



Original Research Paper

Green synthesis of gold nanoparticles using *Spirulina platensis* microalgae extract and its impact on the blood lipid profile in male Wistar rats

Hame Abdollah aslian ¹, Mohammadreza Taherizadeh ^{1*}, Mohammad Rafienia ², Parham Raeisi ³, Elham Bidram ²

¹Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science and Technology, Hormozgan University, Bandar Abbas, Iran

²Department of Biomaterials, Nanotechnology and Tissue Engineering, School of Advanced Technologies in Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

³Department of Physiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan

Key Words

Gold nanoparticles
Microalgae
Spirulina
Biosynthesis
Leptin
Lipid profile

Abstract

Introduction: Given the growing significance of gold nanoparticles in contemporary medicine and the diverse applications of spirulina microalgae in pharmaceuticals and nutrition science, it is imperative to explore their influence in various domains of biomedicine. This research aims to investigate the green synthesis of gold nanoparticles using the microalgae *Spirulina platensis* from the Persian Gulf. The study also examines the effects of these nanoparticles on the serum levels of lipid profile and leptin hormone in a Wistar rat model fed with a high-fat diet.

Materials & Methods: Initially, an aqueous extract was prepared using *Spirulina platensis* marine microalgae powder. Subsequently, gold nanoparticles were biosynthesized utilizing this extract. UV-Vis spectroscopic analysis, scanning electron microscopy (SEM), X-ray diffraction (XRD), and Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) were used to investigate the synthesis of nanoparticles. In the continuation of the experiment, male Wistar rats were obtained from the Pasteur Institute of Iran and divided into five groups. The control group was fed with standard pellet food, the model group was fed with a high-fat diet without any treatment, and four other experimental groups that were fed with a high-fat diet containing biosynthesized nanoparticles in two different doses (high and low). Additionally, there was a group that was fed only with spirulina microalgae.

Results: According to the results, the optimal synthesis was recorded at a wavelength of 540 nm and a temperature of 40 degrees Celsius. The nanoparticles were observed to have a spherical shape. The group treated with a high dose of gold nanoparticles and *Spirulina platensis* showed a significant decrease in cholesterol levels ($p < 0.01$ and $p < 0.001$, respectively). Administration of gold biosynthetic nanoessence and spirulina significantly reduced the levels of triglycerides, cholesterol, and LDL compared to the model group. It was observed that the serum leptin level in the model group differed significantly from the control group ($P < 0.001$). The leptin levels of the treated groups were significantly lower than those of the model group. Our study revealed that the serum leptin level in the high-dose biosynthetic nanoparticles group differed significantly from that of the model group ($P < 0.001$). Also, the group treated with *Spirulina platensis* showed a significant difference ($P < 0.01$) compared to the model group.

Discussion: Nanoparticles synthesized through spirulina microalgae demonstrated a positive impact on hyperlipidemia and serum levels of leptin hormone in the groups that were tested. The results indicate that the extract of *Spirulina platensis* is a suitable biological source for synthesizing gold nanoparticles, making it an ideal product for medical use.

* Corresponding Author's email: taheri.1965@gmail.com

Received: 30 March 2024; Reviewed: 4 May 2024; Revised: 10 July 2024; Accepted: 11 August 2024

(DOI): [10.22034/AEJ.2023.405162.3007](https://doi.org/10.22034/AEJ.2023.405162.3007)

مقاله پژوهشی

سنتز سبز نانوذرات طلا توسط عصاره میکرو جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس (*Spirulina platensis*) و تاثیر آن بر پروفایل لیپیدی خون در رت های نر نژاد ویستار

حامد عبدالله اصلیان^۱، محمدرضا طاهری زاده^{۱*}، محمد رفیعی نیا^۲، یرهام رئیسی^۳، الهام بیدرام^۲

^۱ گروه زیست دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران
^۲ گروه بیومتریال، نانوتکنولوژی و مهندسی بافت، دانشکده فناوری های نوین علوم پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
^۳ گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

چکیده

کلمات کلیدی

مقدمه: با توجه به اهمیت روزافزون نانو ذرات طلا در پزشکی نوین و کاربردهای فراوان میکرو جلبک اسپیرولینا در داروسازی و علم تغذیه، بررسی تأثیر آن ها در حیطه های مختلف زیست پزشکی بسیار ضروری می نماید. این تحقیق باهدف سنتز سبز نانوذرات طلا با میکرو جلبک دریایی اسپیرولینا پلاتنسیس خلیج فارس و اثر آن بر سطح سرمی پروفایل لیپیدی و هورمون لپتین در مدل رت نژاد ویستار (تغذیه شده با غذای پرچرب) صورت گرفته است.

مواد و روش ها: ابتدا عصاره آبی از پودر میکرو جلبک دریایی اسپیرولینا پلاتنسیس تهیه گردید و سپس به وسیله آن، بیوسنتز نانو ذرات طلا صورت پذیرفت. در بررسی سنتز نانوذرات از آنالیز طیف سنجی UV-Vis، میکروسکوپ الکترونی روبشی SEM و نیز آنالیزهای XRD و FTIR استفاده گردید. در ادامه آزمایش، ۳۰ رت نر نژاد ویستار از انستیتو پاستور ایران تهیه و به ۵ گروه تقسیم گردید که شامل گروه کنترل که با غذای پلت استاندارد تغذیه می شدند، گروه مدل که با رژیم غذایی پرچرب و بدون هیچ گونه درمانی تغذیه می شدند و چهار گروه آزمایشی دیگر که همراه با رژیم غذایی پرچرب از نانوذرات بیوسنتز شده در دو دوز بالا و پایین و گروهی که فقط با میکرو جلبک اسپیرولینا تغذیه می شدند.

نتایج: طبق نتایج، در طول موج ۵۴۰ نانومتر و در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد، سنتز بهینه به ثبت رسید و شکل نانوذرات کروی بوده است. گروه تحت درمان با دوز بالا نانوذرات طلا و اسپیرولینا پلاتنسیس، کاهش قابل توجهی در سطح کلسترول نشان دادند (به ترتیب $p < 0.01$ و $p < 0.001$). تجویز نانوذرات بیوسنتزی طلا و اسپیرولینا به طور قابل توجهی سطوح تری گلیسیرید، کلسترول و LDL را در مقایسه با گروه مدل کاهش داد. مشاهده شد که سطح سرمی لپتین در گروه مدل نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی داری دارد ($P < 0.001$). سطح لپتین گروه های تحت درمان به طور معنی داری کمتر از گروه مدل بود و با توجه به مطالعه حاضر، مشخص شد که سطح سرمی لپتین در گروه نانوذرات بیوسنتزی با دوز بالا، تفاوت معنی داری با مدل دارد ($P < 0.001$). هم چنین گروه درمان شده توسط اسپیرولینا پلاتنسیس نسبت به گروه مدل تفاوت معنی داری ($P < 0.01$) داشت.

بحث و نتیجه گیری: نانوذرات بیوسنتز شده از طریق میکرو جلبک اسپیرولینا تأثیر مثبتی بر هیپرلیپیدمی و سطح سرمی هورمون لپتین در گروه های مورد آزمایش نشان داد. توجه به نتایج حاضر به نظر می رسد که عصاره اسپیرولینا پلاتنسیس، منبع زیستی مناسبی برای سنتز نانو ذرات طلا است و این محصول را برای مصارف پزشکی در موقعیت ایده آل قرار می دهد.

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: taheri.1965@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۱ فروردین ۱۴۰۳؛ تاریخ داوری: ۱۵ اردیبهشت ۱۴۰۳؛ تاریخ اصلاح: ۲۰ تیر ۱۴۰۳؛ تاریخ پذیرش: ۲۱ مرداد ۱۴۰۳

(DOI): 10.22034/AEJ.2023.405162.3007

مقدمه

جامعه علمی اخیراً علاقه فزاینده‌ای به فناوری نانو، به‌ویژه به دلیل کاربردهای بالقوه آن در زیست پزشکی نشان داده است. با کمک فناوری نانو، محققان اکنون می‌توانند از ابزارهای پیشرفته برای تشخیص تغییرات، انجام درمان‌های سلولی و مولکولی و ارائه درمان‌های هدفمند به ساختارهای سلولی خاص استفاده کنند (۱). به‌طور کلی سنتز نانوذرات با استفاده از روش‌های فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی یا سبز صورت می‌گیرد. سنتز فیزیکی نانوذرات با استفاده از تجهیزات گران‌قیمت، تمهیدات زیاد مورد نیاز جهت فراهم آوردن دما و فشار بالا و نیاز به فضای بزرگ جهت بهینه‌سازی دستگاه‌ها می‌باشد. در مقابل آن، روش سنتز شیمیایی با مداخله مواد شیمیایی سمی انجام می‌پذیرد که خطرات زیست‌محیطی و انسانی آن مورد اثبات قرار گرفته است (۲). در قیاس با روش‌های سنتزی فیزیکی و شیمیایی، روش سنتز سبز یک روش دوستدار محیط زیست، ساده، کم‌هزینه و ایمن است (۳). نانوذرات سنتز شده نیز به دلیل وجود مواد شیمیایی گیاهی از عصاره زیستی، خواص ضدباکتری، ضدقارچی، ضدسرطانی و ضدالتهابی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی و کاتالیزوری را نشان داده‌اند (۴). چاقی یک بیماری متابولیک مزمن است که ناشی از عدم تعادل انرژی است که منجر به تجمع بیش‌ازحد چربی در بدن می‌شود. در سال ۱۹۴۸، سازمان بهداشت جهانی (WHO) اشاره کرد که چاقی یک حالت بیماری است و در سال ۱۹۹۷ آن را به‌عنوان یک بیماری رسمی غدد درون‌ریز طبقه‌بندی کرد (۵). بسیاری از مطالعات نشان داده‌اند که چاقی ممکن است به دلیل ژنتیک، رژیم غذایی، محیط، سنت‌های زندگی و عوامل دیگر باشد و به‌عنوان یک عامل مستعد کننده برای بیماری کبد چرب غیرالکلی، دیابت و تصلب شرایین عمل می‌کند (۶). بنابراین، داروهای کاهش وزن ایمن و مؤثر برای درمان چاقی ضروری است. به‌عنوان درمان اصلی برای چاقی، درمان دارویی دارای سازگاری بالایی است و راحت‌تر و ایمن‌تر از درمان جراحی است. با این حال، برخی از داروها به دلیل عوارض جانبی غیر منتظره از بازار خارج شده‌اند، و از میان این داروها فقط اورلیستات به‌عنوان داروی بدون نسخه در کمک کاهش وزن استفاده می‌شود. اخیراً آزمایش‌های زیادی برای یافتن و توسعه داروهای ضدچاقی جدید دارای عوارض کم‌تر و کارایی بیش‌تر صورت گرفته است (۷). هیپرلیپیدمی افزایش بیش‌ازحد لیپیدها در جریان خون است که شامل کلسترول، استرهای کلسترول، تری‌گلیسیرید، فسفولیپیدها و اسیدهای چرب بوده و می‌تواند تا حد زیادی خطر حمله قلبی و سکته مغزی را در بیماران مبتلا افزایش دهد (۸). در میان نانوذرات فلزی مختلف، نانوذرات طلا به دلیل ویژگی‌های تشدید پلاسمون سطحی

