



# سنتز نانوساختارهای اکسید روی با استفاده از عصاره *Crataegus.spp* پس از استخراج تسهیل شده با فراصوت: سنتز، بررسی خواص زیستی و کاربرد در واکنش هانش

فاطمه کیانی اصلان‌شاه<sup>۱</sup>، علیرضا سلیمی بنی<sup>۲\*</sup>، حمیدرضا رجبی<sup>۳\*</sup>، اسد معصومی اصل<sup>۴</sup>، علی میرزایی<sup>۵</sup>

<sup>۱</sup>کارشناسی ارشد فیتوشیمی، گروه شیمی، دانشگاه یاسوج، یاسوج

<sup>۲</sup>دانشیار شیمی آلی، گروه شیمی، دانشگاه یاسوج، یاسوج

<sup>۳</sup>دانشیار شیمی تجزیه، گروه شیمی، دانشگاه یاسوج، یاسوج

<sup>۴</sup>دانشیار گروه اصلاح نباتات، دانشگاه یاسوج، یاسوج

<sup>۵</sup>استاد بیوشیمی، گروه بیوشیمی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج

**چکیده:** در این تحقیق، یک روش سبز مبتنی بر عصاره آبی گیاه زالزالک جهت تهیه نانوساختارهای اکسید روی (ZnO) ارائه گردید. عصاره آبی برگ و میوه گیاه به روش فراصوت تهیه گردید و برای سنتز سبز ZnO بکار گرفته شد. مشخصه نگاری نانوساختارهای سنتز شده با تکنیکهای میکروسکوپ الکترونی روبشی و پراش اشعه ایکس تأیید کننده ساختار هگزگونالی ZnO با دامنه اندازه ذرات ۷۰-۴۰ نانومتر بود. نتایج طیف جذبی نشان‌دهنده یک نوار جذبی واضح و پهن در محدوده ۴۰۰-۲۷۵ نانومتر برای نانوساختارهای سنتز شده از عصاره برگ و میوه می‌باشد. در ادامه، خاصیت ضدباکتریایی نانوساختار سنتز شده در مقابل باکتری‌های مختلف با روش انتشار درون چاهک بررسی شد. نتایج نشان داد خاصیت ضدباکتریایی نانوساختار ZnO در مقایسه با عصاره برگ و میوه گیاه بیشتر بود. مقدار فنل کل و فلاونوئید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی نانوساختار ZnO و همچنین عصاره آبی گیاه بررسی و مقایسه گردید. با توجه به نتایج، عصاره گیاه نسبت به نانوساختار ZnO خاصیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری داشت. سمیت نمونه‌ها با استفاده از آزمون توکسیسیتی بر نمونه‌های ریشه پیاز بررسی شد. در ادامه، از نانوساختار ZnO سنتزی به عنوان نانوکاتالیزوری مؤثر در واکنش هانش با آلدهیدهای مختلف شامل اتیل استوآستات، آمونیوم استات و دیمدون با موفقیت استفاده شد. نتایج نشان‌دهنده تولید محصولات با بازده بالا (۹۵ درصد) پس از ۲ ساعت و در حضور ۰/۰۲ گرم نانوکاتالیزور بود.

**واژگان کلیدی:** سنتز سبز، نانوساختار اکسید روی، واکنش هانش، خواص ضدباکتریایی، زالزالک

\*salimibeni@yu.ac.ir; h.rajabi@yu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۴/۲۳

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۶/۱۸

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۷/۲۰

زمستان ۱۴۰۳ | شماره ۴ | سال یازدهم

## ۱- مقدمه

نانو فناوری امروزه شاهد پیشرفت‌های چشمگیری در زمینه ساخت نانو مواد و استفاده از روش‌ها و مواد جدید بوده است. با توسعه مواد و روش‌های جدید، نگرانی برای آلودگی محیط زیست توسط نانوساختار تولید شده نیاز به روش‌های مبتنی بر شیمی سبز که تمیز، غیرسمی و سازگار با محیط زیست وجود دارد. سنتز زیستی نانوساختار با استفاده از عصاره گیاهی یا زیست توده‌ی گیاهی یکی از روش‌های بسیار مؤثر، سریع، پاک، غیر سمی، سازگار با محیط زیست و مقرون به صرفه است [۱]. نانوساختارهای اکسید روی (ZnO) بخاطر خصوصیات قابل توجه آنها برای کاربردهای الکتریکی و فوتوالکتریکی توجه خیلی زیادی را به خود جلب کرده است. ذرات اکسید روی خواصی مانند نیمه رسانایی، پیزوالکتریک و پیروالکتریک از خود نشان می‌دهند. این خواص بی نظیر باعث می‌شود که ذرات اکسید روی یکی از غنی‌ترین مواد نانوساختاری باشند. نانوساختار اکسید روی به دلیل خصوصیات منحصر به فرد الکتریکی، نوری و شیمیایی که از خود نشان می‌دهد، نقش بسیار مهمی را در میان سایر اکسیدهای فلزی در زمینه‌های کاربردی ایفا می‌کنند [۲].

در سنتز زیستی نانوساختار از میکرو/ماکرو ارگانسیم‌های مختلفی مانند گیاهان، باکتری‌ها، قارچ‌ها، جلبک‌های دریایی و میکرو جلبک‌ها استفاده می‌شود. طی مطالعات، اثبات شده که عصاره‌های گیاهی به عنوان محیط مؤثر برای سنتز نانوساختار به عنوان روش‌های غیرمضر عمل می‌کنند. بطور کلی، عصاره گیاهی حاوی متابولیت‌های متفاوتی بوده که این ترکیبات می‌توانند به عنوان عوامل کاهنده و پایدار کننده واکنش کاهش زیستی در تولید نانوساختار فلزی نقش ایفا کنند. روش‌های غیر زیستی (شیمیایی و فیزیکی) که برای سنتز نانوساختار استفاده می‌شود آسیب جدی و خطرناک به موجودات زنده وارد می‌نماید در حالی که سنتزهای زیستی نانوساختار فلزی، روش‌های ارزان، تک

مرحله‌ای و سازگار با محیط زیست می‌باشند [۳]. سنتز سبز و آسان نانوساختار نقره (Ag NPs) با عصاره *Crataegus microphylla* و فعالیت‌های ضد باکتری و ضد سرطانی بالقوه آن در برابر سلول‌های سرطانی انسان AGS و MCF 7 انجام شد که نتایج نشان‌دهنده تاثیر نسبی آن در درمان سرطان انسان است [۴]. همچنین، سنتز سبز نانوساختار اکسید روی با استفاده از عصاره گیاه سیاه شور مصری [۵] و کادمیوم تلورید [۶] و سنتز سبز نانوفوتوکاتالیزورهای سولفید روی با استفاده از عصاره آبی گیاه انجیر کوهی [۷] گزارش گردید که دارای خواص آنتی اکسیدانی و ضد باکتریایی قوی می‌باشد.

میوه تازه زالزالک، دارای سیتریک اسید، تارتاریک اسید و کراتاگوس اسید، پکتین، گلوکز و فروکتوز است که ماده عامل زالزالک در گونه، *C. oxyacantha* کراتاگوس لاکتون است [۸]. نام جنس *Crataegus* از واژه یونانی *Kratus* به معنی نیرو و استحکام گرفته شده است. به دلیل داشتن گل‌های انبوه و زیبا، در زبان فارسی به آن زالزالک گفته می‌شود. جنس زالزالک *Crataegus*، متعلق به طایفه *Crataegus*، زیر تیره *Maloideae* تیره *Rosaceae*، راسته *Rosales*، زیر رده *Rosidae* و رده *Magnoliopsida* است. گونه‌های مربوط به جنس زالزالک (*Crataegus*) بصورت بوته‌ها یا درختان کوچک (حداکثر تا ۱۰ متر) هستند که دارای برگ‌های لوب دار، شاخه‌های خاردار و گل‌های سفید رنگ می‌باشند. میوه‌های آن دارای ۱ تا ۳ هسته زرد رنگ هستند و خود میوه به رنگ‌های زرد، نارنجی، قرمز و حتی سیاه وجود دارد [۹].

