حضور گروه های عاملی مختلف در نانوذرات ساخته شده با استفاده از دستگاه اسپکترومتر شرکت Perkin Elmer (Spectrum 100) انجام شد. در این روش ابتدا از پودر نانوذرات و پودر برمید پتاسیم قرص شفافی تهیه شد و در محل خوانش دستگاه FT-IR قرار گرفت. سپس یک اشعه با طول موج های مختلف هم^۲ زمان به نمونه تابیده شد. سپس میزان جذب آن ها ثبت شد. در مرحله بعد اشعه دیگری با طول موج های دیگر برای تولید نقطه بعدی به نمونه تابانده شد و این روند چندین بار تکرار گردید. در پایان تمامی این اطلاعات توسط کامپیوتر گردآوری و برای تشخیص جذب

نگهداری شدند. محیط کشت به طور منظم هر دو تا سه روز یکبار تعویض گردید و سلول‌ها پس از رسیدن به تراکم $80-70\%$ ، با استفاده از تریپسین-EDTA ساب‌کالچر شدند.

۲-۶- تهیه سوسپانسیون سلولی و شمارش حیاتی

پیش از هر آزمایش، سلول‌ها از سطح فلاسک جدا شده و در محیط کشت کامل معلق گردیدند. زنده‌مانی اولیه سلول‌ها با استفاده از روش حذف رنگ تریپان بلو ارزیابی شد. به طور خلاصه، ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون سلولی با ۱۰ میکرولیتر از محلول 0.4% تریپان بلو مخلوط شد. پس از انکوباسیون کوتاه مدت، مخلوط حاصل در محفظه شمارش نتوبار قرار داده شده و سلول‌های زنده (غیررنگی) و مرده (آبی‌رنگ) مستقیماً زیر میکروسکوپ نوری شمارش شدند. تنها سوسپانسیون‌های سلولی با زنده‌مانی اولیه بیش از 95% برای آزمایش‌های بعدی مورد استفاده قرار گرفتند. تراکم سلولی نهایی با رقیق‌سازی به مقدار $10^4 \times 1$ سلول در هر چاهک از پلیت ۹۶ چاهکی تنظیم شد.

۲-۷- ارزیابی سمیت سلولی (سیتوتوکسیسیته) و تعیین غلظت مهارکنندگی نیمه‌حداکثر (IC_{50})

سمیت سلولی نانوذرات نقره (Ag-NPs)، اکسید روی (ZnO-NPs) و اکسید آهن (Fe₃O₄-NPs) با استفاده از آزمون استاندارد کاهش رنگ اکسید آهن $[(3-(4,5\text{-dimethylthiazol-2-yl})-2,5\text{-diphenyltetrazolium bromide}]$ مورد بررسی قرار گرفت. این آزمایش بر اساس توانایی میتوکندری سلول‌های زنده در احیای نمک زردرنگ تترازولیوم MTT به بلورهای نامحلول بنفش‌رنگ فورمازان است. پس از کشت سلول‌ها به مدت ۲۴ ساعت، محیط کشت هر چاهک با محیط حاوی غلظت‌های صعودی از نانوذرات (۰، ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۸۰ و ۱۶۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) جایگزین شد. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون مجدد، ۲۰ میکرولیتر از محلول MTT (۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در بافر فسفات) به هر چاهک اضافه و پلیت به مدت ۴ ساعت در شرایط استاندارد انکوبه شد. سپس، محیط حاوی MTT به دقت تخلیه و بلورهای فورمازان تشکیل شده در هر چاهک در ۱۰۰ میکرولیتر دی‌متیل‌سولفواکساید (DMSO) حل شدند. جذب نوری محصول نهایی در طول موج ۵۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه میکروپلیت ریدر (مدل Elx800، BioTek, USA) اندازه‌گیری شد. سپس درصد زنده‌مانی سلولی نسبت به گروه کنترل منفی محاسبه گردید.

برای حذف اثر جذب پس‌زمینه نانوذرات، چاهک‌های حاوی محیط کشت با همان غلظت نانوذرات اما بدون سلول به عنوان بلانک (Blank) در نظر گرفته شدند و جذب نوری آنها از جذب چاهک‌های مربوطه کسر گردید.

گروه‌های کنترل عبارتند از :

کنترل منفی (Negative Control): گروهی از سلول‌ها که تنها در معرض محیط کشت DMEM حاوی 0.1% DMSO (به عنوان حلال نانوذرات) بدون هیچ نانوذره‌ای قرار گرفتند. زنده‌مانی این گروه به عنوان 100% در نظر گرفته شد.

کنترل مثبت (Positive Control): برای تأیید حساسیت آزمون MTT، گروهی از سلول‌ها در معرض غلظت ۱۰۰ میکرومولار هیدروژن پراکسید (H_2O_2) به مدت ۴ ساعت قرار گرفتند که منجر به مرگ سلولی بیش از 90% شد.

کنترل حلال (Vehicle Control): گروهی که تنها معادل همان حجم حلال (0.1% DMSO) را بدون نانوذره دریافت کردند تا اثرات سمیت حلال حذف شود.

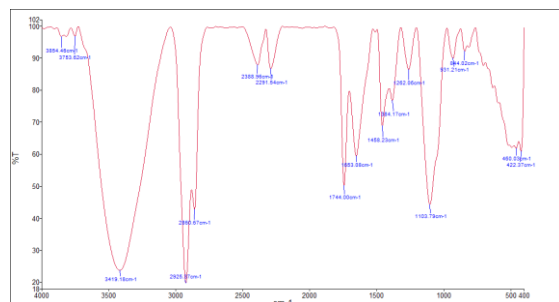
۲-۸- ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی: آزمون مهار رادیکال آزاد

DPPH

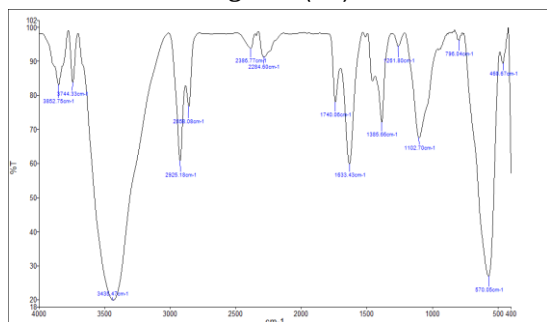
فعالیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از آزمون مهار رادیکال آزاد ۲،۲-دی‌فنیل-۱-پیکریل‌هیدرازیل (DPPH) اندازه‌گیری شد. این آزمون بر اساس توانایی نمونه در اهدای الکترون یا هیدروژن جهت خنثی‌سازی رادیکال آزاد پایدار DPPH، که در طول موج ۵۱۷ نانومتر جذب ویژه‌ای دارد، عمل می‌کند. محلول کاری DPPH با غلظت 0.4% میلی‌گرم بر میلی‌لیتر (حاصل از حل ۱۰ میلی‌گرم DPPH در ۲۵۰ میلی‌لیتر متانول) تهیه شد. مقدار ۳ میلی‌لیتر از این محلول با حجم معینی از محلول نانوذرات (حاوی غلظت‌های مختلف) مخلوط گردید تا غلظت نهایی نانوذرات در مخلوط برابر با IC_{50} محاسبه‌شده از آزمون سمیت سلولی (یا یک محدوده غلظتی مشخص) باشد. به موازات آن، نمونه‌های شاهد (حاوی ۳ میلی‌لیتر متانول به جای محلول DPPH) برای هر غلظت به منظور کسر اثر جذب ذاتی نانوذرات تهیه شد. مخلوط‌ها به خوبی هم‌زده شده و به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی و دمای اتاق انکوبه شدند. سپس جذب نوری هر نمونه در طول موج ۵۱۷ نانومتر با استفاده از اسپکتروفوتومتر UV-Vis اندازه‌گیری گردید. اسید اسکوربیک به عنوان استاندارد مرجع آنتی‌اکسیدانی در این آزمون استفاده شد. کل فرآیند در سه تکرار مستقل انجام پذیرفت.

۲-۹- تحلیل آماری

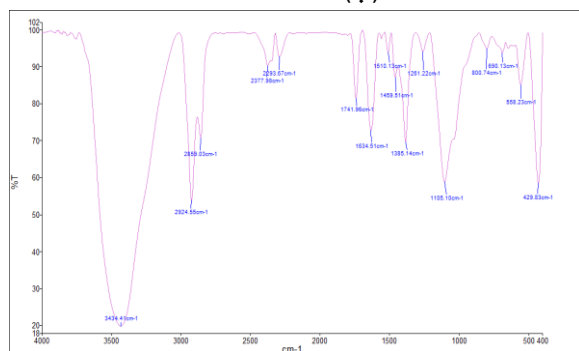
تمامی آزمایش‌ها در سه تکرار مستقل ($n=3$) و هر نقطه از هر آزمایش با ۶ تکرار تکنیکی انجام شد. داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف استاندارد گزارش شده‌اند. برای مقایسه بین گروه‌های متعدد از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) به دنبال آزمون تعقیبی Tukey's post hoc



الف) Ag-NPs



ب) Fe₃O₄-NPs



ج) ZnO-NPs

شکل ۱. شواهد طیف‌سنجی FTIR از عامل‌دارسازی موفق نانوذرات با اوژنول شامل (الف) Ag-NPs، (ب) ZnO-NPs و (ج) Fe₃O₄-NPs

پراش اشعه ایکس (XRD)

تجزیه و تحلیل پراش اشعه ایکس بلورینگی بالا را تأیید می‌کند. نانوذرات نقره دارای پیک‌هایی با ساختار مکعبی وجوه مرکزدار (FCC) بوده و نانوذرات ZnO دارای ساختار ورتزیت شش‌ضلعی بود. همچنین نانوذرات Fe₃O₄ دارای ساختار مکعبی اسپینل معکوس بود.