منحصر به فرد، سنتز آسان، اندازه‌های قابل تنظیم و توانایی‌های چند منظوره با ویژگی‌های مشخص شده، توجه زیادی را به خود جلب کرده‌اند (۹). آن‌ها مواد نسبتاً بی‌ضرر، زیست سازگار و به‌طور کلی پایدار هستند. به دلیل شیمی سطحی کاملاً مشخص، نانو ذرات طلا می‌توانند به راحتی با مولکول‌های مختلف مانند پروتئین‌ها، رنگ‌ها، داروها، آنتی‌بادی‌ها، آنزیم‌ها و اسیدهای نوکلئیک کونژوگه شوند (۱۰). اسپیرولینا *Spirulina platensis* یکی از میکرو جلبک‌های دریایی پرکاربرد در بیوتکنولوژی تغذیه، داروسازی و پزشکی است. غنی‌ترین منبع طبیعی پروتئین‌های گیاهی، اسیدهای آمینه، ویتامین‌ها، اسیدهای چرب ضروری و سایر مواد مفید بیولوژیکی فعال در جهان است (۱۲). فرضیه‌های بسیار مهمی وجود دارد که زیست‌توده اسپیرولینا با نانو ذرات طلا پتانسیل زیادی برای کاربردهای پزشکی دارد (۱۳). اثرات کاهش چربی اسپیرولینا یا عصاره‌های آن در مدل‌های حیوانی مختلف از جمله موش، موش صحرایی، همستر و خرگوش ثابت شده است (۱۴). درمان با اسپیرولینا پلاتنسیس به دلیل وجود ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مانند فیکوسیانین‌ها و ترکیبات فنلی می‌تواند سطح لیپیدهای سرم را کاهش دهد (۱۵، ۱۶). تحقیقات پیشین نشان داده است که درمان با نانوذرات طلا می‌تواند متابولیسم لیپید را بهبود بخشد. در واقع، مشخص شده است که در موش‌هایی که از رژیم غذایی پرچرب تغذیه شده بودند، سطح HDL-C را افزایش می‌دهد و سطح چربی خون را کاهش می‌دهد (۱۷). مکانیسم بالقوه پشت اثر ضدهیپرلیپیدمیک نانوذرات طلا را می‌توان به توانایی آن‌ها در تحریک تولید انسولین در سلول‌های بتا پانکراس یا تقلید از اثرات انسولین از طریق ترکیبات فعال موجود نسبت داد (۱۸). لپتین هورمونی است که توسط بافت چربی تولید می‌شود و به‌عنوان حسگر توده چربی در بخشی از یک حلقه بازخورد منفی عمل می‌کند که نقطه تنظیم ذخیره چربی بدن را حفظ می‌کند (۱۹)، به‌طوری‌که افزایش چربی باعث افزایش تولید لپتین و در نتیجه مهار دریافت غذا می‌شود (۲۰). هورمون لپتین برای حفظ هموستاز انرژی بدن بسیار ضروری است و در بسیاری از فرایندهای بیولوژیکی از جمله ارتباط مستقیم با افزایش و کاهش سلول‌های چربی نقش دارد. تحقیقات پیشین، تأثیر مثبت نانو ذرات طلا را در کاهش سطح سرمی لپتین گزارش داده‌اند (۲۱). مهم‌تر از آن، اثر مفید میکرو جلبک دریایی اسپیرولینا از طریق مهار ترشح لپتین و بهبود مقاومت به لپتین گزارش شده است (۲۲). این تحقیق باهدف سنتز سبز نانو ذرات طلا با میکرو جلبک دریایی اسپیرولینا پلاتنسیس خلیج فارس و اثر آن بر سطح سرمی پروفایل لیپیدی و هورمون لپتین در مدل رت نژاد ویستار (تغذیه شده با غذای پرچرب) صورت گرفته است. با توجه به اهمیت بسیار زیاد نانو ذرات طلا در تحقیقات پزشکی نوین و کاربرد فراوان میکرو جلبک دریایی

بیوسنتزی همراه می باشد (۲۶). شدت رنگ گیلاسی با اندازه گیری جذب محلول در طول موجی بین ۱۹۰ تا ۱۱۰۰ نانومتر با استفاده از طیف سنج (UV/Vis (SPECORD 250 PLUS-Germany، بررسی شد (۲۷). پراش اشعه ایکس (XRD). اندازه گیری آنالیز پراش اشعه ایکس زیست توده اسپیرولینا پلاتنسیس در پراش سنج Dron-2.0 انجام شد. لوله اشعه ایکس BCV-23 با آند مس ($\text{CuK}\alpha: \lambda = 1.54178 \text{ \AA}$) به عنوان منبع تابش استفاده شد. شبکه Ni با عرض 20° برای فیلتراسیون تابش استفاده شد. سرعت آشکارساز دو درجه در دقیقه، فاصله شدت ۱۰۰۰ پالس در دقیقه و ثابت زمانی پنج ثانیه بود. به منظور ارزیابی اندازه و شکل نانو ذرات سنتز شده، توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی (FEI QUANTA-200 SEM) مورد بررسی قرار گرفت. این تکنیک با استفاده از SDB (پرتو دوگانه کوچک) FEI Quanta 3D FEG با سیستم ED A X Genesis با وضوح $1/2$ نانومتر انجام شد.

ویژگی های عملیاتی میکروسکوپ مورد استفاده در آزمایش:
بزرگ نمایی ۵۰۰۰-۱۵۰۰۰x. ولتاژ ۱-۳۰ کیلوولت بوده است (۲۸). ماهیت کریستالی نانوذرات تشکیل شده با تجزیه و تحلیل پراش اشعه ایکس با استفاده از دستگاه MPD فیلیپس X'PERT (هلند) مجهز به منبع $\text{Cu K}\alpha \lambda = 1.5406 \text{ \AA}$ مشخص شد. شرایط عملیاتی بر روی ولتاژ چهل کیلوولت و جریان سی میلی آمپر تنظیم شد. اسکن در محدوده مقادیر ۵-۸۰ درجه انجام شد. آنالیز نمونه در مرکز پژوهشی متالورژی رازی تهران انجام گردید (۲۹). گروه های عاملی مختلف مربوط به مولکول ها یا متابولیت های خاص در عصاره آبی اسپیرولینا و نقش آن ها در کاهش و تثبیت نانو ذرات تشکیل شده، با استفاده از تبدیل فوریه فروسرخ (FT-IR) ارزیابی شد. در این روش، ده میلی گرم پودر نانو ذرات سنتز شده، به خوبی با پتاسیم برمید مخلوط شد، به طور کامل خشک شد و فشرده شد تا یک دیسک پتاسیم برمید بارگذاری شده تشکیل شود. طیف ها با استفاده از اسپکتروفتومتری (FT-IR JASCO-Japan، FT-IR Spectroscopy، FTIR-6300) به دست آمد (۳۰).

گروه های مورد مطالعه: در ادامه این تحقیق، بررسی تأثیر نانو ذرات بیوسنتز شده توسط ریز جلبک *Spirulina platensis* بر سطح سرمی لپتین و پروفایل لیپیدی در مدل رت نژاد ویستار انجام شد. این مطالعه براساس دستورالعمل های مصوب کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان با کد اخلاقی IR.HUMS.REC.1400.379 انجام شد و کلیه موارد اخلاقی مربوط به کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت شد. سی موش صحرایی نر ویستار تهیه شده توسط انستیتو پاستور ایران، چهار ماهه، با میانگین وزن بدن 250 ± 20 گرم، با چرخه

اسپیروولینا در داروسازی، بررسی میزان تأثیر آنان بر فاکتورهای مؤثره بر بیماری های قلبی عروقی در شرایط درون تنی، بسیار ضروری می نماید. امید است که تحقیق مورد نظر، اهمیت موجودات و آبزیان دریایی را در زیست پزشکی نوین، بیش از پیش نشان دهد.

