



<https://bjm.ui.ac.ir/?lang=en>

Journal of Microbial Biology

E-ISSN: 3060-7647

13<sup>th</sup> Year, Vol. 13, No. 51, 2024 pp. 15-34

Received: 21/06/2024

Accepted: 18/08/2024

**(Research Paper)**

## Investigating the antioxidant and anti-amyloid properties of gold nanoparticles biosynthesized by *Bacillus cereus* PTCC 1015

**Fatemeh Jeldani**

Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Lahijan Branch, Islamic Azad University, Lahijan, Iran  
[sogandjeldani@gmail.com](mailto:sogandjeldani@gmail.com)

**Mohammad Faezi Ghasemi**<sup>1</sup> 

\*Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Lahijan Branch, Islamic Azad University, Lahijan, Iran  
[faezi\\_m@yahoo.com](mailto:faezi_m@yahoo.com) or [mfaezi@iau.ac.ir](mailto:mfaezi@iau.ac.ir)

### Abstract

Alzheimer's is the most common age-related neurodegenerative disease, characterized by amyloid plaques and intraneuronal neurofibrillary tangles. Nowadays, researchers are considering the use of nanoparticles in the treatment of skin diseases, various injuries and burns, bacterial and fungal infections, and digestive diseases. This research aims to biosynthesis of gold nanoparticles using *Bacillus cereus* PTCC 1015 and investigate their antioxidant and anti-amyloid effects on bovine serum albumin as a model protein. The properties of the synthesized nanoparticles were investigated using UV-vis, FTIR, XRD, TEM, SEM and EDX analyses. The antioxidant and anti-amyloid activities of the synthesized nanoparticles were also evaluated using DPPH and Congo red tests, respectively. Based on electron microscopy images, the synthesized nanoparticles had a spherical morphology with sizes ranging from 20 to 70 nm. The DPPH assay results showed that the synthesized nanoparticles effectively inhibited DPPH free radicals in a concentration-dependent manner, with an IC<sub>50</sub> value of 0.8 µg/ml. Furthermore, the anti-amyloid activity results showed that the synthesized nanoparticles have significant potential to inhibit amyloid fibrils, and the highest percentage of inhibition was observed at a concentration of 3.2 µg/ml. The present study demonstrated that *B. cereus* PTCC 1015 is an effective option for the synthesis of gold nanoparticles. Considering the antioxidant and anti-amyloid activities of the synthesized gold nanoparticles, this study represents an important step for further in vivo research.

**Key words:** Gold nanoparticles, Antioxidant, Anti-amyloid, *Bacillus cereus* PTCC 1015

---

<sup>1</sup> Corresponding Author



**Introduction:**

Reactive oxygen species (ROS) such as nitric oxide (NO), hydroxyl radicals (OH•), superoxide anions (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>), and hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), are produced during mitochondrial respiration. An imbalance between pro- and antioxidants leads to oxidative stress. These highly reactive and toxic compounds, when produced in excess, can damage lipids, DNA, carbohydrates and proteins, leading to various diseases. Many diseases, including diabetes, hypertension, atherosclerosis, chronic obstructive pulmonary disease (COPD), cancer and Alzheimer's, are associated with oxidative stress. Increased production of ROS is directly linked to increased levels of inflammatory cytokines. Antioxidants are crucial in preventing oxidative stress cell and DNA damage and reducing the risk of chronic diseases such as cancer and heart disease. Alzheimer's disease is an age-related neurodegenerative disorder that affects two-thirds of the population over the age of 65. The abnormal accumulation of amyloid beta protein outside nerve cells and tau protein inside these cells are two key features of the disease, known as amyloid plaques and neurofibrillary tangles, respectively. Gold nanoparticles have wide applications in biological imaging, drug delivery and other fields due to their low toxicity, catalytic properties and unique surface plasmon resonance property. In addition, previous studies have identified their antimicrobial, anticancer, antioxidant, anti-inflammatory and analgesic activities. These nanoparticles also have the ability to bind to the protein human serum albumin (HSA). Biological synthesis of nanoparticles using plant extracts and microorganisms is a preferred method for producing nanoparticles due to its simplicity, cost-effectiveness, biocompatibility and lack of need for high pressure, elevated temperatures or hazardous chemicals. Green synthesis of nanoparticles can be carried out by plants and a wide range of organisms including cyanobacteria, fungi, actinomycetes and bacteria. The present study focuses on the synthesis of gold nanoparticles using *Bacillus cereus* PTCC 1015 and the investigation of their antioxidant and anti-amyloid effects on human serum albumin.