استفاده گردید. مقادیر IC_{50} با استفاده از رگرسیون غیرخطی در نرم‌افزار GraphPad Prism version 9.5 محاسبه شدند. سطح معنی‌داری، $P < 0.05$ در نظر گرفته شد. برای بررسی نرمال بودن توزیع داده‌ها از آزمون Shapiro-Wilk استفاده گردید. تمامی تحلیل‌های آماری با در نظر گرفتن ساختار کاملاً تصادفی انجام شد.

۳- تجزیه و تحلیل نتایج

سنتز سبز و توضیح ساختاری نانوذرات نقره

مکانیسم سنتز: اوژنول به عنوان یک عامل دو منظوره سه نوع نانوذره فلزی/اکسید فلزی شامل نانوذرات نقره (Ag-NPs)، اکسید روی (ZnO-NPs) و (Fe₃O₄-NPs) با استفاده از یک پروتکل هم‌رسوبی اصلاح‌شده در محیط قلیایی $pH \approx 8$ با بهره‌گیری از اوژنول به عنوان عامل زیستی کاهنده و پایدارکننده، سنتز شدند. بر اساس مکانیسم پیشنهادی، گروه‌های هیدروکسیل فنلی (OH) موجود در ساختار اوژنول، الکترون‌های لازم برای کاهش یون‌های فلزی (Ag^+ ، Zn^{2+} ، Fe^{3+}/Fe^{2+}) به حالت‌های فلزی صفر ظرفیتی یا اکسیدهای فلزی پایدار را فراهم می‌کنند. همزمان، خود اوژنول به فرم کینون اکسید می‌شود. مشتقات اکسیدشده اوژنول و سایر بخش‌های آروماتیک آن، از طریق برهمکنش‌های هماهنگی فلز-اکسیژن و $\pi-\pi$ ، بر سطح نانوذرات در حال تشکیل جذب شده و با ایجاد یک لایه پایدارکننده الکترواستاتیک و فضایی، از رشد و تجمع کنترل نشده نانوذرات ممانعت به عمل می‌آورند. تشکیل موفقیت‌آمیز نانوذرات با تغییر رنگ مشخصه محلول واکنش به ترتیب به رنگ‌های سیاه (Ag-NPs)، سفید شیری (ZnO-NPs) و قهوه‌ای-قرمز آجری (Fe₃O₄-NPs) تأیید گردید.

تخمین فیزیکوشیمیایی

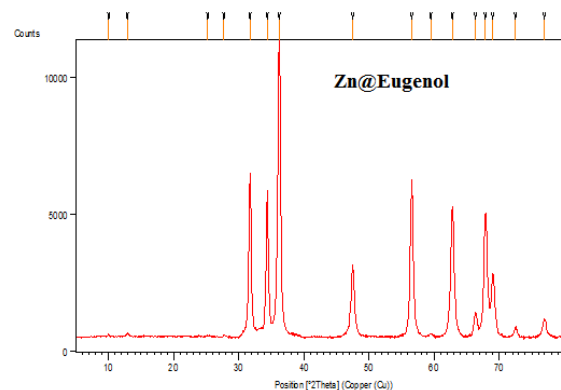
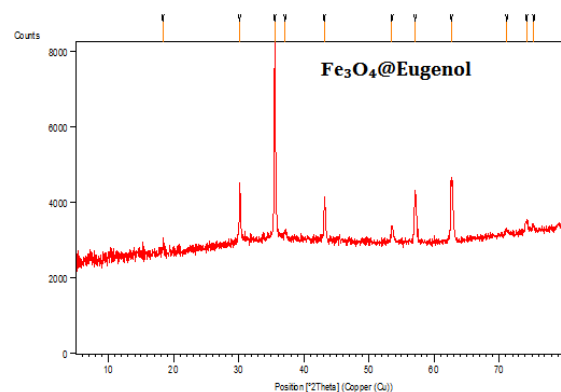
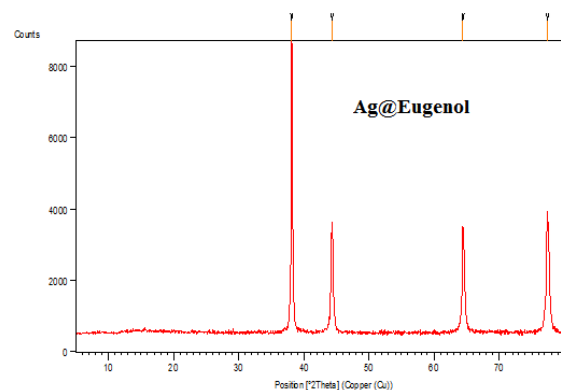
طیف‌سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه (FT-IR)

طیف‌ها برای همه نانوذرات عامل دار شده با اوژنول (Eg-NPs) نوارهای شاخصی را نشان می‌دهند به طوریکه یک پیک پهن در حدود 3400 cm^{-1} (کشش O-H فنلی Eg)، نوارهایی در $1600\text{--}1500\text{ cm}^{-1}$ (C=C آروماتیک Eg)، و ارتعاشات قطعی فلز-اکسیژن در ناحیه اثر انگشت (Ag-NPs) در حدود 500 cm^{-1} Zn-O، در حدود 450 cm^{-1} Fe-O، در حدود 570 cm^{-1} دیده می‌شوند. بنابراین این نتایج حاصل از FTIR نشان می‌دهد که هم تشکیل شبکه فلز-اکسیژن موفق بوده و هم وجود Eg روی سطح نانوذرات را تأیید کرد.

الگوی تئوری نقره fcc همخوانی دارد، به طوری که پیک (۱۱۱) دارای بیشترین شدت است که نشان دهنده جهت ترجیحی رشد در این نمونه است. میانگین اندازه بلورک تقریباً ۳۳ نانومتر محاسبه می شود. پارامتر شبکه برابر ۴/۰۸۵ آنگستروم بدست آمد که با مقدار پارامتر شبکه استاندارد نقره که ۴/۰۸۶ آنگستروم است نزدیکی و مطابقت خوبی دارد و نشان می دهد که عامل دار کردن با اورژنول تغییر محسوسی در پارامتر شبکه ایجاد نکرده است. این موضوع حاکی از جذب سطحی اورژنول بر روی نانوذرات، بدون نفوذ یا جایگزینی در شبکه بلوری است. طیف نانوذرات مگنتیت (Fe_3O_4) عامل دار شده با اورژنول نشان می دهد که تطابق کامل با ساختار مکعبی معکوس اسپینلی با مرجع استاندارد (JCPDS No. 01-088-0315) دارد که بلورینگی عالی دارد. مگنتیت (Fe_3O_4) دارای پیک های اصلی مشاهده شده در زوایای ۳۰، ۳۵/۵، ۴۳/۱، ۵۷، ۶۲/۶ و ۷۱/۱ درجه به ترتیب با صفحات بلوری (۲۲۰)، (۳۱۱)، (۴۰۰)، (۵۱۱)، (۴۴۰) و (۶۲۰) می باشد. پیک (۳۱۱) در ۳۵/۵ قوی ترین پیک طیف XRD است که مشخصه بارز ساختار اسپینلی مگنتیت می باشد. عدم مشاهده پیک های اضافی (به ویژه پیک مربوط به هماتیت $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$) در ۳۳/۲ درجه که با پیک (۱۰۴) شناخته می شود که نشان دهنده خلوص فازی بسیار زیاد در نمونه سنتز شده است. که موفقیت روش سنتز و اثر مهارکنندگی اورژنول در جلوگیری از اکسیداسیون مگنتیت به هماتیت را نشان می دهد. مشاهده پیک ضعیف در ۱۸/۳ درجه مربوط به صفحه (۱۱۱) با الگوی استاندارد مگنتیت مطابق است و تایید کننده ساختار اسپینلی است. میانگین اندازه بلورک تقریباً ۳۵ نانومتر است. مقدار پارامتر شبکه این طیف برابر با ۸/۳۸۱ آنگستروم است که در تطابق با مقدار پارامتر شبکه برای مگنتیت خالص ۸/۳۹۷ آنگستروم است. که نشان می دهد که عامل دارسازی با اورژنول، به عنوان یک پوشش سطحی آلی عمل کرده و سبب ایجاد تنش یا تغییر در ساختار بلوری داخلی Fe_3O_4 نشده است. گروه های عاملی اورژنول (هیدروکسیل و متوکسی) احتمالاً از طریق برهمکنش های فیزیکی یا پیوندهای ضعیف شیمیایی با یون های آهن سطحی جذب شده اند.

میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)

ریخت شناسی و توزیع اندازه نانوذرات سنتز شده با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) مورد بررسی قرار گرفت. تصاویر به دست آمده تفاوت های مورفولوژیکی فاحشی را بین سه نوع نانوذره نمایان کرد. نانوذرات اکسید روی (ZnO-NPs) عمدتاً به شکل کروی و با توزیع اندازه نسبتاً یکنواختی در محدوده ۲۰ تا ۴۰ نانومتر تشکیل شده بودند. در مقابل، نانوذرات نقره (Ag-NPs) تمایل به تشکیل آگلومرها یا خوشه های بزرگ تر نشان دادند که می تواند ناشی از برهمکنش های سطحی قوی تر یا کاهش دافعه الکترواستاتیک بین ذرات باشد. نانوذرات اکسید آهن ($\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-NPs}$) نیز با موفقیت سنتز شدند و ساختار چندوجهی با اندازه ذرات در محدوده ۳۰ تا ۵۰ نانومتر را نشان دادند. این تفاوت های



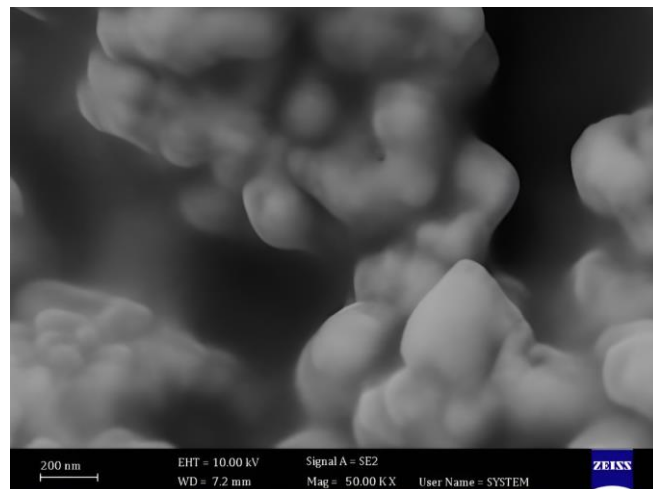
شکل ۲. شواهد طیف سنجی XRD از عامل دارسازی موفق نانوذرات با اورژنول شامل (الف) Ag-NPs ، (ب) ZnO-NPs و (ج) $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-NPs}$

طیف XRD نانوذرات نقره (AgNPs) عامل دار شده با اورژنول پیک های اصلی و آشکاری را در زوایای ۳۸/۱، ۴۴/۳، ۶۴/۴ و ۷۷/۴ درجه را نشان می دهد. این پیک ها به ترتیب مطابق با صفحات بلوری (۱۱۱)، (۲۰۰)، (۲۲۰) و (۳۱۱) ساختار مکعبی وجه مرکزی (fcc) نقره فلزی هستند (JCPDS No. 04-0783). تطابق کامل موقعیت پیک ها با استاندارد، خلوص بالای فاز نقره فلزی را تایید می کند. عدم مشاهده پیک های اضافی (مربوط به اکسیدهای نقره مانند Ag_2O یا AgO در ۳۲ و ۵۵ درجه) نشان دهنده پایدارسازی مؤثر نانوذرات توسط اورژنول در طول سنتز و جلوگیری از اکسیداسیون آن ها است. شدت نسبی پیک ها نیز با

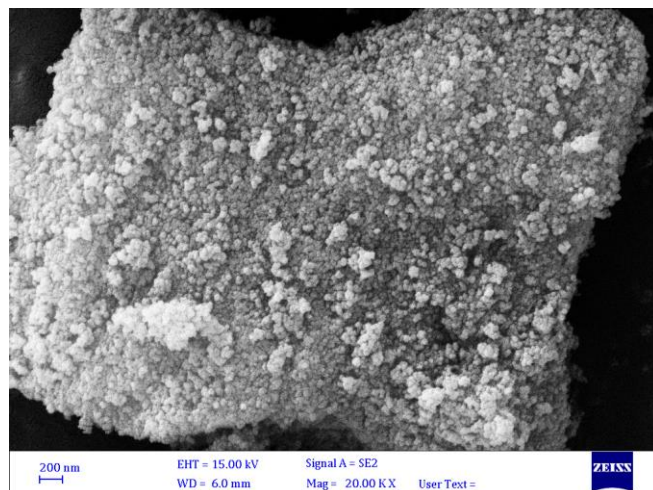
جدول ۱: خواص فیزیکو شیمیایی نانوذرات عامل دار شده با اوژنول

خاصیت	Ag-NPs	ZnO-NPs	Fe ₃ O ₄ -NPs
اندازه ذرات (نانومتر)	۲۵±۵	۳۰±۷	۳۵±۸
ساختار کریستالی	مکعبی وجوه مرکز پر	وورتزیت شش ضلعی	اسپینل معکوس مکعبی
پتانسیل زتا (میلی ولت)	-۵۴/۳	+۰/۶	-۴۱/۱
مورفولوژی کلیدی	کروی، تجمعی	کروی، تک پراکنده	چندوجهی

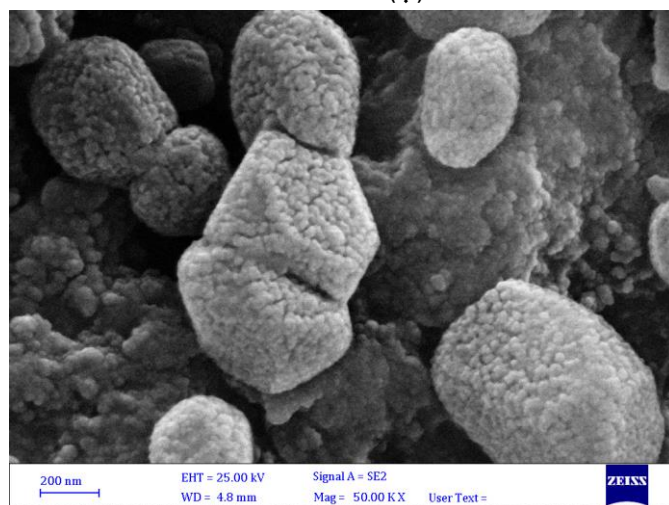
مورفولوژیکی می تواند تأثیر مستقیمی بر خواص فیزیکی-شیمیایی، سطح ویژه و در نهایت کارایی زیستی هر یک از نانوذرات داشته باشد.



Ag-NPs(الف)



Fe₃O₄-NPs(ب)



ZnO-NPs(ج)

شکل ۳. تصویر SEM نانوذرات عامل دار شده با اوژنول: الف) Ag-NPs ب) Fe₃O₄-NPs ج) ZnO-NPs

اندازه گیری های پتانسیل زتا (د)

پایداری کلئیدی نانوذرات سنتز شده به طور کمی توسط پتانسیل زتا (د) تخمین زده شد. نتایج، ویژگی های بار سطحی خوبی را نشان داد که برای پایداری بلندمدت و سازگاری زیستی بسیار ضروری است. نانوذرات نقره (Ag-NPs) بار سطحی منفی قوی معادل -۵۴/۳ میلی ولت نشان دادند که نشان دهنده پایداری الکترواستاتیک عالی است. به طور مشابه، نانوذرات اکسید آهن (Fe₃O₄-NPs) پتانسیل منفی قابل توجهی معادل -۴۱/۱ میلی ولت داشتند. در مقابل، نانوذرات اکسید روی (ZnO-NPs) بار سطحی نزدیک به خنثی معادل +۰/۶ میلی ولت را نشان دادند که حاکی از آن است که پایداری آنها احتمالاً توسط مکانیسم هایی غیر از دافعه الکترواستاتیک، مانند مانع فضایی ناشی از مشتقات اوژنول جذب شده بر سطح، کنترل می شود. مقادیر مطلق پتانسیل زتا بیشتر از ± 30 میلی ولت به عنوان معیاری برای پایداری کلئیدی عالی شناخته شده که نشان دهنده دافعه الکترواستاتیک کافی برای جلوگیری از تجمع و ته نشینی ذرات است. این پایداری ذاتی، یک پیش نیاز حیاتی برای کاربردهای قابل اطمینان در شرایط برون تنی و درون تنی محسوب می شود، زیرا تجمع کنترل نشده نانوذرات می تواند منجر به عدم قطعیت در دوزرسانی، تغییر در جذب سلولی و پروفایل های سمیت غیرقابل پیش بینی شود. بارهای منفی بالا مشاهده شده برای نانوذرات Ag و Fe₃O₄، آنها را برای بررسی های زیستی مبتنی بر سوسپانسیون و کاربردهای دارورسانی مناسب می کند.