مواد و روش ها

پودر میکرو جلبک *Spirulina platensis* گونه خلیج فارس، از شرکت اسپرو-مرکز پرورش جلبک های دریایی بوشهر، تهیه گردید. محلول آبی HAuCl_4 (کلروآورات طلا) از شرکت شریف سولار دانشگاه صنعتی شریف تهران خریداری شد.

تهیه عصاره آبی از اسپیرولینا پلاتنسیس: برای تهیه عصاره آبی اسپیرولینا پلاتنسیس، ابتدا یک گرم از پودر اسپیرولینا را وزن کرده و در صد میلی لیتر آب دیونیزه به دقت حل کرده و محلول بر روی هات پلیت مگنت آزمایشگاهی تحت حرارت ملایم به مدت سی دقیقه قرار داده شد. سپس محلول در دمای اتاق خنک گردیده و با استفاده از کاغذ صافی واتمن یک فیلتر شد. محلول فیلتر شده اسپیرولینا، به منظور حذف ناخالصی های نهایی، به مدت ده دقیقه با 4000° دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید و مایع رویی به دقت برداشته شد و در دمای یخچال به میزان چهار درجه سانتی گراد به منظور استفاده روزانه برای عمل بیوسنتز، نگهداری گردید (۲۳، ۲۴).

بیوسنتز نانوذرات طلا و تعیین خصوصیات نانوذرات: سنتز نانوذرات طلا با استفاده از عصاره آبی حاصل از میکرو جلبک اسپیرولینا استفاده شد. به منظور بیوسنتز نانو ذرات طلا توسط عصاره میکرو جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس، ده میلی لیتر از محلول آبی HAuCl_4 (کلروآورات طلا) (سیگما آلد ریچ) با غلظت 10^{-3} مولار به بیست و پنج میلی لیتر عصاره جلبکی اضافه گردید و در سه بازه زمانی ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت مورد بررسی و مطالعه قرار گرفت (۲۵). محلول های حاوی نانو ذرات طلا درون انکوباتور شیکر دار قرار داده شد و دما و زمان لازم تنظیم گردید. بعد از انجام عمل انکوباتور، لوله های حاوی نانو ذرات با دور 14000° دور و به مدت پانزده دقیقه، به منظور حذف هر گونه ناخالصی سانتریفیوژ گردیده و این عمل دو بار تکرار شد. در طی این زمان های سه گانه تشکیل ماده بیوسنتز شده با تست UV-Vis مرتب مورد بررسی قرار گرفت. هم چنین تغییر رنگ محصول نیز بررسی شد. محلول بیوسنتز شده با دور 12000° به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد و ماده خالص بیوسنتز شده ابتدا در فریز درایز خشک خواهد شد و در ادامه برای تست های FESEM- FIIR-XRD برای اطمینان از سنتز صحیح مورد مطالعه نهایی قرار گرفت. تشخیص اولیه تشکیل نانوذرات طلا در ابتدا با مشاهده تغییر رنگ ماده

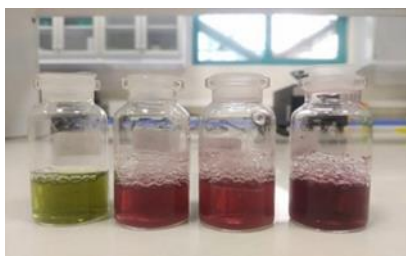
سطح سرمی لپتین به پژوهشکده هیستونوتک تهران منتقل شد و تحت ارزیابی قرار گرفت.

آنالیز بیوشیمیایی سرم: در این مطالعه، از دستگاه الیزا ریدر Biotek-reflex800 (کشور سازنده: آمریکا) برای ارزیابی سطح سرمی کلسترول تام، تری گلیسیرید، HDL و LDL استفاده شد. نمونه‌های بافت هموئیزه و سانتریفیوژ شدند تا مایع رویی برای آنالیز بعدی به دست آید. برای آنالیز سرم، نمونه خون اجازه لخته شدن داده شد و پس از سانتریفیوژ، مایع رویی جدا شد. روش الیزا شامل افزودن نمونه‌ها و استانداردها به چاهک‌های جداگانه و به دنبال آن استرپتاویدین HRP و آنتی‌بادی‌ها به چاهک‌های نمونه بود. پلیت انکوبه شد، شسته شد و محلول‌های کروموزن A و B به صورت متوالی اضافه شدند. پس از انکوباسیون و افزودن محلول توقف، جذب نوری در طول موج ۴۵۰ نانومتر با استفاده از دستگاه الیزا ریدر اندازه‌گیری شد. داده‌های به دست آمده برای ایجاد یک منحنی استاندارد، برای تسهیل محاسبه مقادیر نمونه استفاده شد. برای آنالیز بیوشیمیایی سرم و تعیین سطح سرمی لپتین، نمونه‌های پلاسما به پژوهشکده هیستونوتک تهران ارسال گردید و با استفاده از روش الیزا، خوانش صورت پذیرفت.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها: مقایسه میانگین داده‌های بین تیمارهای آزمایشی انحراف معیار $\pm$ میانگین با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه way-One ANOVA و نرم‌افزار Microsoft Excel 2013 صورت پذیرفت.

نتایج

آنالیز طیف‌سنجی UV-vis: طبق آنالیز طیف‌سنجی، پس از اضافه کرده محلول کلروآرات طلا در ابتدای واکنش، تغییر رنگ محلول در نتیجه احیای یون طلا است که این تغییر از سبز به رنگ آلبالویی به وضوح قابل مشاهده بود (شکل ۱). فرآیند سنتز نانو ذرات طلا در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد و در سه بازه زمانی ۲۴-۴۸ و ۷۲ ساعت مورد بررسی قرار گرفت و در هر سه بازه زمانی، سنتز بهینه صورت پذیرفت (شکل ۲).

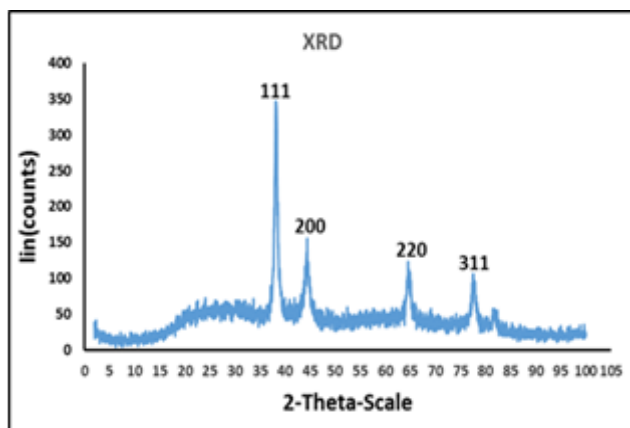


شکل ۱: تغییر رنگ محلول در خاتمه واکنش از سبز به آلبالویی

طبیعی ۱۲ ساعت روشنایی/ ۱۲ ساعت تاریکی در دمای استاندارد و رطوبت 50 ± 10 در اتاق تهویه شده با دسترسی آزادانه به غذا و آب نگه‌داری شدند. یک رژیم غذایی غنی از چربی استاندارد شده، بیست گرم در صد گرم وزن بدن در روز توسط گاواژ، برای کل مدت آزمایش استفاده شد و منجر به ۴۵٪ سطح انرژی اضافی شد. بر اساس اطلاعات سازنده، مواد تشکیل‌دهنده جیره عبارت بودند از: کازئین، آل سیستین، نشاسته ذرت، مالتودکستین، سلولز، روغن سویا، چربی گوسفند، کولین، پیش میکس ویتامین و مواد معدنی، کربنات کلسیم، نمک، مونوکلسیم فسفات، هیدروکسی تولوئن. بوتیل و رنگ. این رژیم دارای ارزش کالری ۴/۸۳ کیلوکالری بر گرم و حاوی ۲۳/۸ درصد پروتئین خام، ۲۱/۶ درصد چربی خام و ۹/۹۵ درصد فیبر خام بود. این رژیم غذایی توسط موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی (ایران) تهیه شده است. موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار به‌طور تصادفی به پنج گروه (هر گروه ۶ موش صحرایی رت) شامل یک گروه کنترل و پنج گروه آزمایش تقسیم شدند. دارو بین ۷ صبح تا ۸ صبح، ۰/۵ میلی‌لیتر در روز، با گاواژ لوله معده تجویز شد. طول دوره آزمایش چهار ماه بوده است. گروه‌های مورد مطالعه به شرح زیر تقسیم شدند: موش‌های گروه ۱ (گروه کنترل) در طول آزمایش‌ها با غذای پلت استاندارد، نرمال سالین ۰/۹ درصد با گاواژ لوله معده تغذیه شدند. گروه ۲ (گروه مدل) موش با رژیم غذایی پرچرب با گاواژ لوله معده و بدون هیچ درمان دیگری تغذیه شدند. گروه ۳ به همراه رژیم غذایی پرچرب، ۰/۵ میلی‌لیتر Au-Sp (نانو ذرات بیوسنتز شده توسط میکرو جلبک اسپیرولینا)، (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) شاخص توده بدن که به‌عنوان دوز پایین در نظر گرفته می‌شود، با گاواژ لوله معده تغذیه شدند. گروه ۴ به همراه رژیم غذایی پرچرب، ۰/۵ میلی‌لیتر Au-Sp (نانوذرات بیوسنتز شده توسط میکرو جلبک اسپیرولینا، ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) شاخص توده بدن که به‌عنوان دوز بالا در نظر گرفته می‌شود، با گاواژ لوله معده تغذیه شدند. گروه ۵ به همراه رژیم غذایی پرچرب، ۰/۵ میلی‌لیتر اسپیرولینا پلاتنسیس (۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، شاخص توده بدنی با گاواژ لوله معده تغذیه شدند. پس از قربانی کردن حیوانات، نمونه‌های خون در ظروف هیپارینه شده جمع‌آوری شد و پلاسما برای تخمین‌های مختلف بیوشیمیایی استخراج شد. با بی‌هوشی خفیف با استفاده از کتامین ۱۰٪ (۵ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم وزن) و زایلازین هیدروکسی کلراید ۲٪ (۱۰۰ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم وزن) از شبکه رترواوربیتال موش‌ها، خون روی لوله‌های K3EDTA گرفته شد، در ۶۵۰۰ دور به مدت ده دقیقه سانتریفیوژ شد و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد تا تجزیه و تحلیل بیوشیمیایی نگه‌داری گردید. نمونه پلاسما برای تخمین