در سال‌های اخیر استفاده از روش استخراج به کمک امواج فراصوت برای عصاره گیری از گیاهان مختلف به دلیل داشتن مزایایی از قبیل زمان کوتاه تر، حجم حلال کمتر و استخراج مؤثرتر توسعه پیدا کرده است. با برخورد امواج فراصوت به محیط گیاهی، حفراتی داخل بافت گیاهی ایجاد می‌شوند که این حفرات بصورت نامتقارن به هم پیوسته و موجب خروج سریع مواد از داخل سلول‌ها به خارج از آنها

فعالیت آنتی اکسیدانی نانوساختار ZnO و همچنین عصاره آبی گیاه (برگ و میوه) بررسی و مقایسه گردید. در ادامه، خاصیت ضدباکتریایی نانوساختار سنتز شده در مقابل باکتری‌های اشیریشیاکولی، باسیلوس سوبتلیس و استافیلوس کوکوس اورئوس با روش انتشار درون چاهک نیز بررسی شد. در ادامه، از نانوساختار ZnO به‌عنوان کاتالیزوری کارآمد و موثر در سنتز ترکیبات ۱-۴-دی هیدروپیریدین‌ها در واکنش هانش در حضور واکنش دهنده‌هایی نظیر اتیل استواستات، دیمیدون، آمونیوم استات و مشتقات مختلف بنزالدهیدی مورد بررسی و ارزیابی قرار گرفت.

## ۲- بخش تجربی

### ۲-۱- مواد و واکنشگرها

تمام مواد شیمیایی (از قبیل: نمک نیترات روی ۴ آبه، آمونیاک، کلریدریک اسید، سدیم هیدروکسید، آمونیوم استات و ...) و حلال‌ها (شامل: اتانول، استون، کلروفرم، استونیتریل، ان-هگزان و ...) با بالاترین درجه خلوص از شرکت‌های معتبر مانند آلدریج و مرک تهیه شدند. همچنین در تمام آزمایشات از آب دوبار تقطیر استفاده گردید.

### ۲-۲- دستگاه‌ها

از دستگاه اسپکتروسکوپی مادون قرمز تبدیل فوریه مدل JASCO-680 به‌منظور تشخیص و تعیین گروه‌های عاملی ترکیبات استفاده شد. طیف‌سنج جذبی اسپکترو فوتومتر UV-Vis دو پرتویی مدل JASCO 570 برای مطالعات طیف‌های جذبی استفاده شد. اندازه‌گیری pH محلول با استفاده از دستگاه pH متر مجهز به الکتروود شیشه ترکیبی ساخت شرکت Metrohm سوئیس انجام شد. همچنین دستگاه التراسونیک مدل-KMH1 120W6501 ساخت شرکت Ltd چین مورد استفاده قرار گرفت. میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) مدل Sigma VP- ZEISS (England) مجهز به تفرق انرژی پرتو ایکس (EDX) EDX-LE -EDS Sirius SD برای تصویربرداری و آنالیز

می‌شوند. به‌علاوه این امواج می‌توانند موجب تخریب دیواره‌ی سلول‌های زیستی شده و موجب تسهیل خروج مواد گردند. در عصاره‌گیری از گیاه، افزایش فرکانس تاثیر قابل توجهی بر بازده نداشته اما دمای عصاره‌گیری در این روش باید مدنظر گرفته شود و از افزایش دمای نمونه در سول عصاره‌گیری جلوگیری شود. طول مدت عصاره‌گیری هم در این روش اهمیت خاصی داشته و افزایش بیش از حد آن موجب تغییر در کیفیت عصاره حاصل خواهد شد. این روش ارزان، ساده و موثر بوده و افزایش بازده عصاره‌گیری و افزایش سرعت واکنش از مهم‌ترین محاسن این روش به‌شمار می‌رود [۶۷].

واکنش هانش یک واکنش چند جزئی است که در سال ۱۸۸۲ میلادی توسط هانش گزارش شد [۱۰]. ترکیبات هانش یا همان ۱-۴-دی هیدروپیریدین از ترکیبات با ارزش در پزشکی و داروسازی به‌شمار می‌آیند.

واکنش هانش به‌صورت تراکم تک ظرف چهارجزیی و سه جزیی انجام می‌گیرد. ۱-۴-دی هیدروپیریدین دارای انواع فعالیت‌های زیست شناختی و درمانی متنوعی همچون ضد تومور، ضد دیابت، ضد سل و مسدودکننده کانال کلسیم می‌باشد [۱۱]. این نوع واکنش‌ها بدون حضور کاتالیزور دارای سرعت و بازده پایینی می‌باشند. لذا استفاده از کاتالیزورهای مناسب و دوستدار محیط زیست اکسیدهای فلزی مانند  $Al_2O_3$ ،  $Cu_2O$ ،  $ZnO$  و اکسیدهای آهن برای دستیابی به محصول بیشتر در زمان کمتر مورد توجه قرار گرفته است [۱۲]. در این میان استفاده از کاتالیزورهای نانوساختار، به‌دلیل مساحت سطح ویژه می‌توانند بستر مناسبی را برای این واکنش‌های چند جزئی فراهم آورند.

در این پژوهش، برای بهبود سرعت و بازده واکنش هانش در سنتز مشتقات ۱-۴-دی هیدروپیریدین از نانوساختار ZnO سبز سنتز شده بر پایه عصاره گیاهی زالزالک به عنوان کاتالیزور استفاده گردید. نانوساختارهای سنتزی با تکنیک‌های مختلف نظیر EDS، FTIR، XRD و SEM مشخصه‌یابی گردید. همچنین مقدار فنل کل، فلاونوئید و

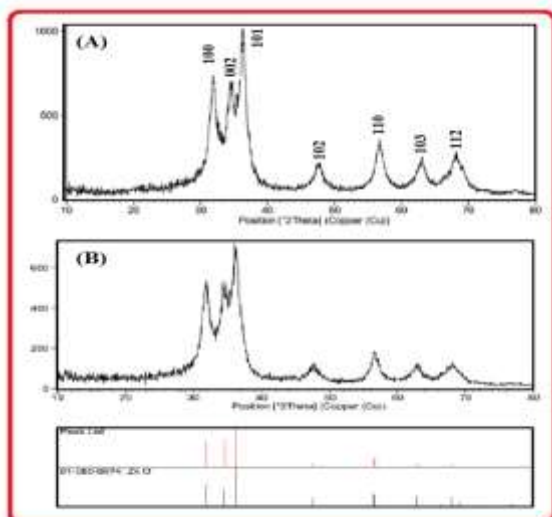
## ۲-۴- کاربرد نانوساختار اکسیدروی به عنوان کاتالیزور در واکنش هانش

مقدار ۱ میلی مول اتیل استواستات، ۱ میلی مول دیمیدون، ۱ میلی مول بنزالدهید و ۱/۵ میلی مول آمونیوم استات و ۰/۰۲ گرم کاتالیزور سنتز شده از عصاره برگ و میوه به بالن درون حمام روغن با دمای ۷۰ درجه سانتیگراد اضافه شدند و توسط همزن مغناطیسی همزده شدند. پیشرفت واکنش از طریق TLC دنبال شد. پس از کامل شدن واکنش، به مخلوط واکنش، اتانول افزوده شد سپس کاتالیزور توسط سانتریفیوژ با سرعت چرخش ۴۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه جداسازی شد. محلول بدست آمده تا نقطه جوش حرارت داده شد.

## ۳- نتایج و بحث

### ۳-۱- مشخصه نگاری

جهت تعیین فاز نمونه‌های اکسید روی کلسینه شده، از نمونه‌های عصاره برگ و میوه سنتز شده، پراش XRD گرفته شد که در شکل ۱ نشان داده شده است. بر اساس این الگوها، قله‌های پراش مربوط به نانوساختار سنتز شده از عصاره برگ و میوه به صفحات (۱۰۰)، (۰۰۲)، (۱۰۱)، (۱۰۲)، (۱۱۰)، (۱۰۳)، (۱۱۲)، مربوط به ساختار هگزاگونالی اکسید روی که با کارت استاندارد ۰۱-۰۷۵-۰۵۷۶ و ۰۱-۰۸۰-۰۰۷۵ تطابق دارد [۱۳ و ۱۴].



عنصری استفاده شد. برای بررسی ساختار و مطالعات کریستالی نانوساختارهای سنتزی، دستگاه پراش اشعه ایکس XRD مدل STOESTDy-Mp- (Germany) بکار گرفته شد.