شکل ۴. پروفایل‌های پتانسیل زتا: الف) نانوذرات نقره (Ag-NPs) ب) نانوذرات اکسید آهن (Fe_3O_4 -NPs) ج) نانوذرات اکسید روی (ZnO-NPs)

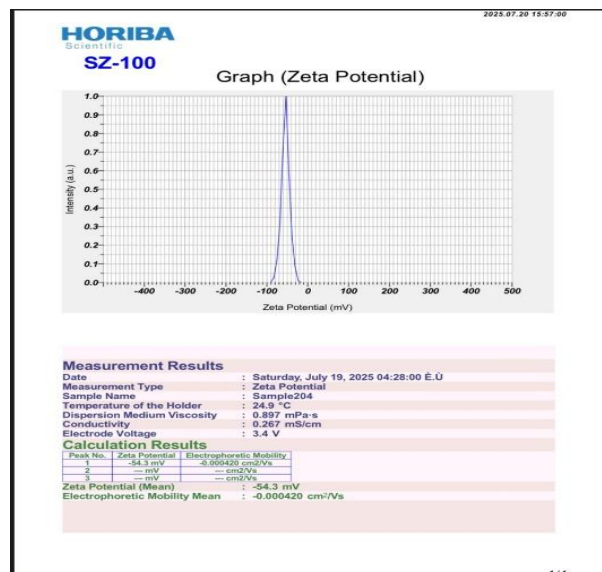
ارزیابی سمیت سلولی نانوذرات پایه‌گذاری شده با اوزنول

ارزیابی اولیه سلامت سلول‌ها

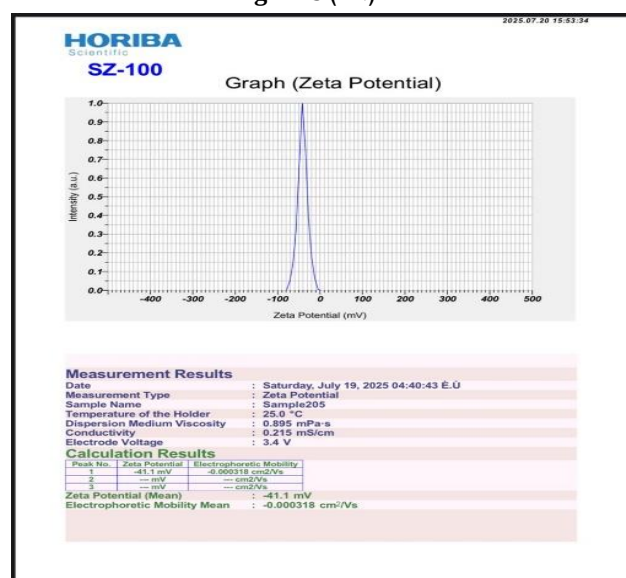
پیش از آغاز تیمار با نانوذرات، زنده‌مانی سلول‌های رده‌های آدنوکارسینوما ریه انسان (A549) و آدنوکارسینوما معده انسان (AGS) با استفاده از روش حذف رنگ تریپان بلو بررسی شد. در هر دو رده سلولی، درصد زنده‌مانی اولیه بیش از ۹۵٪ بود که نشان‌دهنده سلامت مطلوب سلول‌ها و استاندارد بودن شرایط کشت برای انجام آزمایش‌های سمیت بود.

اثرات سیتوتوکسیک وابسته به غلظت

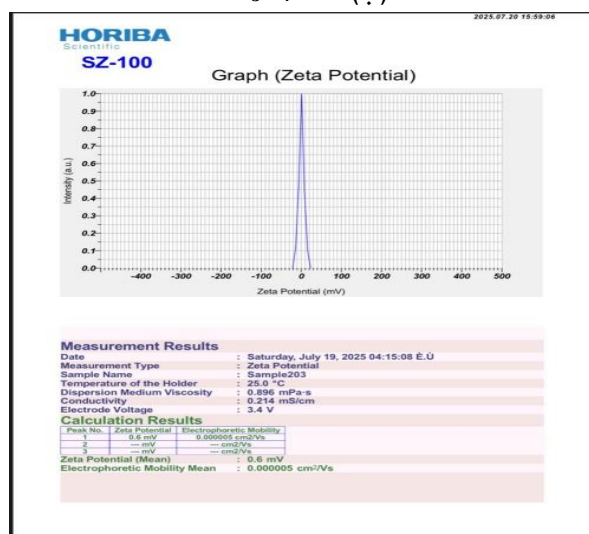
سمیت سلولی نانوذرات نقره (Ag-NPs)، اکسید روی (ZnO-NPs) و اکسید آهن (Fe_3O_4 -NPs) پایه‌گذاری شده با اوزنول، پس از ۲۴ ساعت تیمار با استفاده از آزمون MTT ارزیابی شد. نتایج حاکی از یک الگوی کاهش وابسته به غلظت در متابولیسم میتوکندریایی (شاخص زنده‌مانی سلولی) در هر دو رده سلولی بود. (شکل ۵) در غلظت‌های پایین (۲۰-۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر)، کاهش معنی‌داری در زنده‌مانی مشاهده نشد، که نشان‌دهنده زیست‌سازگاری نسبی نانوذرات در این محدوده است. با افزایش غلظت به ۸۰-۴۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، اثرات سیتوتوکسیک به‌طور واضحی آشکار شدند. در این غلظت‌ها، Ag-NPs قوی‌ترین اثر بازدارندگی را نشان داد، به‌طوری که منجر به کاهش چشمگیر زنده‌مانی سلول‌ها گردید. در بالاترین غلظت مورد آزمایش (۱۶۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، تقریباً موجب تخریب کامل سلول‌ها شد، در حالی که ZnO-NPs و به‌ویژه Fe_3O_4 -NPs سمیت کم‌تری را نشان دادند و بخشی از جمعیت سلولی همچنان فعال باقی ماند. داده‌های خام درصد زنده‌مانی برای رده سلولی A549 در جدول ۲ ارائه شده است.



Ag-NPs (الف)



Fe_3O_4 -NPs (ب)

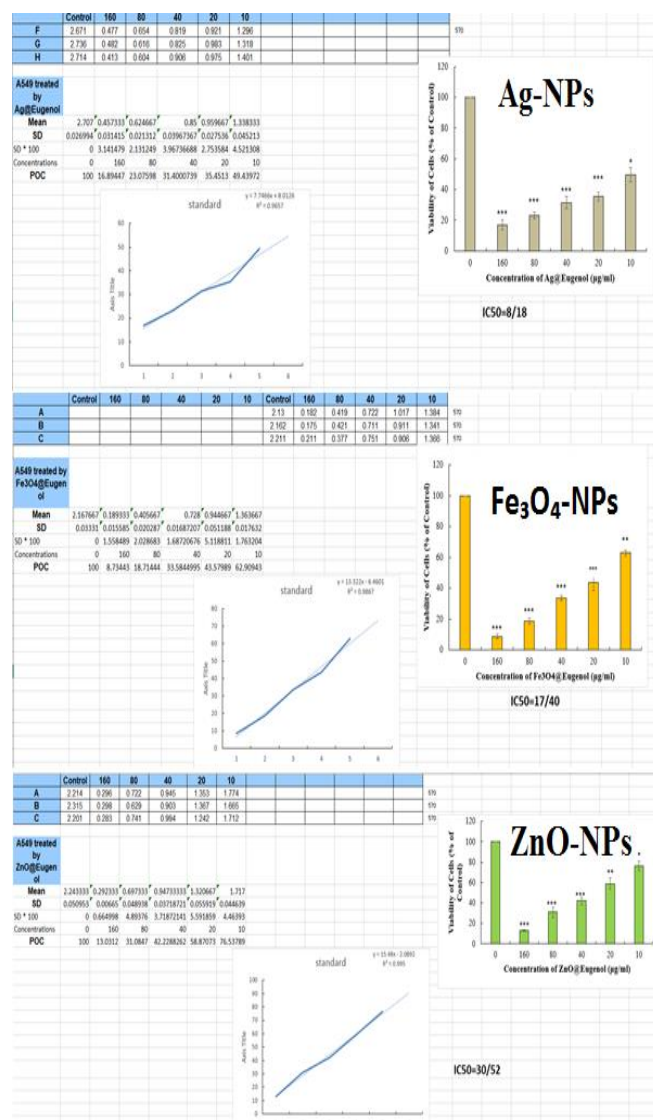


ZnO-NPs (ج)

جدول ۲: داده‌های خام درصد زنده‌مانی سلول A549 در مواجهه با غلظت‌های مختلف نانوذرات، میانگین $\pm$ انحراف استاندارد: (n=6)

غلظت ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Ag@Eugenol	ZnO@Eugenol	Fe ₃ O ₄ @Eugenol
۰	۱۰۰ $\pm$ ۲/۱	۱۰۰ $\pm$ ۱/۵	۱۰۰ $\pm$ ۲/۳
۱۰	۹۳/۹ $\pm$ ۱/۹	۹۶/۶ $\pm$ ۲/۶	۹۷/۹ $\pm$ ۱/۴
۲۰	۸۲/۶ $\pm$ ۳/۶	۸۸/۲ $\pm$ ۳/۲	۹۵/۳ $\pm$ ۲/۸
۴۰	۵۴/۱ $\pm$ ۳/۸*	۷۱/۳ $\pm$ ۴/۴*	۸۵/۱ $\pm$ ۳/۵
۸۰	۲۸/۵ $\pm$ ۲/۸**	۵۰/۱ $\pm$ ۳/۳*	۶۸/۸ $\pm$ ۴/۴*
۱۶۰	۸/۸ $\pm$ ۱/۴**	۳۰/۹ $\pm$ ۲/۷**	۴۹/۴ $\pm$ ۳/۸**

(منفی نسبت به کنترل $P < 0.05$, $P < 0.001$)



شکل ۵. ارزیابی سمیت سلولی نانوذرات Ag@Eugenol، ZnO@Eugenol و Fe₃O₄@Eugenol بر روی رده‌های سلولی (الف) A549 و (ب) AGS پس از ۲۴ ساعت تیمار. داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف استاندارد (SD) از ۳ تکرار مستقل (هر کدام با ۶ تکرار تکنیکی) نشان داده شده‌اند. $P < 0.05$ *, $P < 0.01$ **, $P < 0.001$ *** نسبت به گروه کنترل