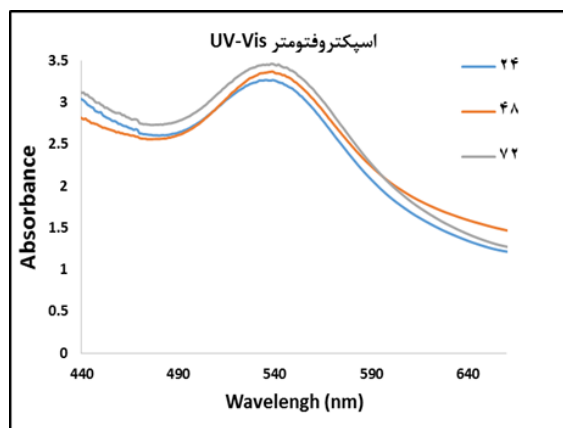
C=C حلقه‌های آروماتیک می‌باشد. نوسانات کششی 1450 cm^{-1} ممکن است به ارتعاش کششی متقارن گروه‌های $\text{-COO}^\bullet$ (یون کربوکسیلات) از باقی‌مانده‌های اسیدآمینه با اسیدهای کربوکسیلیک آزاد در مولکول پروتئین اختصاص داده شود. داده‌های طیفی منقار جذب کششی C-H، C-O، C-Br را به ترتیب در 1057 ، 1392 ، 1450 و 1652 cm^{-1} ثبت کردند که مربوط به هیدروکربن، اسیدهای کربوکسیلیک و آلکی هالیدها است.

آنالیز پراش اشعه ایکس (XRD): تجزیه و تحلیل ساختاری نانو ذرات بیوسنتز شده توسط XRD انجام شد. نتایج حاصل از آزمون، تشکیل نانوذرات طلا توسط اسپیرولینا پلاتنسیس را ثابت کرد. الگوی XRD نانوذرات طلا پیک‌هایی را در نواحی $38/24$ ، $44/2$ ، $64/6$ و 77 را نشان می‌دهد. آنالیز ساختاری نشان داد که نانو ذرات تهیه شده به وسیله سنتز سبز با شاخص‌های میلر 111 ، 200 ، 220 و 311 با صفحه‌های فاز مکعبی استاندارد Au مطابقت دارد (شکل ۴).
میکروسکوپ الکترونی روبشی (FESEM): شکل ۵، میکروسکوپ الکترونی روبشی از نانوذرات بیوسنتز شده توسط میکروجلبک اسپیرولینا را نشان می‌دهد. همان‌طور که از تصویر ثبت شده مشخص است، نانو ذرات طلای بیوسنتز شده از نظر ظاهری دارای شکلی کروی و مرز بین نانوذرات قابل تمایز بوده است. هم‌چنین اندازه این ذرات بین 22 تا 31 نانومتر است که برای مصارف پزشکی بسیار مناسب می‌باشد. نانوذرات بیوسنتز شده در مقیاس نانومتریک بودند (شکل ۵).



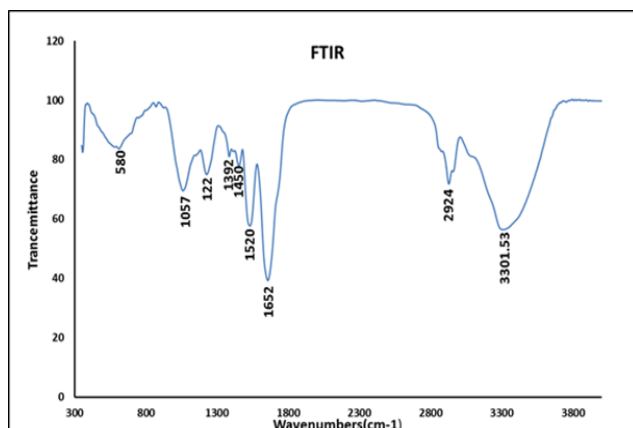
شکل ۴: پراش پرتو ایکس نانو ذرات بیوسنتز شده توسط میکروجلبک اسپیرولینا پلاتنسیس

می‌دهد سطوح بالای کلسترول و LDL سرم با افزایش خطر ابتلا به بیماری عروق کرونر مرتبط است (۴۷). تفاوت معنی‌داری در سطوح لیپید در بین گروه‌های مورد مطالعه مشاهده شد. سطوح تری گلیسیرید،



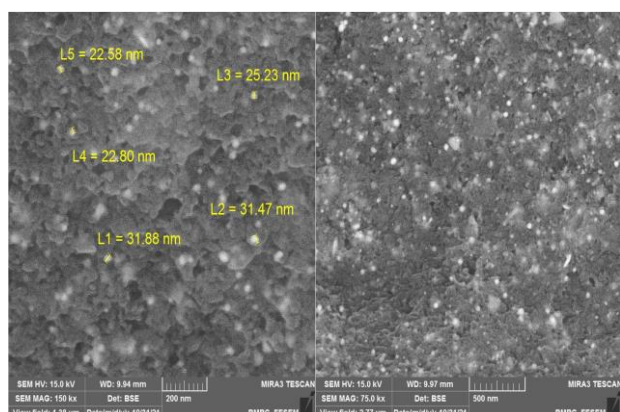
شکل ۲: سنتز نانو ذرات طلا در سه بازه زمانی ۲۴-۴۸ و ۷۲ ساعت در دمای 40°C درجه سانتی‌گراد

آنالیز طیف‌سنجی تبدیل فوریه فروسرخ (FTIR): برای بررسی ماهیت بیومولکول‌های احیاکننده در تشکیل نانوذرات طلا از آنالیز FTIR استفاده گردید. این آنالیز باندهایی را نشان می‌دهد که این باندها هرکدام متعلق به گروه‌های عاملی خاصی می‌باشد. همان‌طور که در شکل ۳ مشاهده می‌گردد جذب قوی را در 3301 قرار دارد که مربوط به ارتعاشات کششی گروه هیدروکسیل (O-H) ناشی از گروه‌های عاملی الکلی و فنلی موجود در سطح نانوذرات طلا است. باند 2924 می‌تواند مربوط به نوسانات کششی زنجیره‌های هیدروکربنی (C-H) یا نوسانات کششی (N-H) در آمیدها و آمین‌ها باشد. هم‌چنین اوج جذب خمشی آمین N-H متوسط دیگری در موج شماره 1652 cm^{-1} ظاهر گردید. باند 1520 نیز مربوط به گروه



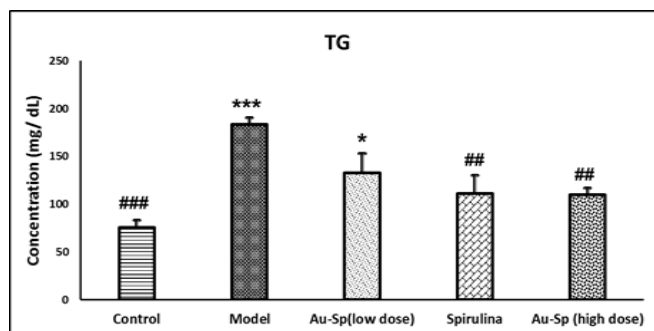
شکل ۳: نتایج FTIR سنتز نانوذرات طلا با عصاره میکروجلبک اسپیرولینا

پروفایل لیپیدی: HDL به حذف کلسترول اضافی از بافت‌های خارج از کبد کمک می‌کند و کاهش غلظت HDL با افزایش سطح کلسترول در بدن مرتبط است. شواهدی وجود دارد که نشان



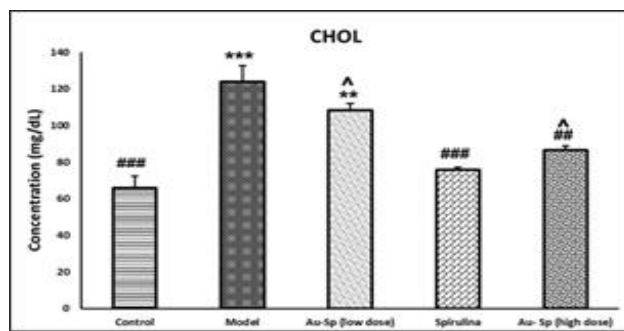
شکل ۵: تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی FSEM از نانو ذرات بیوسنتز شده توسط میکرو جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس

کلسترول (CHOL) و لیپوپروتئین با چگالی کم (LDL) در موش‌های صحرایی تیمار نشده که از رژیم غذایی پرچرب تغذیه شده بودند در مقایسه با گروه کنترل به‌طور قابل‌توجهی افزایش یافت ($p < 0.001$). با این حال، این سطوح به‌طور قابل‌توجهی در گروه‌های تحت درمان در مقایسه با گروه رژیم غذایی پرچرب کاهش یافت ($p < 0.001$). $p < 0.05$ ، $p < 0.01$ تجویز Au-Sp و اسپیرولینا به‌طور قابل‌توجهی سطوح تری‌گلیسیرید، کلسترول و LDL را در مقایسه با گروه HFD (مدل) کاهش داد. علاوه بر این، سطح HDL را در مقایسه با گروه مدل به‌طور قابل‌توجهی افزایش یافت. گروه تحت درمان با دوز بالا Au-Sp و *Spirulina platensis* کاهش قابل‌توجهی در سطح کلسترول نشان دادند (به ترتیب $p < 0.01$ و $p < 0.001$).