## ۲-۳- آماده سازی گیاه و سنتز سبز نانوساختارهای ZnO

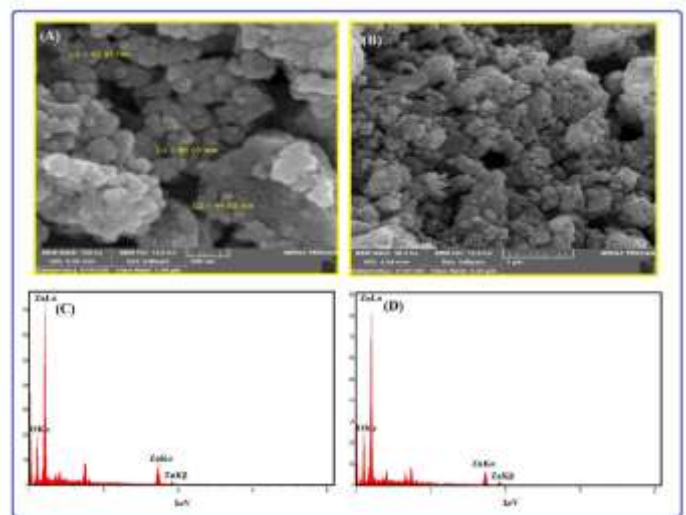
گیاه زالزالک در طی دو مرحله فنولوژیکی رویشی، برگ و میوه بر اساس مشخصات مکانی و زمانی ارائه شده از منطقه کهمان، در شمال الشتر از توابع استان لرستان جمع آوری و عصاره گیری به روش فراصوت انجام گرفت. جهت تهیه عصاره، ۳۰ گرم از پودر میوه و یا برگ گیاه زالزالک را درون بالن منتقل کرده و ۳۰۰ میلی لیتر آب دو بار تقطیر به آن اضافه شد، سپس مخلوط درون بالن با همزن مغناطیسی هم زده شد تا محتویات آن به خوبی همگن شود. سپس بالن درون دستگاه فراصوت در دمای ۴۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ دقیقه قرار گرفت. سپس عصاره را با کاغذ صافی و قیف، صاف کرده و محلول زیر صافی را درون ارلن ریخته و درب آن با ورقه آلومینیومی پوشانده و برای استفاده‌های بعدی در یخچال نگهداری شد.

سنتز زیستی نانوذرات اکسید روی با استفاده از عصاره گیاه زالزالک به روش زیر انجام گردید:

برای سنتز اکسید روی، ابتدا عصاره گیاه برگ و میوه، با استفاده از سود و اسید کلریدریک در pH کلیایی (بالتر از ۹) تنظیم شد و ۱۰۰ میلی لیتر از عصاره در یک بالن ته گرد ریخته و بروی همزن مغناطیسی گذاشته شد. در مرحله بعد، ۸۰ میلی لیتر محلول نیترات روی ۰/۰۵ مولار و ۲۰ میلی لیتر آمونیاک غلیظ (۲۵ درصد) مخلوط و بصورت قطره قطره به بالن حاوی محلول عصاره در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد افزوده شد. کلویید بدست آمده با استفاده از سانتریفیوژ دور بالا (۱۱۰۰۰ دور در دقیقه) به مدت ۱۰ دقیقه جدا شد. رسوب بدست آمده سه مرتبه با آب دوبار تقطیر شستشو داده شد. رسوب بدست آمده به مدت دو ساعت در آن خشک شد و برای انجام آنالیزهای بعدی مورد استفاده قرار گرفت. شماتیک روش سنتز سبز در شکل ضمیمه ۱ نشان داده شده است.

شکل ۱: طیف XRD نانوساختار ZnO سنتز شده با استفاده از عصاره برگ (A) و میوه زالزالک (B) گیاه زالزالک

نتایج آنالیز SEM نشان می‌دهد، نانوساختارهای ZnO سنتز شده با عصاره گیاه، دارای ساختار تقریباً کروی با ریخت شناسی منظم می‌باشد. میانگین اندازه ذرات نانوساختارهای ZnO سنتز شده از عصاره برگ و میوه حدود ۶۰ نانومتر می‌باشد. (شکل ۲) با استفاده از آنالیز EDS می‌توان وجود عناصر سازنده نانوکاتالیزور طراحی شده را مورد ارزیابی قرار داد. در این طیف پیک‌هایی مربوط به عناصر Zn و O به خوبی قابل مشاهده می‌باشند که تأییدی بر سنتز موفق نانوساختارهای ZnO می‌باشد (شکل ۲). همچنین نمودار EDX وجود عناصر Zn و O را تأیید می‌کند که نشان‌دهنده سنتز موفق نانوساختار ZnO از عصاره برگ و میوه گیاه زالزالک می‌باشد.



شکل ۲: آنالیز SEM و EDX نانوساختار ZnO سنتز شده از عصاره برگ (A,C) و میوه زالزالک (B,D) گیاه زالزالک

بررسی خواص نوری نانوساختارهای ZnO سنتز شده از عصاره آبی گیاه زالزالک با استفاده از طیف سنجی UV-Vis انجام شد. نتایج نشان دهنده یک نوار جذب واضح و پهن در محدوده ۳۹۵-۲۷۵ نانومتر برای نانوساختار سنتز شده از عصاره برگ و در محدوده ۳۶۸-۲۸۲ نانومتر برای نانوساختار سنتز شده از عصاره میوه می‌باشد. نتایج (شکل ضمیمه ۲) نشان‌دهنده وجود برخی گروه‌های عاملی در لایه آلی اطراف نانوساختارهای ZnO می‌باشد. ضمناً طیف جذبی با نوار پهن نشان‌دهنده محدوده وسیع جذب این نیمه‌هادی می‌باشد. تغییرات مشاهده شده در طیف

جذبی در ناحیه ۳۹۰-۲۷۰ نانومتر با نتایج تحقیقات گذشته همخوانی دارد [۱۵]. راجیوا و همکاران در سال ۲۰۱۳ موفق به سنتز نانوذرات اکسید روی توسط عصاره گیاه *hysterophorus Parthenium* شدند که حداکثر جذب در طول موج حدود ۳۷۰ نانومتر بود [۱۶].

طیف سنجی FT-IR به شناسایی گروه‌های عاملی موجود در سنتز نانوساختارهای ZnO پوشش داده شده با عصاره گیاه کمک زیادی می‌کند. نتایج طیف سنجی FT-IR (شکل ضمیمه ۲) نانوساختار اکسید روی سنتز شده با استفاده از عصاره برگ و میوه گیاه زالزالک نشان‌دهنده پیوند O-H ارتعاشات کششی در عدد موجی بین  $3300$  تا  $3600$   $cm^{-1}$  است. پیک جذبی در ناحیه  $2200$   $cm^{-1}$  مربوط به ارتعاشات  $C\equiv C$ ،  $C\equiv N$  و پیک جذبی بالاتر از  $1400$   $cm^{-1}$  احتمالاً مربوط به  $C=C$  می‌باشد. علاوه بر این قله‌های جذبی در ناحیه عدد موجی کمتر از  $1000$   $cm^{-1}$  به پیوندهای کششی اکسیدهای فلزی و همچنین سایر نانوذرات نسبت داده می‌شود [۱۷ و ۱۵]. آنالیز FT-IR نانوساختارهای ZnO سنتز شده با برگ و میوه، پیک‌های واضحی را به ترتیب در عدد موج  $679$   $cm^{-1}$  و  $890$   $cm^{-1}$  نشان می‌دهد که می‌توان به فرکانس کششی پیوند Zn-O نسبت داد.