تعیین غلظت بازدارنده نیمه‌حداکثر (IC₅₀) و مقایسه قدرت سمیت

برای تعیین کمی قدرت سیتوتوکسیک، مقادیر IC₅₀ (غلظتی که

باعث ۵۰٪ کاهش در زنده‌مانی سلولی می‌شود) از منحنی‌های دوز- پاسخ محاسبه گردید. (جدول ۳) در هر دو رده سلولی، یک سلسله مراتب ثابت در سمیت مشاهده شد:

Ag-NPs > ZnO-NPs > Fe₃O₄-NPs

به‌طور مشخص، Ag-NPs با کمترین مقدار IC₅₀ (تقریباً ۴۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر) مؤثرترین نانوذره از نظر سمیت سلولی بود. ZnO-NPs با IC₅₀ حدود ۷۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر در مرحله بعدی می باشد و Fe₃O₄-NPs با بالاترین IC₅₀ (تقریباً ۱۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) کم‌ترین سمیت مستقیم را دارد. این ترتیب با مکانیسم‌های عمل شناخته‌شده برای هر نانوذره مطابقت دارد؛ آزادسازی یون‌های Ag⁺ و تولید شدید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) توسط Ag-NPs، در مقابل سمیت عمدتاً ROS محور و با شدت کمتر در ZnO-NPs و وابستگی شرایط خاص برای ایجاد سمیت مستقیم در Fe₃O₄-NPs.

جدول ۳: مقادیر مقایسه‌ای تخمین زده شده IC_{50} (میکروگرم در میلی لیتر) نانوذرات فلزی در رده‌های سلولی A549 و AGS

Ag@Eugenol				
نانوذره	IC_{50} ($\mu g/mL$)	فاصله اطمینان ۹۵٪	R-square	(AGS/A549)
رده سلولی				
ریه A549	۴۵	۴۱/۶-۴۹/۳	۰/۹۸	۱/۳۳
معدده AGS	۶۰	۵۵/۴-۶۶/۵	۰/۹۷	-----
ZnO@Eugenol				
رده سلولی				
ریه A549	۷۵	۷۰/۳-۸۱/۴	۰/۹۶	۱/۲۷
معدده AGS	۹۵	۸۸/۷-۱۰۲/۲	۰/۹۴	-----
Fe ₃ O ₄ @Eugenol				
رده سلولی				
ریه A549	۱۱۰	۱۰۳/۳-۱۱۸/۳	۰/۹۲	۱/۲۳
معدده AGS	۱۳۵	۱۲۶/۶-۱۴۵/۹	۰/۹۱	-----

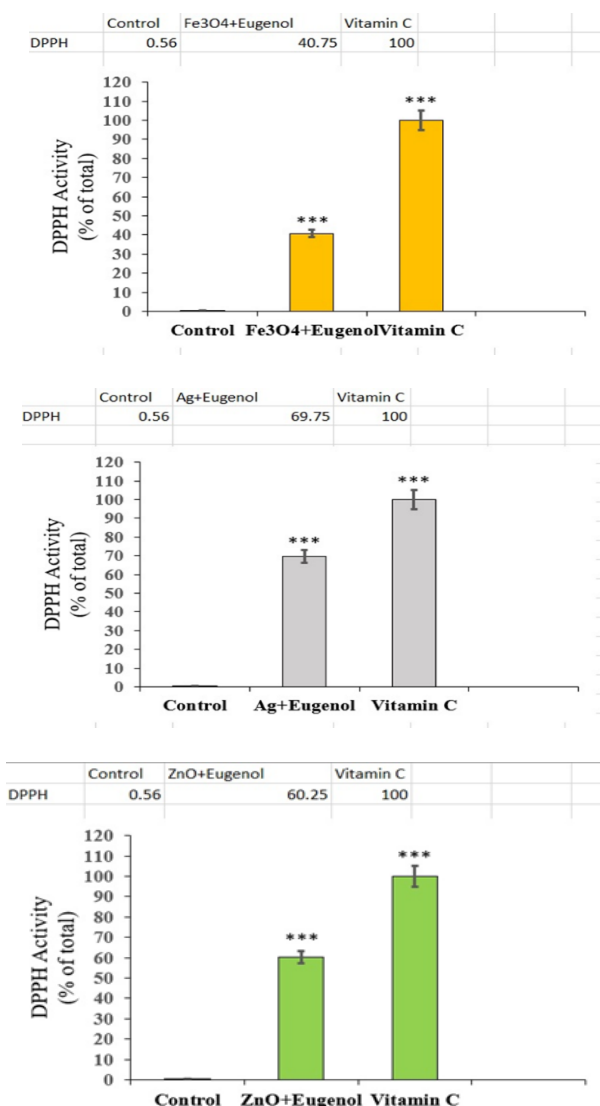
به منظور بررسی حساسیت افتراقی رده‌های سلولی، نسبت IC_{50} رده معدده به ریه (AGS/A549) محاسبه گردید. این نسبت برای نانوذرات Ag@Eugenol، ZnO@Eugenol و Fe₃O₄@Eugenol به ترتیب برابر با ۱/۳۳، ۱/۲۷ و ۱/۲۳ بود که نشان می‌دهد سلول‌های A549 (ریه) در مقایسه با سلول‌های AGS (معدده) حساسیت بیشتری به تمام نانوذرات دارند (جدول ۳). این تفاوت حساسیت می‌تواند ناشی از تفاوت در مکانیسم‌های دفاع آنتی‌اکسیدانی درون‌زا، نرخ اندوسیتوز یا برنامه‌ریزی متابولیک متفاوت این دو رده سلولی باشد.

حساسیت افتراقی رده‌های سلولی

اگرچه هر سه نانوذره در هر دو رده سلولی A549 و AGS سمیت نشان دادند، اما تحلیل مقایسه‌ای حساسیت متفاوتی را نشان داد. رده سلولی سرطان ریه (A549) به‌طور مداوم حساسیت بیشتری نسبت به رده سلولی سرطان معدده (AGS) در مواجهه با همه نانوذرات، به‌ویژه در غلظت‌های متوسط، از خود نشان داد. این تمایز ممکن است ناشی از تفاوت‌های ذاتی در شبکه دفاع آنتی‌اکسیدانی، سطوح پایه استرس اکسیداتیو، کارایی مکانیسم‌های ترمیم DNA یا نرخ درون‌سازی نانوذرات بین این دو نوع بافت سرطانی باشد. یافته‌های فوق ممکن است بر پتانسیل نانوذرات پایه‌گذاری شده با اوژنول، به‌ویژه Ag-NPs، به‌عنوان عامل سیتوتوکسیک انتخابی تأکید نماید و احتمالاً می‌تواند لزوم در نظر گرفتن منشأ بافتی تومور را در طراحی درمان‌های نانویی آینده نشان می‌دهند.

ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی نانوذرات پایه‌گذاری شده با اوژنول

پتانسیل آنتی‌اکسیدانی نانوذرات سنتز شده پایه‌گذاری شده با اوژنول با استفاده از آزمون مهار رادیکال آزاد پایدار DPPH مورد ارزیابی کمی قرار گرفت. فعالیت آنتی‌اکسیدانی به صورت درصد مهار رادیکال DPPH گزارش شد. (شکل ۵)



شکل ۵. فعالیت آنتی‌اکسیدانی نانوذرات فلزی/اکسید فلزی پایه‌گذاری شده با اوژنول با روش DPPH

نتایج نشان داد که تمامی نانوذرات سنتز شده Ag@Eugenol، ZnO@Eugenol و Fe₃O₄@Eugenol فعالیت آنتی‌اکسیدانی آشکاری را در مقایسه با گروه کنترل از خود نشان دادند. این مشاهده به‌طور مستقیم نقش فعال و تعیین‌کننده حضور اوژنول به عنوان لیگاند سطحی را تأیید می‌کند. گروه‌های فنلی موجود در ساختار اوژنول که بر سطح نانوذرات

تخمین سمیت سلولی به روش آزمون MTT یک روند ثابت از قدرت را در هر دو رده سلولی نشان داد:



این ترتیب با مکانیسم‌های شناخته‌شده نانوذرات پایه فلزی همسو است [۱۷].

Ag@Eugenol بیشترین قدرت (کمترین IC₅₀) را نشان داد، یافته‌ای که مطابق با مقاله گزارش‌کننده مکانیسم‌های چندوجهی سمیت نانوذرات نقره، شامل آزادسازی پایدار یون‌های Ag⁺، تولید مستقیم گونه‌های فعال اکسیژن O₂⁻ و OH[•] و اختلال در غشا است [۱۸].