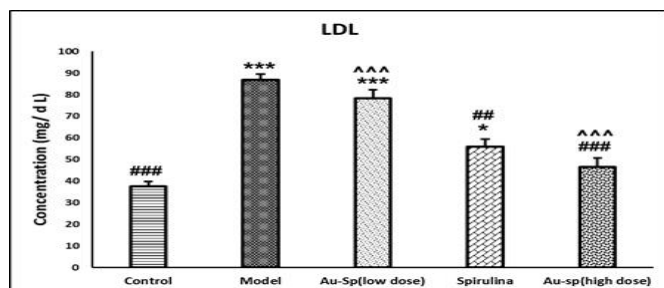
شکل ۷: سطح سرمی تری‌گلیسیرید در گروه‌های مورد آزمایش. گروه کنترل (موش‌ها با غذای پلت استاندارد تغذیه شدند). گروه مدل (موش‌ها با غذای پرچرب و بدون هیچ‌گونه درمانی تغذیه شدند). گروه اسپیرولینا و گروه‌های نانو ذرات بیوسنتز شده (در دو دوز بالا و پایین).

*** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$ در مقایسه با گروه کنترل. # $p < 0.05$, ## $p < 0.01$, ### $p < 0.001$ در مقایسه با گروه مدل. ^ $p < 0.05$, ^^ $p < 0.01$, ^^ $p < 0.001$ در مقایسه با دو گروه نانو ذرات بیوسنتزی در دو دوز بالا و پایین. نمودارها نشان‌دهنده میانگین $\pm$ انحراف معیار استاندارد SEM $\pm$ Mean می‌باشد ($n=6$).



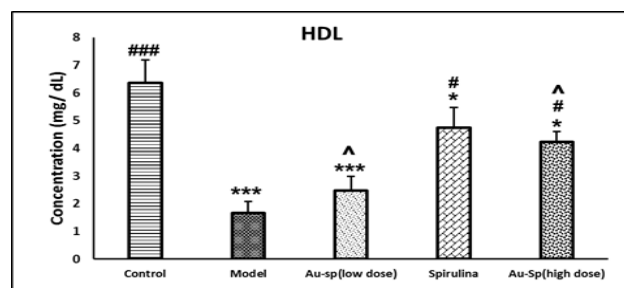
شکل ۶: سطح سرمی کلسترول در گروه‌های مورد آزمایش. گروه کنترل (موش‌ها با غذای پلت استاندارد تغذیه شدند). گروه مدل (موش‌ها با غذای پرچرب و بدون هیچ‌گونه درمانی تغذیه شدند). گروه اسپیرولینا و گروه‌های نانو ذرات بیوسنتز شده (در دو دوز بالا و پایین).

*** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$ در مقایسه با گروه کنترل. # $p < 0.05$, ## $p < 0.01$, ### $p < 0.001$ در مقایسه با گروه مدل. ^ $p < 0.05$, ^^ $p < 0.01$, ^^ $p < 0.001$ در مقایسه با دو گروه نانو ذرات بیوسنتزی در دو دوز بالا و پایین. نمودارها نشان‌دهنده میانگین $\pm$ انحراف معیار استاندارد SEM $\pm$ Mean می‌باشد ($n=6$).



شکل ۹: سطح سرمی LDL در گروه‌های مورد مطالعه. گروه مدل (موش‌ها با غذای پرچرب و بدون هیچ‌گونه درمانی تغذیه شدند). گروه اسپیرولینا و گروه‌های نانو ذرات بیوسنتز شده (در دو دوز بالا و پایین).

*** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$ در مقایسه با گروه کنترل. # $p < 0.05$, ## $p < 0.01$, ### $p < 0.001$ در مقایسه با گروه مدل. ^ $p < 0.05$, ^^ $p < 0.01$, ^^ $p < 0.001$ در مقایسه با دو گروه نانو ذرات بیوسنتزی در دو دوز بالا و پایین. نمودارها نشان‌دهنده میانگین $\pm$ انحراف معیار استاندارد SEM $\pm$ Mean می‌باشد ($n=6$).



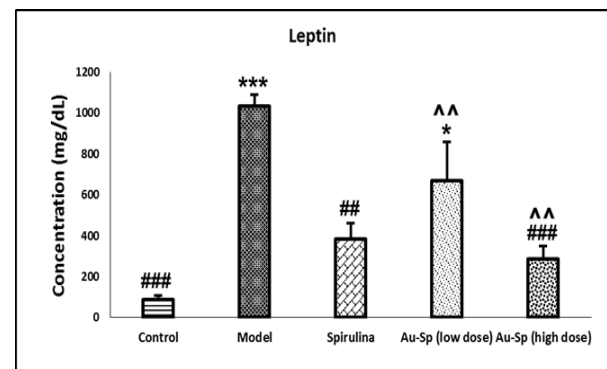
شکل ۸: سطح سرمی HDL در گروه‌های مورد مطالعه. گروه مدل (موش‌ها با غذای پرچرب و بدون هیچ‌گونه درمانی تغذیه شدند). گروه اسپیرولینا و گروه‌های نانو ذرات بیوسنتز شده (در دو دوز بالا و پایین).

*** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$ در مقایسه با گروه کنترل. # $p < 0.05$, ## $p < 0.01$, ### $p < 0.001$ در مقایسه با گروه مدل. ^ $p < 0.05$, ^^ $p < 0.01$, ^^ $p < 0.001$ در مقایسه با دو گروه نانو ذرات بیوسنتزی در دو دوز بالا و پایین. نمودارها نشان‌دهنده میانگین $\pm$ انحراف معیار استاندارد SEM $\pm$ Mean می‌باشد ($n=6$).

۵۵۰-۵۳۰ نانومتر، نانوذرات سنتز شده قرار دارند (شکل ۲). بیوسنتز طلا در دمای ۴۰ درجه سانتیگراد صورت پذیرفت. رنگ تمام مخلوط‌های واکنش آزمایشی از سبز به قرمز روشن و سپس به رنگ آلبالویی تیره تغییر پیدا کرد و آزمایشات نشان دادند که این تغییر رنگ به مقدار و غلظت عصاره میکروجلبک اسپیرولینا بستگی دارد (شکل ۱). از آنجایی که طول موج پیک در طول واکنش جابجا نشد، می‌توانیم غلظت نانو ذرات طلا و در نتیجه تبدیل آن را با اندازه‌گیری جذب در ۵۴۰ نانومتر به صورت کمی کنترل کنیم (۳۳). مطالعات نشان می‌دهد که با کاهش نسبت یون‌های فلزی به عصاره حجمی، کاهش قابل توجهی در جذب رزونانس پلاسمون سطحی نانو ذرات مشاهده می‌شود (۳۴). در بیش‌تر موارد، سنتز نانوذرات با استفاده از فناوری سبز نیاز به دمای کم‌تر از ۱۰۰ درجه سانتیگراد یا دمای محیط دارد و این دما ماهیت نانو ذرات تشکیل‌شده را تعیین می‌کند (۳۵). بدیهی است که در سنتز نانو ذرات با افزایش دما تا دمای معین و افزایش مقدار نانو ذرات سنتز شده، احتمال چسبیدن نانو ذرات به یکدیگر افزایش یافته و تعداد بیش‌تری از ابعاد نانومتری خارج خواهند شد. در نتیجه، جذب نانوذرات طلا در طول موج موردنظر (۵۵۰-۵۰۰ نانومتر) کاهش می‌یابد (۳۶). در تحقیق حاضر، نقش دمای واکنش در بیوسنتز نانوذرات طلا نشان داد که افزایش دما تا ۴۰ درجه سانتیگراد بیش‌ترین تأثیر را بر سنتز بهینه نانوذرات طلا دارد (شکل ۲). Song و همکاران، بیان کردند که حداکثر جذب نانوذرات طلا در محدوده ۵۴۰ نانومتر است که دقیقاً منطبق بر مطالعات ما بوده است (۳۷). نانو ذرات طلا که با روش‌های شیمیایی سنتز می‌شوند، عموماً کروی هستند و نانو ساختارهایی با مورفولوژی مثلثی نادر هستند که در مطالعات ما صحت این مورد تأیید شد (شکل ۶). استفاده از غلظت کم عصاره در واکنش با HAuCl_4 منجر به تشکیل نانو ذرات طلای شش‌ضلعی یا مثلثی می‌شود، درحالی که شکل نانو ذرات با افزایش غلظت عصاره به کروی تغییر می‌کند. کنترل شکل و اندازه نانوذرات فلزی، امکان تنظیم خواص نوری، الکترونیکی، مغناطیسی و کاتالیزوری آن‌ها را فراهم می‌کند. گزارش شده است که شکل و اندازه نانوذرات سنتز شده با استفاده از عصاره‌های گیاهی را می‌توان با روش‌های شیمیایی و فیزیکی کنترل کرد (۳۸). همان‌طور که در شکل ۵ مشخص است، تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی از نانو ذرات بیوسنتز شده نشان داد که اندازه این نانو ذرات ۲۲-۳۰ نانومتر است و شکل آن‌ها کروی است. این یافته مشابه نتایجی است که توسط Annamalai و همکاران گزارش شده است (۳۹). تجزیه و تحلیل ساختاری نانو ذرات طلای بیوسنتز شده توسط آنالیز پراش اشعه ایکس (XRD)، تشکیل نانوذرات طلا توسط اسپیرولینا پلاتنسیس را ثابت کرد (شکل ۴). الگوی آنالیز نانو ذرات طلا، پیک‌هایی را در