### ۳-۲- ارزیابی خواص زیستی و توکسیسیتی نمونه‌ها

خواص ضدباکتریایی عصاره برگ و میوه گیاه و نانوساختارهای ZnO در سه غلظت ۱۲/۵، ۶/۲۵ و ۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر با روش انتشار درون چاهک بررسی شد (شکل ضمیمه ۳). نتایج این بررسی‌ها بصورت هاله‌های عدم رشد باکتری‌ها در اطراف چاهک در تمامی ترکیبات در جدول ضمیمه ۱ تا ۴ آمده است. همچنین با توجه به نتایج شکل ۳، با افزایش غلظت عصاره، برای همه باکتری‌ها ممانعت رشد افزایش یافت. عصاره برگ نسبت به باکتری گرم منفی (اشریشیا کولی)، بیشترین میزان ممانعت رشد را داشته است. در حالیکه بیشترین اثر ممانعت رشد عصاره میوه، روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و کمترین ممانعت رشد روی باکتری اشریشیا کولی می‌باشد. نتایج تحقیقات گذشته نشان دادند که عصاره برگ گیاه زالزالک دارای فعالیت ضدباکتریایی است که با تخریب دیواره سلول‌های باکتریایی باعث از بین رفتن باکتری‌ها می‌شود [۱۸]. از سویی،

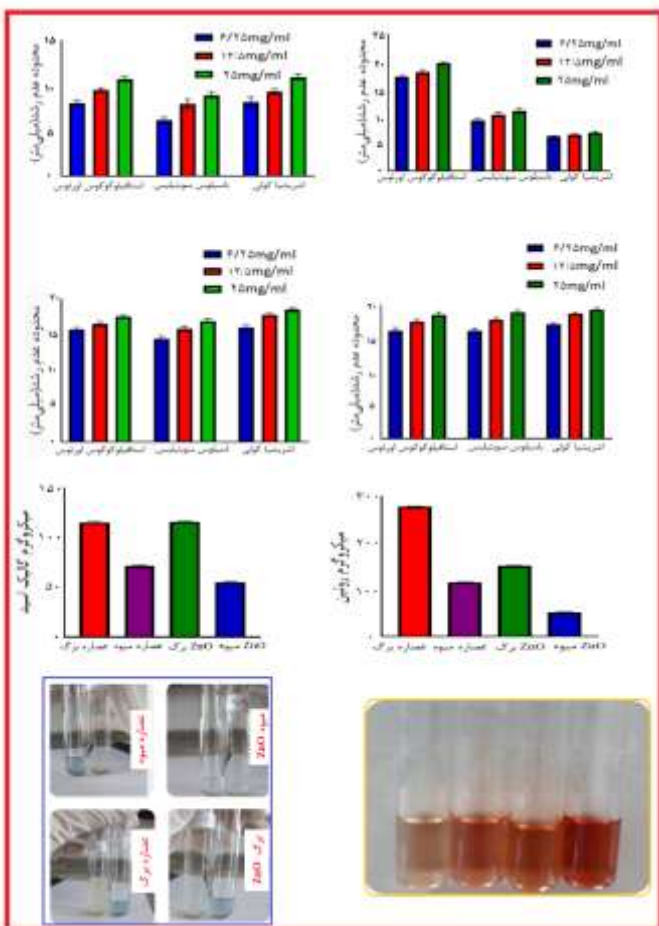
نتایج حاصل از آزمون‌های فنل تام و فلاونوئید عصاره برگ، میوه و نانوساختارهای ZnO سنتز شده در شکل ۳ گزارش شده است. با توجه به نتایج به دست آمده در این پژوهش، بیشترین محتوای فنل تام برای عصاره برگ و کمترین مقدار برای عصاره میوه مشاهده شد. مطالعات لانگ و همکاران (۲۰۰۶) نشان دادند که ترکیبات محتوای فنل تام، خود دارای خواص آنتی اکسیدان هستند بدیهی است که هر چه میزان محتوای فنل تام در برگ، گل و میوه یک گونه بیشتر باشد خاصیت ظرفیت آنتی اکسیدانی آن گونه نیز بیشتر است [۲۵]. در بین نانوساختارها، بیشترین اثر فنولی برای نانوساختارهای ZnO سنتز شده از عصاره برگ مشاهده شد. کریشناراج و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند که نانو ذرات نقره سنتز شده زیستی باعث افزایش محتوای ترکیبات فنلی گیاه *Bacopa monnieri* می‌شود [۲۶].

نانوساختارهای ZnO سنتز شده با عصاره برگ و میوه، بیشترین فعالیت ضدباکتریایی روی هر سه باکتری اشریشیا کولی، باسیلوس سوبتیلیس و استافیلوکوکوس اورئوس داشتند. در مجموع، عصاره‌های برگ، میوه و نانوساختار سنتز شده توسط عصاره‌ها، بیشترین اثر روی باکتری اشریشیا کولی و کمترین اثر روی باکتری باسیلوس سوبتیلیس داشتند. نتایج بدست آمده از آزمون انتشار درون چاهک نشان می‌دهند که برای عصاره‌های تهیه شده برگ و میوه به روش فراصوت و همچنین نانوساختار سنتز شده از عصاره برگ و میوه، خاصیت ضدباکتریایی به صورت زیر می‌باشد:

نانوساختارهای ZnO میوه < نانوساختارهای ZnO برگ < عصاره میوه < عصاره برگ

بر اساس گزارش‌های منتشر شده، نانوساختارها می‌توانند باعث اختلال در غشا باکتری شده و به دلیل سطح بالای آسیب‌های مکانیکی، ممکن است ورودشان از طریق منافذ غشا سلولی، پلاسما و پروتئین تسهیل گردد. بالا رفتن میزان تولید اکسیژن فعال (ROS) مانند رادیکال‌های سوپر اکسید و هیدروکسیل از نشانه‌های تداخل نانوساختار در ساختار باکتری‌ها می‌باشد. این رادیکال‌های فعال باعث تغییرات و آسیب‌های مختلفی در سلول از جمله افزایش نفوذپذیری به نانومواد، پراکسیداسیون لیپیدها، اختلال در مسیر انتقال یون‌ها، تغییرات در ساختار پروتئین‌ها، DNA و در نهایت مرگ سلولی می‌گردند [۱۹]. مطالعات قبلی در زمینه اثرات ضدباکتریایی نانوساختار اکسیدروی شیمیایی و زیستی بیانگر تأثیرات مثبت این نانوساختار در کنترل رشد باکتری‌ها می‌باشد [۲۰ و ۲۱].

مقادیر فنول تام عصاره نمونه‌ها و نانوساختار سنتز شده، توسط روش فولین سیوکالتو اندازه‌گیری شد [۲۲]. معرف فولین مخلوطی از فسفومولیبیک و فسفوتنگستیک اسید است که توسط ترکیبات فنلی و در pH بازی، به مولیبدنیوم اکسید و تنگستن احیاء شده و باعث تشکیل محصولات آبی رنگ می‌شود که در طول موج ۷۲۰ نانومتری بیشترین جذب دارد [۲۳]. مقدار فلاونوئید تام عصاره نمونه‌ها و نانوساختار سنتز شده، با اندکی تغییر به روش زیشن و همکاران اندازه‌گیری شد [۲۴]. طبق این روش، فلاونوئیدها با اتصال به آلومینیوم تشکیل کمپلکس زرد رنگی دادند.



شکل ۳: نتایج حاصل از آزمون بررسی فعالیت ضدباکتریایی، اندازه‌گیری فنل تام و فلاونوئید در عصاره برگ و میوه گیاه زالزالک و نانوساختارهای ZnO سنتز شده به همراه عکس فوتوگرافی آنها

ثانویه و نیز فعالیت زیستی آن‌ها بسیار موثر باشد [۲۷]. همچنین، نانوساختار سنتز شده از عصاره برگ، نسبت به نانوساختارهای سنتز شده از عصاره میوه خاصیت آنتی اکسیدانی بالاتری نشان داد و در بعضی از آزمون‌ها نانوساختار سنتز شده از عصاره برگ و میوه خاصیت آنتی اکسیدان تقریباً مشابه داشتند. نتایج تحقیقات نادر نژاد و همکاران (۲۰۱۹) در تیمار نانوساختار اکسیدروی نشان داد که نانوساختار سنتز شده از عصاره زیتون منجر به افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن و افزایش فعالیت‌های آنتی اکسیدانی گیاه شد [۲۸].

فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه‌های عصاره آبی و نانوساختارهای ZnO سنتز شده از عصاره برگ و میوه، با چهار روش DPPH، ABTS<sup>+</sup>، FRAP و NO ارزیابی و نتایج در شکل ۴ ارائه شد.