**Materials and Methods:**

The biological synthesis of gold nanoparticles was carried out using *B. cereus* PTCC 1015 and 1 mM HAuCl<sub>4</sub> solution. The physicochemical properties of the synthesized gold nanoparticles were characterised by UV-vis, FTIR, XRD, TEM, SEM and EDX analyses. The antioxidant properties of gold nanoparticles were evaluated using the DPPH assay. Briefly, 2 ml of 1.5 mM DPPH solution was added to 2 mL of different concentrations of gold nanoparticles and incubated at 37°C for 30 min in the dark. The absorbance of the samples was then measured at 517 nm using a spectrophotometer. The anti-amyloid potential of gold nanoparticles was measured using the Congo red assay. Different concentrations of gold nanoparticles were added to 400 µl of bovine serum albumin solution and stirred on a magnetic stirrer for 48 hours. Then 100 µl of amyloid samples prepared in the presence of gold nanoparticles were combined with 1900 µl of Congo red buffer. After incubation for 10 minutes at room temperature, the absorbance of the samples was measured using a spectrophotometer in the 400 - 600 nm range.

**Results:**

The colour change of the HAuCl<sub>4</sub> solution from pale yellow to purplish-red after the addition of *B. cereus* extract confirmed the formation of gold nanoparticles, with a strong absorption peak observed at 560 nm. According to electron microscopy images, the synthesized nanoparticles exhibited spherical morphology with sizes ranging from 10 to 15 nm. In addition, energy dispersive X-ray analysis revealed the presence of gold atoms in the 1.5 keV range, and the absence of other elements indicated the purity of the gold nanoparticles. According to the DPPH assay, the antioxidant activity of gold nanoparticles was concentration dependent, with the highest inhibitory effect on DPPH radicals (98.12%) observed at a concentration of 1 µg/ml. In addition, the IC<sub>50</sub> values for the gold nanoparticles and glutathione (control) were 0.8 and 0.6 µg/ml, respectively. To investigate the anti-amyloid activity of the synthesized gold nanoparticles, we measured the absorption intensity of amyloid fibrils in the presence of different concentrations of nanoparticles. The anti-amyloid activity of the nanoparticles was concentration dependent, with the highest activity observed at 3.2 µg/ml.

**Discussion and Conclusion:**

The green synthesis of nanoparticles has increased in recent years due to their efficacy in medicine and biological sciences. In the present study, the biological synthesis of gold nanoparticles was achieved by the reduction of  $\text{HAuCl}_4$  by *B. cereus* PTCC 1015 after 48 h. UV-vis spectrophotometry confirmed the presence of an absorption peak at 560 nm, indicating the synthesis of gold nanoparticles. The study by Kang et al. (2023) also reported an absorption spectrum at 560 nm, which is consistent with the results of the present study. Oxidative stress is a condition in which oxidants damage macromolecules, including proteins, nucleic acids and lipids. In the present study, the ability of gold nanoparticles to inhibit DPPH free radicals was evaluated. According to the results, the inhibition of free radicals by the synthesized nanoparticles was concentration dependent, with a concentration of 0.8  $\mu\text{g/ml}$  resulting in 50% inhibition of free radicals. One of the antioxidant mechanisms of the synthesized nanoparticles may be their ability to donate electrons or hydrogen ions to free DPPH radicals to neutralise them. Alzheimer's disease is a neurodegenerative condition that causes progressive and detrimental damage to the brain and memory. Metal nanoparticles represent a promising therapeutic approach for the treatment of Alzheimer's disease through targeted drug delivery. The primary cause of Alzheimer's disease is the accumulation of beta-amyloid protein. Our study showed that synthesized gold nanoparticles were able to reduce the production of amyloid protein. Consistent with our findings, another study showed that conjugated gold nanoparticles prevented the formation of beta-amyloid proteins. These results highlight the anti-amyloid activity of the nanoparticles. Antioxidant and anti-inflammatory compounds play a crucial role in protecting the nervous system and preventing Alzheimer's disease. Gold nanoparticles have been reported to inhibit the NF- $\kappa\text{B}$  and MAPK signaling pathways and to reduce the secretion of pro-inflammatory cytokines. Therefore, one of the mechanisms by which gold nanoparticles counteract Alzheimer's disease may involve intervening in signaling pathways that induce inflammation and reducing the secretion of inflammatory cytokines. This suggests that biosynthetic gold nanoparticles have significant potential for scavenging DPPH free radicals and inhibiting the production of amyloid fibers. Based on these findings, the synthesized nanoparticles may be useful for further in vivo research.