مقایسه اثر سطح سرمی لپتین: نانوذرات بیوسنتز شده از

طریق میکروجلبک *Spirulina platensis* در هر دو دوز و عصاره ریز جلبک، باعث کاهش سطح سرمی لپتین شدند. با توجه به نتایج، مشاهده شد که سطح سرمی لپتین در گروه مدل نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی‌داری دارد ($P < 0.001$). سطح لپتین گروه‌های تحت درمان به‌طور معنی‌داری کم‌تر از گروه مدل بود و با توجه به مطالعه حاضر، مشخص شد که سطح سرمی لپتین در گروه $\text{HFD} + \text{Au-Sp}$ (دوز بالا) تفاوت معنی‌داری با مدل دارد ($P < 0.001$). همچنین گروه $\text{HFD} + \text{Spirulina}$ نسبت به گروه مدل تفاوت معنی‌داری ($P < 0.001$) داشت. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده و مقایسه دو گروه $\text{HFD} + \text{Au-Sp}$ (دوز بالا) و $\text{HFD} + \text{Au-Sp}$ (دوز پایین)، مشخص شد که بین این دو گروه تفاوت معنی‌داری وجود دارد ($P < 0.001$). (شکل ۱۰).



شکل ۱۰: سطح سرمی لپتین در گروه‌های موش‌های صحرایی مورد آزمایش. گروه کنترل (موش‌ها با غذای پلت استاندارد تغذیه شدند). گروه مدل (موش‌ها با غذای پرچرب و بدون هیچ‌گونه درمانی تغذیه شدند). گروه اسپیرولینا و گروه‌های نانو ذرات بیوسنتز شده (در دو دوز بالا و پایین).

*** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$ ، # $p < 0.05$ ، ### $p < 0.001$ ، ## $p < 0.01$ ، ^ $p < 0.05$ ، ^^ $p < 0.01$ ، ^^ $p < 0.001$. در مقایسه با گروه کنترل. در مقایسه با گروه مدل. در مقایسه با دو گروه نانو ذرات بیوسنتزی در دو دوز بالا و پایین. نمودارها نشان‌دهنده میانگین $\pm$ انحراف معیار استاندارد $\text{SEM} \pm \text{Mean}$ می‌باشد ($n=6$).

بحث

بیوسنتز نانوذرات به‌عنوان یک رویکرد زیستی نوظهور به‌دلیل نیاز روزافزون به توسعه فن‌آوری‌های سازگار با محیط‌زیست در سنتز مواد موردتوجه قرار گرفته است (۳۱). در این تحقیق برای بیوسنتز نانوذرات طلا از میکروجلبک اسپیرولینا استفاده گردید. سلول‌های جلبکی نقش مهمی در سنتز سبز نانو ذرات دارند (۳۲). تجزیه و تحلیل داده‌های اسپکتروفتومتری مرئی تأیید کرد که در طول موج

نواحی ۳۸/۲۴، ۴۴/۲، ۶۴/۶ و ۷۷ نشان داد. آنالیز ساختاری نشان داد که نانوذرات تهیه شده به وسیله سنتز سبز با شاخص های میلر ۱۱۱، ۲۰۰، ۲۲۰ و ۳۱۱ بیان شده اند. نتیجه مطالعه حاضر، مشابه نتایج Deepak و همکاران بود و پیک های گزارش شده آن ها دقیقاً مطابق بر تحقیقات حاضر بود (۴۰). طبق آنالیز FTIR، نانوذرات طلا می توانند از طریق گروه های آمین آزاد یا گروه های کربوکسیلات موجود در پروتئین به پروتئین ها متصل شوند. وجود پیک شدید در حالت کشش C=O نشان دهنده وجود گروه های کربوکسیلیک در ماده متصل به نانوذرات طلا است. نانوذرات طلای سنتز شده در این تحقیق (شکل ۳)، از طریق گروه های عاملی O-H که به شدت در سطح نانوذرات طلا یافت می شوند یا N-H و C-H که به طور متوسط روی آن یافت می شوند به پروتئین ها متصل می شوند (۴۱). نتیجه کلی نشان داد که پروتئین یا نوع مشابهی از مولکول های زیستی روی سطح نانو ذرات پوشیده شده است. به خوبی ثابت شده است که پروتئین می تواند از طریق گروه های آمین یا گروه های سیستین موجود در آن به نانوذرات متصل شود و بنابراین احتمال تشکیل نانو ذرات با پروتئین متصل به سطح وجود دارد. با این حال، کاهش شدت نوار یا ناپدید شدن پیک در ۵۸۰ سانتی متر در نانوذرات نشان می دهد که گروه های عاملی شامل گروه های هیدروکسیل (OH-)، کربونیل (C=O) و آمین (NH-) سلول های جلبکی با یون های فلزی برای کاهش و تثبیت نانو ذرات طلا تعامل دارند. سلول های اسپیرولینا به دلیل وجود ترکیبات اولیه و ثانویه مانند آنزیم ها، پروتئین ها، ویتامین ها، فنل ها، فلاونوئیدها، کلروفیل و کاروتنوئیدها ممکن است به عنوان عوامل کاهش دهنده و تثبیت کننده عمل کنند. این ترکیبات به دلیل خواص آنتی اکسیدانی بسیار مهم هستند و می توانند در کاهش یون های طلا (III) و تبدیل آن ها به نانوذرات و هم چنین تثبیت آن ها نقش داشته باشند (۴۲). در مطالعه حاضر مشخص شد که نانو ذرات طلای سنتز شده توسط میکرو جلبک اسپیرولینا به طور قابل توجهی سطح کلسترول و تری گلیسیرید را در مقایسه با گروه مدل درمان نشده کاهش می دهد. نانوذرات طلا، تمایز سلول های بنیادی مزانشیمی را به جای سلول های چربی به استئوبلاست ها ارتقا می دهند. نانوذرت طلا با غشای سلولی تعامل می کنند و به پروتئین های سیتوپلاسمی متصل می شوند و باعث ایجاد استرس مکانیکی می شوند و مسیر سیگنالینگ پروتئین کیناز فعال شده با میتوزن p38(MAPK) را فعال می کنند. این فعال سازی منجر به بهبود پروفایل رونویسی استخوان زایی و نمایه رونویسی چربی زایی کاهش یافته می شود (۴۳). تحقیقات نشان داده است که ارتباط قوی بین غلظت لپتین سرم و درصد چربی بدن وجود دارد. با افزایش اندازه سلول های چربی به دلیل تجمع گلیسیرید، لپتین بیش تری سنتز می شود (۴۴). اگر

ذخایر چربی با روزه داری، رژیم غذایی یا لیپو دیستروپی کاهش یابد، سطح لپتین در خون نیز کاهش می یابد. این عامل باعث تحریک گرسنگی، سازگاری فیزیولوژیکی و کاهش مصرف انرژی برای بازگشت ذخایر چربی به حالت عادی می شود. کمبود لپتین باعث فقدان عملکرد آدیپوستات می شود. در نتیجه هیپر فازی شدید و کاهش مصرف انرژی باعث تجمع چربی می شود (۴۵). لپتین برای حفظ هموستاز انرژی بدن ضروری است و در انواع فرایندهای بیولوژیکی از جمله تقسیم و تکثیر سلولی، ایمنی و تومورزایی نقش دارد (۴۶). نتایج مطالعات Ansari و همکاران نشان داد که سطح سرمی لپتین در گروه دیابتی به طور قابل توجهی در مقایسه با حیوانات کنترل کاهش یافت (۴۷). نتایج به دست آمده توسط آن ها مشابه نتایج تحقیق حاضر بود (شکل ۱۱). در مطالعه مشابه دیگری Gao و همکاران، بیان کرد که درمان با نانوذرات طلای بیوسنتزی، به طور قابل توجهی باعث کاهش شاخص لپتین در موش های چاق ناشی از تغذیه با غذای پر چرب شد (۴۸). در مطالعات Li و همکاران بیان گردید که سطوح لپتین به طور قابل توجهی در موش های رژیم غذایی پر چرب افزایش یافت و هر دو درمان با دوز بالا و کم PC-AuNPs به طور قابل توجهی وضعیت لپتین را کاهش داد (۴۹). بررسی ها نشان می دهد که نتایج مطالعات آن ها مشابه با نتایج مطالعات ما بوده است. در تحقیق حاضر، Au-Sp (نانوذرات سنتز شده توسط میکرو جلبک اسپیرولینا) به طور مؤثر وضعیت هورمون های سیری لپتین را کاهش داد. این ممکن است به دلیل خاصیت ضد التهابی Au-Sp باشد. سلول های چربی ادیپو کین هایی مانند لپتین، آدیپونکتین، رزیستین و سیتوکین ها، یعنی اینترلوکین ۴، اینترلوکین ۶ و فاکتور نکروز تومور α ترشح می کنند که ایمنی را در افراد عادی تنظیم می کند (۵۰). نانوذرات طلا، در میان نانو مواد متمایز هستند زیرا ویژگی های ضد التهابی را از طریق مسیرهای مختلف نشان می دهند و به طور گسترده در درمان بیماری های التهابی استفاده می شوند و نتایج بسیار خوبی را نشان می دهند؛ بنابراین، استفاده از نانوذرات طلا برای درمان چاقی به دلیل حالت التهابی چاقی امیدوار کننده است (۵۱). در مطالعه ما هم چنین مشخص شد که عصاره ریز جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس در کاهش لپتین مؤثر است (شکل ۱۰). لپتین در حالت هایپر انسولینمی افزایش می یابد و با افزایش بیان پروکلژن-IL، تبدیل فاکتور رشد بتا ۱ و اکتین ماهیچه صاف بر فیبروز کبدی اثر می کند (۵۲). یک توضیح احتمالی برای این یافته این است که اسپیرولینا ممکن است ترشح لپتین را توسط چربی احشایی کاهش دهد یا مقاومت به لپتین را بهبود بخشد. در نتیجه گیری کلی، نانوذرات بیوسنتزی طلا در مقدار دوز بالا و میکرو جلبک اسپیرولینا به طور قابل توجهی سطوح تری گلیسیرید، کلسترول و LDL را در مقایسه با گروه مدل کاهش داد و نانو ذرات بیوسنتز