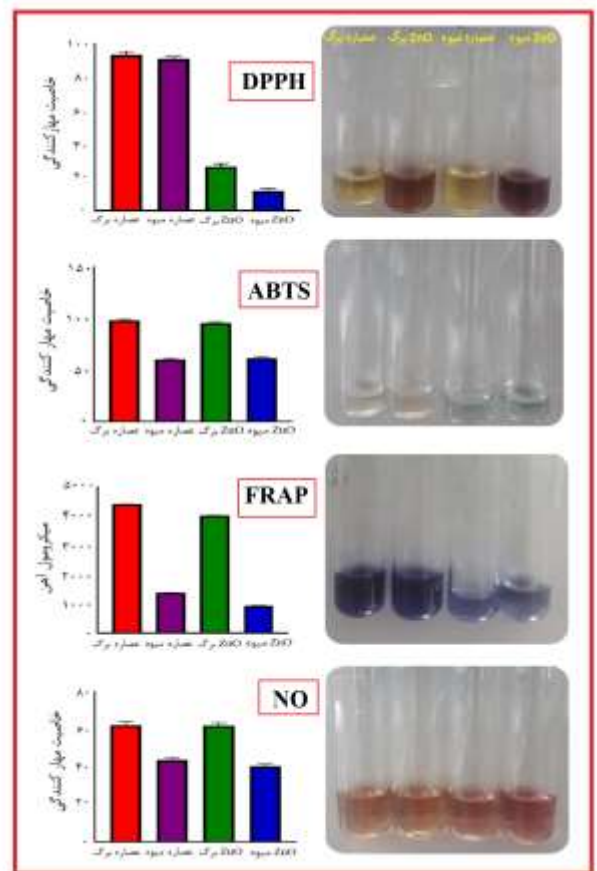
DPPH ترکیبی بنفش رنگ است که به دلیل حضور گروه‌های فنلی در ساختار به راحتی بصورت رادیکال در آمده و در واقع منبع رادیکال آزاد می‌باشد. این ترکیب با گرفتن یک الکترون از ترکیب آنتی اکسیدان از بنفش به زرد تغییر رنگ می‌دهد. هرچه محتوای آنتی اکسیدان نمونه بیشتر باشد، DPPH بیشتری مصرف شده و رنگ بنفش بیشتر به سمت زرد میل می‌کند. همچنین، روش ABTS<sup>+</sup> یکی از روش‌های مشهور تعیین ظرفیت آنتی اکسیدانی است که بر اساس ربایش رادیکال نسبتاً پایدار سبز آبی ABTS<sup>+</sup> می‌باشد که به یک محصول بی‌رنگ تبدیل می‌شود. شدت کاهش رنگ نشان‌دهنده مقدار رادیکال ABTS<sup>+</sup> است که توسط آنتی اکسیدان‌ها مهار شده است [۲۹].

برای اندازه‌گیری توانایی احیاء کنندگی به طریق FRAP از روش بنزی و استرین با اندکی تغییر استفاده شد. بر طبق این روش، آنتی اکسیدان‌های موجود در عصاره‌های گیاهی با احیاء فریک تریپیری دیل تریازین به فروتری پیریدیل تریازین، موجب ایجاد رنگ آبی در محیط واکنش می‌شوند.

برای اندازه‌گیری رادیکال اکسید نیتریک (NO)، با استفاده از واکنش گریس ایلوسوی اندازه‌گیری می‌شود. در این روش به جای نفتیلن آمین ۵ درصد از محلول ۰/۱ درصد نفتیل اتیلن دی آمین و دی هیدرو کلرید استفاده شد.

بیشترین محتوای فلاونوئید نیز مربوط به عصاره برگ و کمترین، مربوط به عصاره میوه می‌باشد. همان طور که شکل ۳ نشان می‌دهد وقتی میزان فلاونوئید بیشتر باشد رنگ آن قرمز و روشن تر می‌شود که در عصاره برگ این رنگ، بیشتر مشاهده می‌شود. همچنین نانوساختارهای سنتزی نسبت به نمونه‌های عصاره تنها، فلاونوئید کمتری نشان دادند.

نانوساختارهای ZnO میوه > عصاره میوه > نانوساختارهای ZnO برگ > عصاره برگ



شکل (۴): نتایج حاصل از ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره برگ و میوه گیاه زالزالک و نانوساختارهای ZnO سنتز شده به همراه عکس فوتوگرافی آنها

نتایج حاصل از ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی، ترکیبات فنلی و از جمله فلاونوئیدها در عصاره برگ و میوه در پژوهش حاضر (شکل ۳) نشان داد که عصاره برگ گونه مورد مطالعه دارای فعالیت آنتی اکسیدانی بالاتری نسبت به عصاره میوه بوده است. تنوع در جمعیت‌های یک گونه گیاهی در زیستگاه‌های طبیعی مختلف که ناشی از تفاوت در موقعیت جغرافیایی و شرایط اقلیمی آن رویشگاه‌ها است، می‌تواند در محتوای کمی و کیفی متابولیت‌های

با توجه به نتایج بدست آمده از آزمون DPPH، عصاره برگ و میوه خواص آنتی اکسیدانی بالاتری نسبت به نانوساختار سنتز شده دارند.

نانوساختارهای ZnO میوه > نانوساختارهای ZnO برگ > عصاره میوه > عصاره برگ

با توجه به نتایج مربوط به جذب رادیکال آزاد در آزمون ABTS+، درصد مهارکنندگی عصاره برگ نسبت به عصاره میوه بالاتر است که نشان دهنده خاصیت آنتی اکسیدانی بالای عصاره برگ می باشد. همانطور که مشاهده می شود بر مبنای آزمون ABTS+، نانوساختار سنتز شده عصاره برگ دارای خاصیت آنتی اکسیدانی بیشتری نسبت به میوه دارد.

خاصیت آنتی اکسیدان عصاره برگ و میوه و نانوساختار سنتز شده از عصاره برگ و میوه بین فنول تام و ABTS+ رابطه مستقیمی وجود داشت.

نانوساختارهای ZnO میوه > عصاره میوه > نانوساختارهای ZnO برگ > عصاره برگ

نتایج حاصل از آزمون NO و FRAP (شکل ۴) بیشترین خاصیت و میزان مهارکنندگی مربوط به عصاره برگ و کمترین میزان مربوط به عصاره میوه می باشد. هر چقدر پتانسیل احیا کنندگی FRAP یک ترکیب بیشتر باشد می تواند خواص آنتی اکسیدانی بیشتری داشته باشد که این نتیجه در مورد عصاره برگ و نانو ساختار برگ صدق می کند. طبق تحقیقات لیو و همکاران زمانی که آنتی اکسیدانها در محیط حضور داشته باشند شدت رنگ آبی در محیط بیشتر می شود که از روی اندازه گیری شدت رنگ می توان به ظرفیت آنتی اکسیدانی پی برد [۳۰]. با توجه به نتایج، مربوط به آزمون NO و FRAP (شکل ۴) هر چقدر پتانسیل احیا کنندگی یک ترکیب بیشتر باشد، شدت رنگ کمتر و نشان دهنده درصد مهار بیشتر رادیکال می باشد که در اینجا عصاره برگ شدت رنگ کمتری را نشان می دهد. نانوساختار سنتز شده از عصاره برگ و میوه نسبت به عصاره برگ و میوه خاصیت آنتی اکسیدان کمتری نشان داده شده است.

نانوساختارهای ZnO میوه > عصاره میوه > نانوساختارهای ZnO برگ > عصاره برگ

برای انجام آزمایشات سمیت، میزان سمی بودن بر اساس میزان مهار در رشد ریشه به دست می آید. ویژگی های

ماکروسکوپی و میکروسکوپی برای اندازه گیری میزان سمی بودن استفاده می شود [۳۱]. برای ارزیابی ژنوتوکسیسیته نمونه های مورد استفاده از آزمون آلیوم سپا استفاده شده است (شکل ضمیمه ۴). این آزمون برای اولین بار بوسیله لوان معرفی شد که به عنوان یک روش سریع برای اندازه گیری اختلالات سلولی یا سیتولوژی مورد ارزیابی قرار گرفت [۳۲]. آزمون آلیوم سپا از یک طرف مهار رشد ریشه و از طرف دیگر اختلالات کروموزومی را نشان می دهد [۳۳].