ZnO@Eugenol سمیت قابل توجه اما نسبتاً کم‌تری نشان داد که عمدتاً از طریق انحلال به یون‌های Zn²⁺ و تولید متعاقب ROS درون سلولی واسطه‌گری می‌شود [۱۹]. در مقابل، Fe₃O₄@Eugenol کمترین سمیت مستقیم را نشان داد که مورد انتظار است، زیرا مکانیسم‌های درمانی اولیه آن (مانند هایپرترمی مغناطیسی و دارورسانی) اغلب بر سمیت شیمیایی مستقیم غلبه می‌کنند. هر گونه سمیت مشاهده‌شده احتمالاً نیاز به شرایط خاص برای واکنش‌های شبه فنتون دارد. [۲۰]. بنابراین، هر دو رده سلولی A549 و AGS حساسیت وابسته به غلظت نشان دادند، اما سلول‌های سرطانی ریه A549 به طور مداوم حساستر بودند. این حساسیت افتراقی ممکن است ناشی از عوامل ذاتی مانند سطوح پایه استرس اکسیداتیو، کارایی سیستم‌های دفاع آنتی‌اکسیدانی درون‌زا (مانند سطوح گلوکاتایون)، نرخ‌های جذب متفاوت نانوذرات به دلیل اندوسیتوزی مختلف، یا برنامه‌ریزی مجدد متابولیک متمایز ذاتی آدنوکارسینوماهای ریه در مقابل معده باشد [۲۱-۲۲].

هرچند مقایسه مستقیم نانوذرات سنتز شده با اوژنول در برابر نانوذرات بدون پوشش در مطالعه حاضر انجام نشد، اما شواهد گسترده در ادبیات علمی، مزایای پوشش‌دهی سطحی نانوذرات با ترکیبات طبیعی را تأیید می‌کند. با توجه به عوامل فیزیکیوشیمیایی مؤثر بر رفتار زیستی نانوذرات، پاسخ رده‌های سلولی به نانوذرات سنتز شده تنها به نوع فلز یا اکسید فلزی محدود نمی‌شود، بلکه به مجموعه‌ای از ویژگی‌ها از جمله اندازه و مورفولوژی ذرات، بار سطحی و پتانسیل زتا، ترکیب شیمیایی هسته نانوذره، غلظت و زمان مواجهه و نیز نوع رده سلولی بستگی دارد. این عوامل می‌توانند بر میزان ورود نانوذرات به سلول، برهم‌کنش با غشای سلولی، تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و در نهایت بر زنده‌مانی سلولی اثرگذار باشند. بر همین اساس، تفاوت مشاهده‌شده در میزان سمیت سلولی میان نانوذرات Ag، ZnO و Fe₃O₄ در مطالعه حاضر را می‌توان تا حد زیادی به ویژگی‌های ذاتی این مواد و نیز ویژگی‌های سطحی آن‌ها نسبت داد. به‌طور کلی گزارش شده است که نانوذرات نقره به دلیل توانایی بیشتر در القای استرس اکسیداتیو و تولید ROS، سمیت سلولی بالاتری نشان می‌دهند، در حالی که

جذب شده‌اند، با عملکرد به عنوان دهنده‌های الکترون/هیدروژن، مسئول خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد DPPH هستند.

تحلیل مقایسه‌ای بین نانوذرات مختلف، یک الگوی مشخص را آشکار ساخت. نانوذرات اکسید روی پایه‌گذاری شده با اوژنول (ZnO@Eugenol) و نانوذرات اکسید آهن پایه‌گذاری شده با اوژنول (Fe₃O₄@Eugenol) دارای بالاترین درصد مهار رادیکال بودند. این نتایج حاکی از آن است که هسته نانوذره ZnO یا Fe₃O₄ می‌تواند به عنوان یک جزء فعال، کارایی گروه‌های فنلی اوژنول را در انتقال الکترون تسهیل یا تقویت نماید، که ممکن است به یک اثر هم‌افزایی بین ماده هسته و لیگاند منجر شود. در مقابل، نانوذرات نقره پایه‌گذاری شده با اوژنول (Ag@Eugenol) با وجود داشتن فعالیت آنتی‌اکسیدانی، درصد مهار کمتری را نسبت به دو نانوذره دیگر نشان داد. این تفاوت احتمالاً بازتاب‌دهنده تأثیر ذاتی ماهیت شیمیایی و پتانسیل ردوکس متفاوت هسته فلزی نقره بر پیکربندی سطحی و در نتیجه بر در دسترس بودن یا فعالیت گروه‌های فنلی اوژنول است.

۴- بحث

این بررسی با موفقیت یک رویکرد سنتز سبز را برای تولید سه نوع نانوذره عامل‌دار شده با اوژنول (نقره Ag@Eugenol)، اکسید روی (ZnO@Eugenol) و اکسید آهن (Fe₃O₄@Eugenol) نشان می‌دهد و در تحلیل خواص فیزیکیوشیمیایی، سمیت سلولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها در برابر رده‌های سلولی آدنوکارسینوما ریه (A549) و معده (AGS) نشان می‌دهد. همگرایی داده‌های مشخصه‌یابی FTIR، SEM، XRD، پتانسیل زتا تشکیل ذرات کریستالی در مقیاس نانو با پایداری کلئیدی عالی را اثبات می‌کند که عمدتاً ناشی از نقش دوگانه کاهش‌دهندگی و پایدارکنندگی فیتوشیمیایی اوژنول است. (Yu و همکاران، ۲۰۱۲) طیف‌های FTIR عامل‌دارسازی سطح را از طریق گروه‌های فنلی مشخصه تأیید کردند، در حالی که الگوهای XRD فازهای کریستالی نقره فلزی ساختار FCC، وورتزیت ZnO و اسپینل Fe₃O₄ را تأیید نمودند. تصاویر SEM ریخت‌شناسی‌های متفاوتی را نشان داد: ذرات کروی ZnO، خوشه‌های AgNP نشان‌دهنده تمایل به تجمع و ساختارهای چندوجهی Fe₃O₄ به طور حیاتی، مقادیر پتانسیل زتا بالاتر از $|\pm 30|$ میلی‌ولت برای Ag@Eugenol و Fe₃O₄@Eugenol نشان‌دهنده پایداری قوی الکترواستاتیک است که برای کاربردهای زیستی که در آنها باید از تجمع برای اطمینان از پروفایل‌های سم‌شناسی قابل پیش‌بینی جلوگیری شود، ضروری است.

نانوذرات ZnO اثرات زیستی متوسط و نانوذرات Fe_3O_4 در بسیاری از موارد زیست‌سازگاری بیشتری دارند [۲۹-۳۲].

از سوی دیگر، حضور اوژنول در فرآیند سنتز می‌تواند با ایجاد پوشش سطحی حاوی گروه‌های فنولی و متوکسی، پایداری کلئیدی نانوذرات را افزایش داده و بر میزان تجمع، برهم‌کنش با غشای سلولی و پاسخ‌های اکسیداتیو اثر بگذارد. این ویژگی‌ها ممکن است به‌طور همزمان بر ورود سلولی، تولید ROS و در نهایت بر زنده‌مانی سلول‌های AGS و A549 تأثیرگذار باشند. هرچند در مطالعه حاضر مقایسه مستقیم میان نانوذرات سنتز شده با اوژنول و نانوذرات بدون پوشش انجام نشد، اما شواهد گسترده در ادبیات علمی مزایای پوشش‌دهی سطحی نانوذرات با ترکیبات طبیعی را تأیید می‌کند. مطالعات متعددی نشان داده‌اند که پوشش سطحی نانوذرات با ترکیبات فنلی مانند اوژنول، ضمن حفظ خواص سیتوتوکسیک هسته فلزی، می‌تواند زیست‌سازگاری سامانه را افزایش داده و سمیت برون‌هدف را کاهش دهد [۲۶-۲۸]. به عنوان نمونه، Gurunathan و همکاران گزارش کردند که نانوذرات نقره سنتز شده به روش زیستی دارای اثرات سیتوتوکسیک وابسته به دوز در سلول‌های سرطان پستان هستند [۲۶]. همچنین Ceesay و همکاران نشان دادند که نانوذرات ZnO سنتز شده با عصاره گیاهی در مقایسه با نمونه‌های سنتز شده شیمیایی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتر و سمیت کمتری نسبت به سلول‌های نرمال نشان می‌دهند [۲۷]. علاوه بر این، استفاده از ترکیبات طبیعی خالص نظیر اوژنول به عنوان عامل کاهنده و پایدارکننده در سنتز سبز نانوذرات نیز گزارش شده است که می‌تواند بر ویژگی‌های ساختاری و زیستی نانوذرات تأثیرگذار باشد [۲۸]. این یافته‌ها با نتایج مطالعه حاضر در خصوص فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجه نانوذرات عامل‌دار شده با اوژنول همخوانی دارد و نشان می‌دهد که حضور اوژنول بر سطح نانوذرات می‌تواند به عنوان یک عامل تعدیل‌کننده زیستی عمل کند که ضمن حفظ کارایی ضدسرطانی، احتمال بروز اثرات جانبی را کاهش می‌دهد. با این حال، انجام مطالعات آینده با سنتز کنترل شده نانوذرات بدون پوشش و مقایسه مستقیم آن‌ها با نانوذرات عامل‌دار شده با اوژنول می‌تواند درک دقیق‌تری از نقش تعدیل‌کنندگی اوژنول در پاسخ‌های سلولی فراهم آورد.