- antifungal properties. *Molecules*. 27(4): 1181. <https://doi.org/10.3390/molecules27041181>
10. **Amina, S.J. and Guo, B., 2020.** A review on the synthesis and functionalization of gold nanoparticles as a drug delivery vehicle. *International journal of nanomedicine*. 7:9823-57. doi:10.2147/IJN.S279094
11. **Bansal, S.A., Kumar, V., Karimi, J., Singh, A.P. and Kumar, S., 2020.** Role of gold nanoparticles in advanced biomedical applications. *Nanoscale Advances*. 2(9): 3764-3787.
12. **Doshi, H., Ray, A. and Kothari, I.L., 2007.** Bioremediation potential of live and dead *Spirulina*: spectroscopic, kinetics and SEM studies. *Biotechnology and Bioengineering*. 96(6): 1051-1063. <https://doi.org/10.1002/bit.21190>
13. **Kalabegishvili, T., Kirkesali, E. and Rcheulishvili, A., 2012.** Synthesis of gold nanoparticles by blue-green algae *Spirulina platensis*. *Frank Lab. of Neutron Physics*.
14. **Deng, R. and Chow, T.J., 2010.** Hypolipidemic, antioxidant, and antiinflammatory activities of microalgae *Spirulina*. *Cardiovascular therapeutics*. 28(4): 33-45. <https://doi.org/10.1111/j.1755-5922.2010.00200.x>
15. **Balasubramanian, V., Swetha, B. and Md Gayasuddin, S.S., 2013.** Antiobesity activity of spirulina platensis in high fat diet induced rats. *International Journal of Pharmacological Screening Methods*. 3(1): 1-5. <https://doi.org/10.1111/j.1755-5922.2010.00200.x>
16. **Hussein, M.M., Samy, M., Arisha, A.H., Saadeldin, I.M. and Alshammari, G.M., 2020.** Anti-obesity effects of individual or combination treatment with *Spirulina platensis* and green coffee bean aqueous extracts in high fat diet-induced obese rats. *All Life*. 13(1): 328-338. <https://doi.org/10.1080/26895293.2020.1781698>
17. **Chen, H., Ng, J.P., Bishop, D.P., Milthorpe, B.K., Valenzuela, S.M., 2018.** Gold nanoparticles as cell regulators: beneficial effects of gold nanoparticles on the metabolic profile of mice with pre-existing obesity. *Journal of nanobiotechnology*. 16: 1-3. <https://doi.org/10.1186/s12951-018-0414-6>
18. **Shigematsu, N., Asano, R., Shimosaka, M. and Okazaki, M., 2001.** Effect of administration with the extract of *Gymnema sylvestre* R. Br leaves on lipid metabolism in rats. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 24(6): 713-717.
19. **Charan, V.S., 2016.** Leptin in Obesity-A Review. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 8(6): 428.
20. **Oswal, A. and Yeo, G., 2010.** Leptin and the control of body weight: a review of its diverse central targets, signaling mechanisms, and role in the pathogenesis of obesity. *Obesity*. 18(2): 221. doi:10.1038/oby.2009.228
21. **Li, W., Wan, H., Yan, S., Yan, Z., Chen, Y., Guo, P., Ramesh, T., Cui, Y. and Ning, L., 2020.** Gold nanoparticles synthesized with *Poria cocos* modulates the anti-obesity parameters in high-fat diet and streptozotocin induced obese diabetes rat model. *Arabian Journal of Chemistry*. 13(7): 5966-5977. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2020.04.031>
22. **Fujimoto, M., Tsuneyama, K., Fujimoto, T., Selmi, C., Gershwin, M.E. and Shimada, Y., 2012.** *Spirulina* improves non-alcoholic steatohepatitis, visceral fat macrophage aggregation, and serum leptin in a mouse model of metabolic syndrome. *Digestive and liver disease*. 44(9): 767-774. <https://doi.org/10.1016/j.jld.2012.02.002>
23. **Doman, K.M., Gharieb, M.M., Abd El-Monem, A.M. and Morsi, H.H., 2023.** Synthesis of silver and copper nanoparticle using *Spirulina platensis* and evaluation of their anticancer activity. *International Journal of Environmental Health Research*. 7: 1-3. <https://doi.org/10.1080/09603123.2022.2163987>
24. **Sinha, S.N., Paul, D., Halder, N., Sengupta, D. and Patra, S.K., 2015.** Green synthesis of silver nanoparticles using fresh water green alga *Pithophora oedogonia* (Mont.) Wittrock and evaluation of their antibacterial activity. *Applied Nanoscience*. 5: 703-709. <https://doi.org/10.1007/s13204-014-0366-6>
25. **Aljohani, F.S., Hamed, M.T., Bakr, B.A., Shahin, Y.H., Abu-Serie, M.M., Awaad, A.K., El-Kady, H. and Elwakil, B.H., 2022.** In vivo bio-distribution and acute

شده از طریق میکروجلبک اسپیرولینا پلاتنسیس در هر دو دوز و عصاره ریزجلبک، باعث کاهش سطح سرمی لیپتین شدند. بنابراین، سنتز سبز نانوذرات طلا توسط اسپیرولینا پلاتنسیس، این محصول را برای مصارف پزشکی در موقعیت ایده آل قرار می دهد.

تشکر و قدردانی

این مقاله از پایان نامه دوره دکتری مصوب و دفاع شده در دانشگاه هرمزگان استخراج شده است. بدین وسیله، از کلیه اساتید محترم راهنما و مشاور، اساتید و پرسنل محترم دانشکده فناوری های نوین دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، کارکنان آزمایشگاه جامع علوم پزشکی اصفهان و شرکت دانش بنیان هیستونوتک تهران که همکاری و دلسوزی لازم را در انجام و ارتقای کیفی این پژوهش یاری داده اند، صمیمانه تشکر می گردد.

منابع

1. **Bednarski, M., Dudek, M., Knutelska, J., Nowiński, L., Sapa, J., Zygmunt, M., Nowak, G., Luty-Blocho, M., Wojnicki, M., Fitzner, K. and Tęsiński, M., 2015.** The influence of the route of administration of gold nanoparticles on their tissue distribution and basic biochemical parameters: in vivo studies. *Pharmacological Reports*. 67(3): 405-409. <https://doi.org/10.1016/j.pharep.2014.10.019>
2. **Dananjaya, S.H., Thao, N.T., Wijerathna, H.M., Lee, J., Edussuriya, M., Choi, D. and Kumar, R.S., 2020.** In vitro and in vivo anticandidal efficacy of green synthesized gold nanoparticles using *Spirulina maxima* polysaccharide. *Process Biochemistry*. 92: 138-148. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2020.03.003>
3. **Abdel-Raouf, N., Al-Enazi, N.M. and Ibraheem, I.B., 2017.** Green biosynthesis of gold nanoparticles using *Galaxaura elongata* and characterization of their antibacterial activity. *Arabian Journal of Chemistry*. 10: 3029-3039. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2013.11.044>
4. **Santhosh, P.B., Genova, J. and Chamati, H., 2022.** Green synthesis of gold nanoparticles: An eco-friendly approach. *Chemistry*. 4(2): 345-369.
5. **WHO. 2000.** Obesity: Preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. *World Health Organ. Tech. Rep. Ser.* 894: 1-253.
6. **Lee, S.O., Simons, A.L., Murphy, P.A. and Hendrich, S., 2005.** Soyasaponins lowered plasma cholesterol and increased fecal bile acids in female golden Syrian hamsters. *Experimental Biology and Medicine*. 230(7): 472-478. <https://doi.org/10.1177/153537020523000705>
7. **Hussein, M.M., Samy, M., Arisha, A.H., Saadeldin, I.M. and Alshammari, G.M., 2020.** Anti-obesity effects of individual or combination treatment with *Spirulina platensis* and green coffee bean aqueous extracts in high fat diet-induced obese rats. *All Life*. 13(1): 328-338.
8. **Jain, K.S., Kathiravan, M.K., Somani, R.S. and Shishoo, C.J., 2007.** The biology and chemistry of hyperlipidemia. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 15(14): pp 4674-4699. <https://doi.org/10.1080/26895293.2020.1781698>
9. **Soltani Nejad, M., Samandari Najafabadi, N., Aghighi, S., Pakina, E. and Zargar, M., 2022.** Evaluation of *Phoma* sp. biomass as an endophytic fungus for synthesis of extracellular gold nanoparticles with antibacterial and