شاخص میتوزی پارامتری است که آن را می توان از طریق افزایش یا کاهش تشخیص داد و برای ارزیابی سمیت سلولی بکار می رود. کاهش آن نسبت به کنترل بیانگر تغییرات ایجاد شده بر روی رشد و نمو موجوداتی است که در مجاورت مواد شیمیایی خاص قرار گرفته اند [۳۴]. روش محاسبه شاخص میتوزی در جمعیتی از سلولها، شاخص میتوزی نسبت تعداد سلولهایی که در حال میتوز (تقسیم سلولی) می باشند به تعداد سلولهایی است که در حال میتوز نیستند. جهت محاسبه این شاخص معمولاً سلولهایی را که در مشاهده کروموزومهای قابل رویت دارند در حال میتوز در نظر می گیرند.

ابتدا غلظت های مختلفی از عصاره و نانوساختار سنتز شده، تهیه شد و سپس تعدادی پیاز سالم به اندازه های مساوی (با قطر ۷-۴ سانتیمتر) انتخاب شد. قبل از انجام آزمایش لایه خارجی پیاز برداشته شد و قسمت انتهایی پایین پیاز به آرامی توسط چاقو بدون اینکه آسیبی به لایه زاینده وارد شود، جدا شد. بعد از آن پیازها در مجاورت نمونه ها (محلولهایی با غلظت ۵ میلی گرم بر میلی لیتر از هر نمونه) قرار داده شد و سپس میزان رشد طولی انتهایی ریشه پس از ۹۶ ساعت بررسی شد.

برای آزمایشات ژنوتوکسیسیته، شبیه به روش اول ابتدا برای هر غلظت عصاره ۶ عدد پیاز انتخاب گردید و پس از مشاهده، یکی از پیازهایی که در طی ۴۸ ساعت اول در هر گروه حداقل رشد را داشت از مطالعه کنار گذاشته شد. در روز چهارم از بقیه پیازها، ۴ میلی متر انتهایی ریشه از هر پیاز را قیچی و پس از فیکس شدن در مخلوط اسید استیک و اسید کلرید با رنگ اورسئین به مدت نیم ساعت رنگ آمیزی شد و سپس با میکروسکوپ نوری جهت تغییرات کروموزومی که عبارتند از (پل کروموزومی و جدا شدن تکه کروموزومی) آسیب رشته های دوک (Vagrant, Laggard)

یعنی میتوز را مهار کرده و نتوانسته سلول‌های در حال تقسیم اتفاق بیافتد.

مطالعات نشان داد که براساس دانش موجود هر نانوذره ای احتمالاً اثر ژنوتوکسیسیته محدودی را القاء کرده و منجر به شکست‌های دو رشته ای در مولکول DNA و در نتیجه آسیب به ماده ژنتیکی می شود [۳۵]. شاخص میتوزی در عصاره‌های برگ و میوه و نانوساختارهای برگ و میوه طبیعی می‌باشد. تغییرات میتوزی غیرطبیعی در هر عصاره و نانوساختار وجود نداشت.

### ۳-۳- کاربرد نانوساختار ZnO به‌عنوان کاتالیزور در واکنش هانش

یکی از اهداف این مقاله کاربرد کاتالیزور نانوساختار اکسید روی سنتز شده از عصاره برگ و میوه در واکنش هانش می‌باشد. برای این منظور ابتدا شرایط بهینه سازی شد و سپس نقش کاتالیزور در واکنش با استفاده از آلدئیدهای مختلف بررسی شد.

#### ۱-۳-۳- بهینه سازی شرایط واکنش هانش

برای این منظور مخلوط ۱ میلی مول اتیل استواتات، ۱ میلی مول دیمیدون، ۱ میلی مول بنزآلدئید ۱/۵ میلی مول آمونیوم استات در حضور مقادیر مختلف کاتالیزور سنتز شده از عصاره برگ و میوه، تحت دماهای مختلف و حلال‌های متفاوت به همزده شدند. پیشرفت واکنش از طریق TLC دنبال شد. بعد از بهینه کردن شرایط، واکنش در حضور آلدئیدهای مختلف نیز انجام گرفت. در نهایت محصولات واکنش از طریق نقطه ذوب و IR شناسایی شدند.

برای بهینه سازی مقدار کاتالیزور، ۱ میلی مول بنزآلدئید، ۱ میلی مول اتیل استواتات، ۱/۵ میلی مول آمونیوم استات، ۱ میلی مول دیمیدون و مقادیر مختلف کاتالیزور به درون بالنی که در حمام روغن با دمای ۷۰ درجه سانتیگراد قرار داشت، افزوده شدند. بر اساس نتایج جدول ۱ مقدار بهینه کاتالیزور ۰/۰۲ گرم می‌باشد. برای بهینه سازی دما، ۱ میلی مول بنزآلدئید، ۱ میلی مول اتیل استواتات، ۱/۵ میلی مول آمونیوم استات، ۱ میلی مول دیمیدون و ۰/۰۲ گرم کاتالیزور ZnO تحت دماهای مختلف قرار داده شد. نتایج در جدول ۲ آورده شده است. براساس نتایج مشاهده شده تغییر دما روی واکنش تاثیر بالایی داشته و بهترین نتیجه در

، (mitosis-C) همچنین مراحل آنافاز-متافازهای غیر طبیعی و ضخیم شدن کروموزوم بررسی و تعیین شد. به طور کلی، برای هر پیاز یک اسلاید و برای نمونه‌ها (عصاره برگ و میوه و نانوساختار سنتز شده) ۶ اسلاید تهیه شد. در هر اسلاید ۵۰۰ سلول در مراحل آنافاز و تلوفاز بررسی گردید. این آزمایش در روزهای سوم و چهارم نیز انجام شد. برای کنترل منفی از دی متیل سولفوکساید و کنترل مثبت از آب اکسیژنه استفاده شد و سپس شاخص میتوزی محاسبه شد. بطور کلی برای هر پیاز یک اسلاید و برای هر نمونه عصاره ۶ اسلاید تهیه گردید در هر اسلاید ۱۰۰۰ سلول بررسی شد.

در این تحقیق، طبق نتایج (جدول‌های ضمیمه ۶ و ۵) در آزمون، مهار رشد برگ، میوه و نانوساختار سنتز شده از عصاره برگ و میوه به میزان بسیار کمی دیده شد و همچنین عدم تغییر رنگ بیانگر عدم توکسیسیته است که عصاره برگ و میوه نانوساختارهایی فاقد ویژگی‌های سمیت از قبیل مورفولوژی غیرطبیعی در انتهای ریشه یا فاقد رنگ انتهایی بودند مشاهده شد. میانگین طول ریشه در عصاره برگ، میوه و نانوساختارهای برگ و میوه ۳/۸ کنترل منفی بود که نشان می‌دهد میانگین طول رشد فاقد سمیت می‌باشند.

طبق نتایج مطالعات گذشته در نمونه‌های گیاهی مورد مطالعه شاخص میتوزی طبیعی بیانگر عدم سمیت می‌باشد و کاهش شاخص میتوزی معرف وجود آلاینده یا اجسام سیتوتوکسیک می‌باشد که وجود اجسام سیتوتوکسیک باعث مهار فعالیت‌های میتوزی می‌شود. ضریب میتوزی کمتر از نسبت به کنترل باعث اثرات کشندگی بر روی میکروارگانیسم‌ها می‌شود. با توجه به این که در این پژوهش ضریب میتوزی بین ۹۵-۸۰ درصد کنترل بود، می‌توان گفت خطرات تهدیدکننده در عصاره‌ها و نانوساختارها وجود نداشت. زیرا وجود مواد سمی شدید باعث تغییرات شدید در کروماتین، اجسام دوکی و سانترومرها می‌شود. مجموعه این حوادث باعث اختلال در تنظیم کروموزم در صفحه متافاز، اختلال در وضعیت دوک‌ها و جابجائی غیرطبیعی کروموزم‌ها می‌شود. جدول ضمیمه ۷ سلول‌های در حال تقسیم را نشان می‌دهد که حدود ۹۰ درصد سلول‌ها، اینترفاز و از هر ۱۰۰۰ سلول ۸۶ سلول، در حال تقسیم اند که میتواند متافاز، پروفاز، آنافاز و تلوفاز باشند. در اینجا کنترل مثبت به مراتب کمتر شده، که معنی دار است.