یافته دیگر، فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجه نشان‌داده شده توسط تمام نانوذرات عامل‌دار شده با اوژنول در آزمون مهار رادیکال آزاد DPPH است. در حالی که قدرت سمیت ذاتی از ترتیب $Ag > ZnO > Fe_3O_4$ پیروی کرد، توانایی آنتی‌اکسیدانی روند متفاوتی را نشان داد، به طوری که $ZnO@Eugenol$ و $Fe_3O_4@Eugenol$ فعالیت رادیکال‌زدایی برتری را نسبت به $Ag@Eugenol$ نشان دادند. این فعالیت به طور قطع توسط اوژنول متصل به سطح (یک آنتی‌اکسیدان فنلی قوی قادر به اهدای اتم هیدروژن یا الکترون برای تثبیت رادیکال‌های آزاد) اعطا می‌شود. فعالیت زیستی مشاهده شده (سمیت قوی همراه با ظرفیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجه)

یک دوگانگی عملکردی منحصر به فرد را نشان می‌دهد. این موضوع نشان می‌دهد که نانوذرات عامل‌دار شده با اوژنول می‌توانند به طور بالقوه سمیت انتخابی نسبت به سلول‌های سرطانی (از طریق مکانیسم‌های هسته فلزی) اعمال کنند و همزمان آسیب اکسیداتیو غیرهدف به بافت‌های سالم (از طریق عمل آنتی‌اکسیدانی لیگاند سطحی) را کاهش دهند، مفهومی که از توسعه درمان‌های ترکیبی را نشان می‌دهد [۲۳].

نقش اوژنول فراتر از یک عامل کاهنده سبز صرف است. اوژنول به عنوان یک تنظیم‌کننده عملکردی حیاتی عمل می‌کند که زیست‌سازگاری را افزایش می‌دهد، پایداری کلئیدی را بهبود می‌بخشد و خواص زیست‌فعالی را به نانوذرات می‌بخشد که ذاتی هسته‌های فلزی خالص نیستند. نتایج ما مطالعات قبلی را تأیید می‌کند که بر مزیت پوشش‌دهی فیتوشیمیایی تأکید دارند. به عنوان مثال، Gurunathan و همکاران (۲۰۱۳) اثرات ضدسرطانی بهبودیافته نانوذرات نقره سنتز شده به روش سبز را گزارش کردند [۲۴] و Al Dhabaan و همکاران (۲۰۲۰) فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتر در نانوذرات ZnO سنتز شده با عصاره گیاهی در مقایسه با نمونه‌های سنتز شده شیمیایی را ذکر کردند. پروفایل‌های فعالیت زیستی افتراقی بین نانوذرات Ag ، $Fe_3O_4@ZnO$ ، تأکید می‌کند که اثر زیستی نهایی یک برهم‌کنش هم‌افزایی بین خواص ذاتی ماده هسته و لیگاند اصلاح‌کننده سطح است [۲۵].

در نتیجه، این مطالعه مقایسه‌ای کارایی یک پلتفرم واحد سنتز سبز با استفاده از اوژنول را برای تولید نانوپلتفرم‌های چندکاره با خواص زیستی قابل تنظیم تأکید می‌کند. پروفایل‌های متمایز و در عین حال مکمل (جایی که $Ag@Eugenol$ در قدرت سیتوتوکسیک برتری دارد، در حالی که $ZnO@Eugenol$ و $Fe_3O_4@Eugenol$ سمیت متوسط را با فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی متعادل می‌کنند) یک جعبه ابزار ارزشمند برای انتخاب نانوذرات سفارشی شده برای اهداف درمانی خاص، مانند کاهش تهاجمی حجم تومور یا درمان‌های نیازمند تعدیل استرس اکسیداتیو، فراهم می‌کنند. این یافته‌ها راه را برای تحقیقات بیشتر در مورد کارایی درون‌تنی، هدف‌گیری انتخابی و مکانیسم‌های مولکولی دقیق عمل این نانوداروهای امیدوارکننده پایه‌گذاری شده با اوژنول هموار می‌کنند.

۵- نتیجه گیری

این بررسی اثربخشی یک سنتز سبز یک‌پارچه را برای تولید سه نانوذره (نقره، اکسید روی و اکسید آهن) با استفاده از ترکیب طبیعی اوژنول به عنوان عامل کاهنده، پایدارکننده و عملکردی‌ساز نشان داد. آنالیزهای ساختاری FTIR، XRD، SEM تشکیل نانوذراتی با بلورینگی مناسب، اندازه نانومتری و پوشش موفقیت‌آمیز سطح توسط اوژنول را تأیید کردند. پتانسیل زتای بالا (بیش از $|\pm 30|$ میلی‌ولت) پایداری کلئیدی مطلوب این نانوذرات

مراجع

- [1] Fu J, Yu L, Yan H, Tang S, Wang Z, et al. LncRNAs in non-small cell lung cancer: novel diagnostic and prognostic biomarkers. *Front Mol Biosci.* 2023;10:1297198. doi: 10.3389/fmolb.2023.1297198.
- [2] de Córdoba IH, Mielgo-Rubio X, Cejas P, et al. Transformation to neuroendocrine phenotype in non-small-cell lung carcinoma: a literature review. *Int J Mol Sci.* 2025;26(11):5096. doi: 10.3390/ijms26115096.
- [3] Joshi DC, Sharma A, Prasad S, et al. Novel therapeutic agents in clinical trials: emerging approaches in cancer therapy. *Discov Oncol.* 2024;15(1):342. doi: 10.1007/s12672-024-01195-7.
- [4] Ammar MM, Ali R, Abd Elaziz NA, Habib H, et al. Nanotechnology in oncology: advances in biosynthesis, drug delivery, and theranostics. *Discov Oncol.* 2025; 16(1):1172. doi: 10.1007/s12672-025-02664-3.
- [5] Irvani S. Green synthesis of metal nanoparticles using plants. *Green Chem.* 2011;13:2638-50. doi: 10.1039/C1GC15386B.
- [6] Karami MH, Abdouss M, Maleki B. The state of the art metal nanoparticles in drug delivery systems: a comprehensive review. *Nanomed J.* 2024;11(3):222-49. doi: 10.22038/NMJ.2024.77638.1895.
- [7] Iruoghene Edo G, Njolke Mafe A, Ali ABM, Othuke Akpogheli, Emad Yousif P, et al. Green biosynthesis of nanoparticles using plant extracts: mechanisms, advances, challenges, and applications. *BioNanoScience.* 2025;15:267. doi: 10.1007/s12668-025-01834-5.
- [8] Ulanowska M, Olas B. Biological properties and prospects for the application of eugenol—a review. *Int J Mol Sci.* 2021;22(7):3671. doi: 10.3390/ijms22073671.
- [9] Noman AM, Tauseef Sultan M, Mazhar A, Baig I, et al. Anticancer molecular mechanisms of epigallocatechin gallate: an updated review on clinical trials. *Food Sci Nutr.* 2025;13(8):e70735. doi: 10.1002/fsn3.70735.
- [10] Selim S, Badr BM, Moustafa MH, Saied E, et al. Green biosynthesis of bimetallic silver titanium dioxide nanoparticles using *Pluchea indica* with

را در محیط آبی تضمین می‌نماید، که پیش‌نیازی حیاتی برای مطالعات زیستی قابل اطمینان است.

از نظر زیستی، ارزیابی‌ها یک روند سمیت سلولی مشخص و وابسته به غلظت را در دو رده سلولی سرطانی ریه (A549) و معده (AGS) نشان داد: نانوذرات نقره (Ag@Eugenol) نانوذرات اکسید روی (ZnO@Eugenol) اکسید آهن ($\text{Fe}_3\text{O}_4\text{@Eugenol}$) این درجه‌بندی با مکانیسم‌های عمل شناخته‌شده هر نانوذره مطابقت دارد و جایگاه نانوذرات نقره را به عنوان قوی‌ترین عامل سیتوتوکسیک با پتانسیل بالا برای کاربردهای ضدسرطانی اثبات می‌کند. از طرفی، مشاهده حساسیت افتراقی سلول‌ها بود، به طوری که سلول‌های سرطان ریه (A549) به طور مداوم آسیب‌پذیرتر از سلول‌های سرطان معده (AGS) بودند. این یافته بر اهمیت ویژگی‌های ذاتی نوع تومور در پاسخ به نانوداروها تأکید می‌کند و شخصی‌سازی درمان‌های نانو را لازم می‌داند.

در کنار خاصیت ضدسرطانی، این نانوذرات فعالیت آنتی‌اکسیدانی چشمگیری را در آزمون DPPH از خود نشان دادند که مستقیماً ناشی از حضور اوژنول بر سطح آن‌هاست. این دوگانگی عملکردی (ترکیب سمیت سلولی با ظرفیت رادیکال‌زدایی) امکان طراحی سامانه‌های هوشمند نانومقیاس را فراهم می‌آورد که می‌توانند به طور همزمان سلول‌های سرطانی را هدف قرار دهند و از بافت‌های سالم در برابر استرس اکسیداتیو جانی محافظت کنند.

به طور کلی، این پژوهش نه تنها گامی مؤثر در جهت تثبیت یک روش سازگار با محیط‌زیست برای سنتز نانوذرات چندمنظوره برداشته، بلکه بینش مقایسه‌ای ارزشمندی در مورد رابطه بین جنس نانوذره، اصلاح سطح و پاسخ بیولوژیک ارائه می‌دهد. یافته‌ها پایه‌ای مستحکم برای مطالعات آینده در راستای بهینه‌سازی این نانوحامل‌ها برای درمان هدفمند سرطان، دارورسانی ترکیبی ایجاد می‌کند. استفاده از ترکیبات طبیعی مانند اوژنول، مسیری امیدوارکننده به سمت توسعه نانوداروهای مؤثر، ایمن‌تر و شخصی‌سازی‌شده باز می‌کند.