- pathogenic properties. *Applied Nanoscience*. 5: 603-607. <https://doi.org/10.1007/s13204-014-0353-y>
40. Deepak, P., Sowmiya, R., Balasubramani, G., Aiswarya, D., Arul, D., Josebin, M.P. and Perumal, P., 2018. Mosquito-larvicidal efficacy of gold nanoparticles synthesized from the seaweed, *Turbinaria ornata* (Turner). *Particulate Science and Technology*. 36(8): 974-980. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-44873-8-7>
 41. Hamza, W.T., Taha, H.M. and Abouelkheir, S.S., 2018. *Spirulina platensis* synthesized gold nanoparticles (AuNPs) as an antibacterial and antioxidant agent. *Egypt Soc Exp Biol*. 14: 385-391. 10.5455/egyjb.20181217085315.
 42. Jakhu, S., Sharma, Y., Sharma, K., Vaid, K., Dhar, H., Kumar, V., Singh, R.P., Shekh, A. and Kumar, G., 2021. Production and characterization of microalgal exopolysaccharide as a reducing and stabilizing agent for green synthesis of gold-nanoparticle: a case study with a *Chlorella* sp. from Himalayan high-altitude psychrophilic habitat. *Journal of Applied Phycology*. 33(6): 3899-3914. <https://doi.org/10.1007/s10811-021-02580-3>
 43. Martín-Pardillos, A. and Martín-Duque, P., 2023. Cellular Alterations in Carbohydrate and Lipid Metabolism Due to Interactions with Nanomaterials. *Journal of Functional Biomaterials*. 14(5): 274. <https://doi.org/10.3390/jfb14050274>
 44. Wasim, M., 2015. Role of leptin in obesity. *J Obes Weight Loss Ther*. 5(2): 1-3.
 45. Feng, H., Zheng, L., Feng, Z., Zhao, Y. and Zhang, N., 2013. The role of leptin in obesity and the potential for leptin replacement therapy. *Endocrine*. 44: 33-39. <https://doi.org/10.1007/s12020-012-9865-y>
 46. Pan, W.W. and Myers Jr, M.G., 2018. Leptin and the maintenance of elevated body weight. *Nature Reviews Neuroscience*. 19(2): 95-105. <https://doi.org/10.1038/nrn.2017.168>
 47. Ansari, S., Bari, A., Ullah, R., Mathanmohun, M., Veeraraghavan, V.P. and Sun, Z., 2019. Gold nanoparticles synthesized with *Smilax glabra* rhizome modulates the anti-obesity parameters in high-fat diet and streptozotocin induced obese diabetes rat model. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 201: 111643. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2019.111643>
 48. Gao, L., Hu, Y., Hu, D., Li, Y., Yang, S., Dong, X., Alharbi, S.A. and Liu, H., 2020. Anti-obesity activity of gold nanoparticles synthesized from *Salacia chinensis* modulates the biochemical alterations in high-fat diet induced obese rat model via AMPK signaling pathway. *Arabian Journal of Chemistry*. 13(8): 6589-6597. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2020.06.015>
 49. Li, W., Wan, H., Yan, S., Yan, Z., Chen, Y., Guo, P., Ramesh, T., Cui, Y. and Ning, L., 2020. Gold nanoparticles synthesized with *Poria cocos* modulates the anti-obesity parameters in high-fat diet and streptozotocin induced obese diabetes rat model. *Arabian Journal of Chemistry*. 13(7): 5966-5977. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2020.04.031>
 50. Gannagé-Yared, M.H., Khalife, S., Semaan, M., Fares, F., Jambart, S. and Halaby, G., 2006. Serum adiponectin and leptin levels in relation to the metabolic syndrome, androgenic profile and somatotrophic axis in healthy non-diabetic elderly men. *European Journal of Endocrinology*. 155(1): 167-176. <https://doi.org/10.1530/eje.1.02175>
 51. Abdel-Daim, M.M., Dawood, M.A., Alkahtane, A.A., Abdeen, A., Abdel-Latif, H.M., Senousy, H.H., Aleya, L. and Alkahtani, S., 2020. *Spirulina platensis* mediated the biochemical indices and antioxidative function of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) intoxicated with aflatoxin B1. *Toxicol*. 184: 152-157. <https://doi.org/10.1016/j.toxicol.2020.06.001>
 52. Boden, G., Chen, X., Kolaczynski, J.W. and Polansky, M., 1997. Effects of prolonged hyperinsulinemia on serum leptin in normal human subjects. *The Journal of clinical investigation*. 100(5): 1107-1113. 10.1172/JCI119621
 26. toxicity evaluation of greenly synthesized ultra-small gold nanoparticles with different biological activities. *Scientific reports*. 12(1): 6269. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-10251-7>
 27. Shankar, P.D., Shobana, S., Karuppusamy, I., Pugazhendhi, A., Ramkumar, V.S., Arvindnarayan, S. and Kumar, G., 2016. A review on the biosynthesis of metallic nanoparticles (gold and silver) using bio-components of microalgae: Formation mechanism and applications. *Enzyme and Microbial Technology*. 95: 28-44. <https://doi.org/10.1016/j.enzymictec.2016.10.015>
 28. Sathiyaraj, S., Suriyakala, G., Gandhi, A.D., Babujanarthanam, R., Almaary, K.S., Chen, T.W. and Kaviyarasu, K., 2021. Biosynthesis, characterization, and antibacterial activity of gold nanoparticles. *Journal of Infection and Public Health*. 14(12): 1842-1847.
 29. Rabee, M.A., Owaid, M.N., Aziz, A.A., Jameel, M.S. and Dheyab, M.A., 2020. Mycosynthesis of gold nanoparticles using the extract of *Flammulina velutipes*, Phyalacriaceae, and their efficacy for decolorization of methylene blue. *Journal of Environmental Chemical Engineering*. 8(3): 103841. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2020.103841>
 30. Kabiri, F., Aghaei, S.S., Pourbabae, A.A., Soleimani, M. and Komeili Movahhed, T., 2023. Antibiofilm and cytotoxic potential of extracellular biosynthesized gold nanoparticles using actinobacteria *Amycolatopsis* sp. KMN. *Preparative Biochemistry & Biotechnology*. 53(3): 265-278.
 31. Diksha, D., Gupta, S.K., Gupta, P., Banerjee, U.C., Kalita, D. and Gupta, S., 2023. Antibacterial Potential of Gold Nanoparticles Synthesized from Leaf Extract of *Syzygium cumini* Against Multidrug-Resistant Urinary Tract Pathogens. *Cureus*. 15(2).
 32. Roy, A., Pandit, C., Gacem, A., Alqahtani, M.S., Bilal, M., Islam, S., Hossain, M.J. and Jameel, M., 2022. Biologically derived gold nanoparticles and their applications. *Bioinorganic Chemistry and Applications*. <https://doi.org/10.1155/2022/8184217>
 33. Sant, D.G., Gujarathi, T.R., Harné, S.R., Ghosh, S., Kitture, R., Kale, S., Chopade, B.A. and Pardesi, K.R., 2013. *Adiantum philippense* L. frond assisted rapid green synthesis of gold and silver nanoparticles. *Journal of Nanoparticles*.
 34. Khan, A.U., Khan, M., Malik, N., Cho, M.H. and Khan, M.M., 2019. Recent progress of algae and blue green algae-assisted synthesis of gold nanoparticles for various applications. *Bioprocess and biosystems engineering*. 42: 1-5. 10.1007/s00449-018-2012-2.
 35. Shankar, S.S., Rai, A., Ahmad, A. and Sastry, M., 2004. Rapid synthesis of Au, Ag, and bimetallic Au core Ag shell nanoparticles using Neem (*Azadirachta indica*) leaf broth. *Journal of colloid & interface science*. 275(2): 496-502. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2004.03.003>
 36. Patra, J.K. and Baek, K.H., 2015. Green nanobiotechnology: factors affecting synthesis and characterization techniques. *Journal of Nanomaterials*. 219. <https://doi.org/10.1155/2014/417305>
 37. Gardea-Torresdey, J.L., Tiemann, K.J., Gamez, G., Dokken, K., Tehuacanero, S. and Jose-Yacamán, M., 1999. Gold nanoparticles obtained by bio-precipitation from gold (III) solutions. *Journal of Nanoparticle Research*. 1: 397-404. <https://doi.org/10.1023/A:1010008915465>
 38. Song, Y.S., Muthuraman, G., Chen, Y.Z., Lin, C.C. and Zen, J.M., 2006. Screen Printed Carbon Electrode Modified with Poly (L-Lactide) Stabilized Gold Nanoparticles for Sensitive As (III) Detection. *Electroanalysis: An International Journal Devoted to Fundamental and Practical Aspects of Electroanalysis*. 18(18): 1763-1770. <https://doi.org/10.1002/elan.200603634>
 39. Ogale, S.B., Ahmad, A., Pasricha, R., Dhas, V.V. and Syed, A., 2006. Physical manipulation of biological and chemical syntheses for nanoparticle shape and size control. *Applied physics letters*. 89(26). <https://doi.org/10.1063/1.2424272>
 40. Annamalai, J. and Nallamuthu, T., 2015. Characterization of biosynthesized gold nanoparticles from aqueous extract of *Chlorella vulgaris* and their anti