همانطور که نتایج جدول نشان می‌دهد مشتقات مختلف پلی هیدروکینولین تحت شرایط مناسب با بازده بسیار خوب در زمان کم سنتز شده‌اند. بنزآلدئید (جدول ضمیمه ۸ شماره ۱) و آلدئیدهای دارای گروه الکترون کشنده نظیر ۲-کلروبنزآلدئید (شماره ۲)، ۴-نیترو بنزآلدئید و ۴-سیانو بنزآلدئید (شماره ۳ و ۴) نیز دارای عملکرد خوب و بازده بالایی هستند. همچنین آلدئیدهای دارای ممانعت فضایی نظیر ۳-هیدروکسی بنزآلدئید (شماره ۵) دارای بازده خوبی هستند. آلدئیدهای دارای گروه الکترون دهنده نظیر ۴-متیل بنزآلدئید (شماره ۶) تحت شرایط بکار گرفته شده عملکرد خوبی داشتند و دارای بازده بالایی هستند. این نتایج نشان‌دهنده عملکرد بالای نانوکاتالیزور در واکنش هانش است.

### ۳-۳-۳- مکانیسم پیشنهادی واکنش هانش در حضور کاتالیزور ZnO

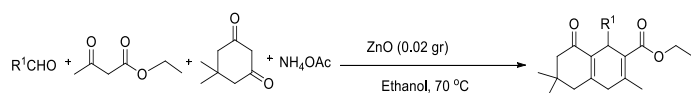
مکانیسم پیشنهادی برای سنتز ترکیبات پلی هیدروکینولین از طریق واکنش هانش در شمای ۲ نشان داده شده است. در ابتدا (مراحل I و II) گروه کربونیلی ترکیبات ۱ و ۲ توسط کاتالیزور فعال شده و حد واسطه‌های ۶ و ۷ را ایجاد می‌کنند. در مرحله III از طریق تراکم ناووناکل و حذف آب بین دو ترکیب ۳ و ۶ حد واسطه ۸ تشکیل می‌شود. در مرحله IV واکنش تراکمی بین ترکیبات ۴ و ۷ و در نتیجه حذف آب صورت گرفته و حدواسطه ۹ سنتز می‌شود. در مرحله V واکنش با افزایش مایکل بین حدواسطه‌های ۸ و ۹ و تشکیل حدواسطه ۱۰ ادامه یافته و در نهایت در مرحله VI پس از حذف آب ترکیب پلی هیدروکینولین سنتز شده و پس از جداسازی محصول کاتالیزور آزاد و دوباره وارد فرآیند می‌شود.

دمای ۷۰ درجه سانتیگراد حاصل شده است. لذا در مشاهدات بعدی این دما به عنوان دمای بهینه انتخاب شد.

برای بهینه سازی حلال، ۱ میلی مول بنزآلدئید، ۱ میلی مول اتیل استواستات، ۱/۵ میلی مول آمونیوم استات، ۱ میلی مول دیمیدون و ۰/۰۲ گرم کاتالیزور ZnO در دمای ۷۰ درجه سانتیگراد تحت شرایط بدون حلال و با حلال‌های مختلف بررسی شد که طبق نتایج آن در جدول ۳ اتانول به عنوان حلال بهینه انتخاب شد.

### ۲-۳-۳- سنتز مشتقات پلی هیدروکینولین در حضور نانوکاتالیزور ZnO

مشتقات پلی هیدروکینولین از واکنش بین آلدئید، اتیل استواستات، دیمیدون و آمونیوم استات در حضور نانوکاتالیزور ZnO سنتز شدند (شمای ۱). نتایج حاصل از این واکنش در جدول ضمیمه ۸ آمده است.



شمای (۱): روش سنتز مشتقات پلی هیدروکینولین در حضور نانوکاتالیزور ZnO

جدول (۱): نتایج بهینه سازی نانوکاتالیزور ZnO در واکنش هانش

ردیف	مقدار کاتالیزور (گرم)	زمان (ساعت)	بازده (درصد)
۱	بدون کاتالیزور	۲	۱۰
۲	۰/۰۱	۲	۷۰
۳	۰/۰۲	۲	۹۵
۴	۰/۰۲۵	۲	۹۴

جدول (۲): نتایج بهینه سازی دمای واکنش هانش در حضور نانوکاتالیزور ZnO

ردیف	دما (درجه سانتی‌گراد)	زمان (ساعت)	بازده (درصد)
۱	۲۵	۲	۱۵
۲	۶۰	۲	۷۵
۳	۷۰	۲	۹۵
۴	۸۰	۲	۹۵

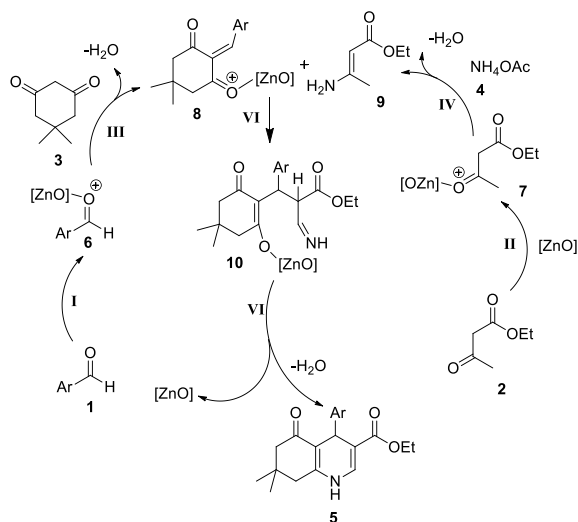
جدول (۳): نتایج بهینه سازی حلال با نانوکاتالیزور ZnO در واکنش هانش

ردیف	حلال	زمان (ساعت)	بازده (درصد)
۱	آب	۲	۴۰
۲	بدون حلال	۲	۶۰
۳	استونیتریل	۲	۷۵
۴	اتانول	۲	۹۵

و ژنوتوکسیسیته نمونه‌های برگ، میوه و نانوساختار سنتز شده از برگ و میوه نشان داد که پتانسیل خطری برای مصرف کننده وجود ندارد. به‌طور خلاصه در این پروژه برای اولین بار کاتالیزور سنتز شده از عصاره برگ و میوه اکسید روی سنتز و عملکرد آن در واکنش هانش بررسی شد. نتایج نشان داد که کاتالیزور توانسته با فعالیت بالا و پایداری مناسب واکنش هانش را کاتالیز کند و محصولاتی با بازده بالا در زمان کم بدست آید.

### مراجع

- [1] S. Irvani, Green Chem. vol. 13, pp. 2638-2650, 2011.
- [2] E. K. Wiberg, A. F. Holleman, Inorg. Chem. Elsevier, 2001.
- [3] G. Parthasarathy, M. Saroja, M. Venkatachalam, S. Shankar, V.K. Evanjelene, World J. Pharm. Pharm. Sci. vol. 5, pp. 922-931, 2016.
- [4] R. Zhu, X. Zhang, Y. Wang, L. Zhang, C. Wang, F. Hu, G. Chen, Food. Chem., vol. 286, pp.129-135, 2019.
- [5] H.R. Rajabi, Z.M. Alvand, A. Mirzaei, Environ. Sci. Pollution Res. vol. 30, pp.120236-120249, 2023.
- [6] Z. Moradi Alvand, HR. Rajabi, A. Mirzaei, A. Masoumiasl, H. Sadatfaraji, Mater. Sci. Eng. C vol. 98, pp. 535-544, 2019.
- [7] H.R. Rajabi, F. Sajadiasl, H. Karimi, ZM. Alvand, J. Mater. Res. Technol. vol. 9, pp.15638-15647, 2020.
- [8] صمصام شریعت، سید هادی (۱۳۱۶). گزیده گیاهان دارویی. اصفهان: انتشارات مانی. ص ۳۷۰.
- [9] A.A. Donmez, Turk. J. Bot., vol. 28, pp. 29-37, 2004.
- [10] A. Hantzsch, Justus Liebigs Ann. Chem., vol. 215, pp. 1-83, 1882.
- [11] L. Fei, S. Perrett, Int. J. Mol. Sci., vol. 10, pp. 646-655, 2009.
- [12] M. Shaker, A. Salimi Beni, J. Porous Mater., vol. 28, pp. 435-449, 2022.
- [13] D. Goyal, P. Solanki, B. Marathe, M. Takwale, V. Bhide, Jpn. J. Appl. Phys., vol. 31, pp. 361-364, 1992.
- [14] G. Umadevi, K. G. Krishna, Sensors Actuators A: Physical, vol. 374, pp.115479, 2024.