۶- تشکر و قدردانی

بدین وسیله مراتب سپاس و قدردانی نویسندگان از همراهی و حمایت‌های ارزشمند معنوی دانشگاه آزاد اسلامی در طی مراحل اجرای این پروژه اعلام می‌گردد.

nanoparticles in the human lung cancer cell line, A549. Arch Toxicol. 2011;85(7):743-50. doi: 10.1007/s00204-010-0545-5.

[19] 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(2):184-92. doi: 10.1016/j.nano.2010.10.001.

[20] Yang X, Gondikas AP, Marinakos SM, Auffan M, Liu J, Hsu-Kim H, Meyer JN. Mechanism of silver nanoparticle toxicity is dependent on dissolved silver and surface coating in *Caenorhabditis elegans*. Environ Sci Technol. 2012;46(2):1119-27. doi: 10.1021/es202417t.

[21] Meyer JN, Lord CA, Yang XY, Turner EA, Badireddy AR, Marinakos SM, Auffan M. Intracellular uptake and associated toxicity of silver nanoparticles in *Caenorhabditis elegans*. Aquat Toxicol. 2010;100(2):140-50. doi: 10.1016/j.aquatox.2010.07.016.

[22] Yang X, Gondikas AP, Marinakos SM, Auffan M, Liu J, Hsu-Kim H, Meyer JN. Mechanism of silver nanoparticle toxicity is dependent on dissolved silver and surface coating in *Caenorhabditis elegans*. Environ Sci Technol. 2012;46(2):1119-27. doi: 10.1021/es202417t.

[23] Yu KN, Yoon TJ, Minai-Tehrani A, Kim JE, Park SJ, Jeong MS, Cho MH. Zinc oxide nanoparticle induced autophagic cell death and mitochondrial damage via reactive oxygen species generation. Toxicol In Vitro. 2013;27(4):1187-95. doi: 10.1016/j.tiv.2013.02.010.

[24] Gurunathan S, Han JW, Eppakayala V, Jeyaraj M, Kim JH. Cytotoxicity of biologically synthesized silver nanoparticles in MDA-MB-231 human breast cancer cells. Biomed Res Int. 2013;2013:535796. doi: 10.1155/2013/535796.

[25] Dhandapani KV, Anbumani D, Gandhi AD, Annamalai P, Muthuvenkatachalam BS, Kavitha P, Ranganathan B. Green route for the synthesis of zinc oxide nanoparticles from *Melia azedarach* leaf extract and evaluation of their antioxidant and antibacterial activities. Biocatal Agric Biotechnol. 2020;24:101517. doi: 10.1016/j.bcab.2020.101517.

their anticancer, antimicrobial, and antioxidant activities. Sci Rep. 2025;15:26735. doi: 10.1038/s41598-025-10349-8.

[11] Jahan peymay sabet B, Mahdavi Ourtakand M, Baghbani Arani F. Green synthesis of zinc oxide nanoparticles by *Zataria multiflora* extract and evaluation of its antimicrobial, cytotoxic and apoptotic effects on HT-29 cell line. Koomesh. 2022;24(3):388-96. [In persian]

[12] Farahani Z, Privar K, Hayati Roudbari N, Farhadi M. Comparative investigation of cytotoxicity effects of iron oxide, zinc oxide and silver nanoparticles on white blood cells and leukemic cell line HPB-ALL in vitro. J Dev Biol. 2022;16(1):36-48. [In persian]

[13] Shabbir MA, Naveed M, Rehman SU, et al. Synthesis of iron oxide nanoparticles from *Madhuca indica* plant extract and assessment of their cytotoxic, antioxidant, anti-inflammatory, and anti-diabetic properties via different nanoinformatics approaches. ACS Omega. 2023;8(37):33358-66. doi: 10.1021/acsomega.3c02744.

[14] Padhy I, Paul P, Sharma T, et al. Molecular mechanisms of action of eugenol in cancer: recent trends and advancement. Life. 2022;12(11):1795. doi: 10.3390/life12111795.

[15] Guo Y, Morshedi M. Cutting-edge nanotechnology: unveiling the role of zinc oxide nanoparticles in combating deadly gastrointestinal tumors. Front Bioeng Biotechnol. 2025;20(13):1547757. doi: 10.3389/fbioe.2025.1547757.

[16] Zhao P, Wang J, Zou C. Synergistic anticancer potential of biogenic nanoparticles and cryptomeridiol from *Sphaeranthus indicus*: targeting gastric cancer through apoptosis and cell cycle arrest. Front Pharmacol. 2025;16:1565308. doi: 10.3389/fphar.2025.1565308.

[17] Yu KN, Yoon TJ, Minai-Tehrani A, Kim JE, Park SJ, Jeong MS, et al. Zinc oxide nanoparticle induced autophagic cell death and mitochondrial damage via reactive oxygen species generation. Toxicol In Vitro. 2013;27(4):1187-95. doi: 10.1016/j.tiv.2013.02.010.

[18] Foldbjerg R, Dang DA, Autrup H. Cytotoxicity and genotoxicity of silver

- [26] Gurunathan S, Han JW, Eppakayala V, Jeyaraj M, Kim JH. Cytotoxicity of biologically synthesized silver nanoparticles in MDA-MB-231 human breast cancer cells. *BioMed Res Int*. 2013; 2013:535796. doi: 10.1155/2013/535796.
- [27] Ceesay I, Pwavodi PC, Shittu RO, Umar H. Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using ethanolic leaf extract of *Olea europaea* and its in vitro evaluation on MDA - MB - 231 cancer cell lines, antibacterial and antioxidant activities. *PLoS One*. 2025; doi:10.1371/journal.pone.0339400.
- [28] Abed MS, Abed AS, Othman FM. Green Synthesis of Silver Nanoparticles from Natural Compounds: Glucose, Eugenol and Thymol. *J Adv Res Fluid Mech Therm Sci*. 2019; 60(1):95-111.
- [29] Nel A, Xia T, Mädler L, Li N. Toxic potential of materials at the nanolevel. *Science*. 2006; 311:622-627. doi:10.1126/science.1114397.
- [30] Kroll A, Pillukat MH, Hahn D, Schnekenburger J. Current in vitro methods in nanoparticle risk assessment: limitations and challenges. *Eur J Pharm Biopharm*. 2009; 72:370-377. DOI: 10.1016/j.ejpb.2008.08.009.
- [31] Bahadar H, Maqbool F, Niaz K, Abdollahi M. Toxicity of nanoparticles and an overview of current experimental models. *Iran Biomed J*. 2016; 20:1-11. DOI: 10.7508/ibj.2016.01.001.
- [32] Gatoo MA, Naseem S, Arfat MY, Dar AM, Qasim K, Zubair S. Physicochemical properties of nanomaterials: implication in associated toxic manifestations. *BioMed Res Int*. 2014; 2014:498420. DOI: 10.1155/2014/498420.



Metal/Metal Oxide-Based Nanoplatfoms with Eugenol: A Comparative Paradigm for Green Synthesis and Dual-Functional (Cytotoxic/Antioxidant) Therapies in Gastric and Lung Cancers

Somayeh Ataei Jaliseh^{1,**}, Fahimeh Najafi^{2,*}, Zahra Nikuei¹

^{1, **} Department of Biology, Ra. C., Islamic Azad University, Rasht, Iran

^{2,*} Department of Chemistry, Ro.C. Islamic Azad University, Roudehen, Iran

Received: 2026-04-12

Revised: 2026-05-01

Accepted: 2026-06-10

Abstract: The convergence of green nanotechnology and phytopharmacology represents a transformative strategy to overcome the limitations of conventional cancer therapies. In this review, the green synthesis design and dual-functional biological activity of eugenol-capped metal/metal oxide nanoparticles (specifically Ag, ZnO, and Fe₃O₄) were synthesized and evaluated against two major malignancies: lung and gastric cancers (lung adenocarcinoma (A549) and gastric adenocarcinoma (AGS)). The results indicate that a simple and reproducible co-precipitation method, utilizing Eg as a dual reducing and stabilizing agent, produces stable crystalline and colloidal nanoparticles (20-50 nm) with prominent physicochemical properties. Comparative cytotoxicity evaluation demonstrates a consistent potency (Ag-NPs > ZnO-NPs > Fe₃O₄-NPs) and reveals significant tumor-type dependent sensitivity, with A549 cells exhibiting greater vulnerability than AGS cells. Conversely, these same nanoparticles, particularly ZnO nanoparticles, demonstrate considerable free radical scavenging capacity in cell-free DPPH assays, indicating a unique property imparted by Eg. Consequently, this innovative approach is promising for the development of effective cancer therapies with fewer side effects.

Keywords: Green synthesis, eugenol, metal nanoparticles, gastric and lung cancer, cytotoxicity and antioxidant activity.

Corresponding Author. Email: fahimnajafi@gmail.com

How to Cite This Article:

najafi F, Ataei jaliseh S, Nikuei Z. Eugenol as a green bridge: A comparative study of metal/metal oxide nanoplatfoms for simultaneous cytotoxicity and antioxidant therapy in gastric and lung cancers.. Nanomeghyas. 2026;():e738109 (In Persian). doi: 10.22034/ns.2026.2090758.1431



This is an open access article under the CC-BY license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).