شماي(۲): مکانیسم پیشنهادی سنتز مشتقات پلی هیدروکینولین از طریق فرآیند هانش

### ۴- نتیجه‌گیری

در این تحقیق عصاره گیری با روش امواج فراصوت روی برگ، میوه و نانوساختار سنتز شده از عصاره برگ و میوه، خاصیت ضدباکتریایی، فعالیت آنتی اکسیدانی، میزان سمیت روی گیاه زالک مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس یافته‌های حاصل از تحقیق حاضر روی خاصیت ضدباکتریایی، نتایج نشان داد نانوساختار اکسید روی سنتز شده از عصاره برگ و میوه، اثر مهارکنندگی و ضدباکتریایی قابل قبولی بر باکتری‌های اشریشیا کولی، استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سوبتیلیس دارند و میتواند از رشد این میکروارگانیسم‌ها جلوگیری کند. نتایج حاصل از ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی، ترکیبات فنلی و از جمله فلاونوئیدها در عصاره برگ و میوه در پژوهش حاضر نشان داد که عصاره برگ گونه مورد مطالعه واجد فعالیت آنتی اکسیدانی بالاتری نسبت به عصاره میوه می‌باشد و عصاره تهیه شده از برگ و میوه گیاه نسبت به نانوساختار سنتز شده از عصاره برگ و میوه خاصیت آنتی اکسیدان بیشتری دارد. در بعضی از آزمون‌های انجام شده در این تحقیق نانوساختار سنتز شده از عصاره برگ آنتی اکسیدان بالاتری نشان داد ولی در بعضی آزمون‌ها خاصیت آنتی اکسیدان عصاره برگ، میوه و نانوساختار سنتز شده از عصاره برگ و میوه تقریباً مشابه بودند. نتایج بررسی تاثیرات توکسیسیته

- [33] D. Leme, M. Marin-Morales, *Mutat. Res.*, vol. 682, pp. 71-81, 2009.
- [34] T. Fernandes, D. Mazzeo, M. Marin-Morales, *Pest.Biochem.Physiol.*, vol. 88, pp.252–259, 2007
- [35] A. Amin W, *J. Biol. Sci.*, vol. 5, pp. 184-188, 2002.
- [15] H.R. Rajabi, R. Naghiha, M. Kheirizadeh, H. Sadatfaraji, A. Mirzaei, Z.M. Alvand, *Mater. Sci. Eng.*, vol. 78, pp. 1109-1118, 2017.
- [16] P. Rajiv, S. Rajeshwari, R. Venckatesh, *Spectrochim Acta A*, vol. 112, pp.384–387, 2013.
- [17] H. Bao, Z. Lu, X. Cui, Y. Qiao, J. Guo, J. M. Anderson, C. M. Li, *Acta Biomaterialia* vol. 6, 3534, 2010.
- [۱۸] ف. قادری، " بررسی اثرات ضد باکتریایی عصاره‌های برخی از گونه‌های گیاهی " پایان نامه کارشناسی ارشد رشته بیوتکنولوژی .  
۱۳۹۱
- [19] A. Lapresta-Fernandez, A. Fernandez, J. Blasco, *Trends Anal. Chem.* vol. 32, pp. 40-59, 2012.
- [20] A. Bayrami, S. Alioghli, S. Rahim Pouran, A. Habibi-Yangjeh, A. Khataee, S. Ramesh, *Ultrason. Sonochem.* vol. 55, pp. 57-66, 2019.
- [21] A. Bayrami, S. Haghgoeie, S. Rahim Pouran, F. Mohammadi Arvanag, A. Habibi, *Adv. Powder Technol.* vol. 31, pp. 2110-2118, 2020.
- [22] S. McDonald, P. D Prenzler, M. Autolovich, K. Robards, *Food. Chem.* vol.73 pp.73-84, 2001
- [23] J. Kanner, *J. Agric. Food.Chem.* vol. 42, pp.64-69, 1994.
- [24] J. Zhishen, T. Mengcheng, W. Jianming, *Food. Chem.* vol.64, pp. 555–559, 1999.
- [25] S. R. Long, R. A. Carey, K. M. Crofoot, P. J. Proteau, T. M. Filtz, *Phytomedicine.* vol.13, pp.643–650, 2006.
- [26] C. Krishnaraj, E. G. Jagan, S. M. Ramachandran, *Process Biochem.* vol. 47, pp. 651–658, 2010.
- [27] M .Tosun, S .Ercisli, M .Sengul, H .Ozer, T . Polat, E. Ozturk., *Biol .Res.*, vol. 42, pp. 175-181, 2009.
- [۲۸] هاشمی، نادرزاد، نازی، پورسیدی اسرار(. بررسی سمیت نانوذرات اکسید روی سنتز شده توسط عصاره زیتون بر رشد و رنگیزه‌ها در گاو زبان. انجمن فیزیولوژی گیاهی ایران(۲۰۱۹)، ۸ (۳۰).  
ص: ۳۰۳-۳۱۵.
- [29] R. Re, N. Pellegrini, A. Progettente, A. Pannala, M. Yang, C. Rice-Evans, *Free Radical Biol. Med.* vol. 26, pp.1231-1237, 1999.
- [30] T. Liu, N. Chin, M. Kiser, W. Bigler, *Clin. Chem.* vol. 28, pp. 2225-2228, 1982.
- [31] A. Mohammed, A. SarhanA, *Int. J. Biotechnol. Biochem.*, vol. 6, pp. 601–608, 2010.
- [32] T. Evseeva, S. Geraskin, I. I. Shuktomova, *Environ. Radioact.* vol. 68, pp. 235-248, 2003.



# Synthesis of zinc oxide nanostructures using *Crataegus spp.* extract after ultrasonic-assisted extraction: Synthesis, study of the biological potential, and using in Hantzsch reaction

Fatemeh Kiani Aslanshah<sup>a</sup>, Alireza Salimi Beni<sup>a,\*</sup>, Hamid Reza Rajabi<sup>a,\*</sup>, Asad Masoumiasl<sup>b</sup>, Ali Mirzae<sup>c</sup>

<sup>a</sup> Chemistry Department, Yasouj University, Yasouj, 75918-74831, Iran

<sup>b</sup> Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Yasouj University, Yasouj 75918-74831, Iran

<sup>c</sup> Medicinal Plant Research Center, Yasouj University of Medical sciences, Yasouj, Iran

**Abstract:** In this study, a sustainable method using the aqueous extract of *Crataegus spp.* was developed for producing zinc oxide (ZnO) nanostructures. The leaves and fruits of the plant were used to prepare the aqueous extracts through ultrasonic-assisted extraction, which were then utilized for the eco-friendly synthesis of ZnO. Analysis of the resulting nanostructures using X-ray diffraction and scanning electron microscopy confirmed the hexagonal structure of ZnO, with a size range of 40-70 nm. The absorption results show a clear and broad absorption band in the range of 275-400 nm for nanostructures synthesized from leaf and fruit extracts. The antibacterial properties of the synthesized ZnO nanostructures were investigated using the well diffusion method, revealing higher antibacterial activity compared to the plant's leaf and fruit extracts. Furthermore, the total phenol, flavonoid content, and antioxidant activity of the ZnO nanostructures and the extracts were studied and compared. The results indicated that the plant extracts exhibited greater antioxidant properties than the ZnO nanostructures. Additionally, toxicity tests were conducted on *Allium cepa* samples to assess the toxicity of the samples. The ZnO nanostructures were then employed as effective nanocatalysts in Hantzsch reactions involving various aldehydes, such as ethyl acetate, ammonium acetate, and dimedone. The results demonstrated the synthesis of high-efficiency products (95%) within 2 hours using 0.02 g of nanocatalyst.

**Keywords:** Green Synthesis, Zinc Oxide Nanostructures, Hantzsch Reaction, Antimicrobial Activity, *Crataegus.spp.*