## بررسی ویژگی‌های ضد اکسیدکنندگی و ضد آمیلوئیدی نانوذرات طلا بیوستتزشده توسط باسیلوس سرئوس PTCC 1015

فاطمه جلدانی

گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران [sogandjeldani@gmail.com](mailto:sogandjeldani@gmail.com)محمد فائزی قاسمی \* گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران [faezi\\_m@yahoo.com](mailto:faezi_m@yahoo.com)

### چکیده

آلزایمر شایع‌ترین بیماری تحلیل‌برنده عصبی وابسته به سن است که پلاک‌های آمیلوئیدی و کلاف‌های رشته‌ای داخل نورونی، دو نشانه اصلی آن هستند. امروزه استفاده از نانوذرات در درمان بیماری‌های پوستی، انواع جراحات و سوختگی‌ها، بیماری‌های باکتریایی و قارچی و بیماری‌های گوارشی مدنظر پژوهشگران است. هدف از این پژوهش بیوستتزش نانوذرات طلا توسط PTCC 1015 و بررسی اثرات ضد اکسیدکنندگی و ضد آمیلوئیدی بر آلبومین سرم گاوی به‌عنوان یک پروتئین مدل است. ویژگی‌های نانوذرات سنتزشده با استفاده از آنالیزهای UV-vis، FTIR، TEM، XRD، SEM، EDX بررسی شدند. همچنین، فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و ضد آمیلوئیدی نانوذرات سنتزشده به ترتیب با آزمون‌های DPPH و کنگورد ارزیابی شدند. براساس تصاویر میکروسکوپ الکترونی، نانوذرات سنتزشده دارای مورفولوژی کروی و اندازه ۷۰-۲۰ نانومتر بودند. نتایج حاصل از آزمون DPPH نشان دادند نانوذرات سنتزشده به‌صورت وابسته به غلظت باعث مهار رادیکال‌های آزاد DPPH می‌شوند و مقدار IC<sub>50</sub> برابر ۰/۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر به دست آمد. علاوه بر این، نتایج فعالیت ضد آمیلوئیدی مشخص کرد نانوذرات سنتزشده پتانسیل بالایی در مهار رشته‌های آمیلوئیدی دارند و بیشترین درصد مهار در غلظت ۳/۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر مشاهده شد. مطالعه حاضر نشان داد باسیلوس سرئوس PTCC 1015 قادر به سنتز نانوذرات طلا است. با توجه به فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و ضد آمیلوئیدی نانوذرات طلا سنتزشده، مطالعه حاضر می‌تواند گامی مهم برای انجام تحقیقات بیشتر در شرایط درون‌تنی باشد.

**واژه‌های کلیدی:** نانوذرات طلا، آنتی‌اکسیدانی، ضد آمیلوئیدی، باسیلوس سرئوس PTCC 1015

\* نویسنده مسئول مکاتبات

جلدانی ف.، فائزی قاسمی م. بررسی ویژگی‌های ضد اکسیدکنندگی و ضد آمیلوئیدی نانوذرات طلا بیوستتزشده توسط باسیلوس سرئوس PTCC 1015.

زیست‌شناسی میکروبی. ۱۴۰۳، ۱۳ (۵۱): ۱۵-۳۴. [10.22108/bjm.2024.141921.1598](https://doi.org/10.22108/bjm.2024.141921.1598)

3060-7647/ © 2024 The Authors

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

## مقدمه

تولید نانوذرات مشتق‌شده از فلزات در دهه‌های اخیر افزایش چشمگیری داشته است. نانوذرات به دسته‌ای از ذرات گفته می‌شوند که حداقل اندازه‌ای کمتر از ۱۰۰ نانومتر داشته باشند. نسبت سطح به حجم بالای نانوذرات موجب واکنش‌پذیری بالای آنها می‌شود و همچنین شکل و اندازه متفاوت این ذرات تأثیر مستقیم بر فعالیت زیستی آنها دارد. خواص ضدباکتریایی، ضدسرطانی و آنتی‌اکسیدانی نانوذرات فلزی باعث شده است طیف وسیعی از کاربردهای بیولوژیکی را داشته باشند (۱). نانوذرات را می‌توان با استفاده از روش‌های فیزیکی، شیمیایی و زیستی تولید کرد. روش‌های شیمیایی و فیزیکی دارای معایبی مانند استفاده از مواد شیمیایی، هزینه بالا، تولید محصولات جانبی خطرناک و مراحل پیچیده خالص‌سازی محصول نهایی هستند؛ درحالی‌که سنتز زیستی نانوذرات با استفاده از عصاره گیاهان و میکروارگانیسم‌ها به دلیل فرایندی ساده، مقرون‌به‌صرفه بودن، زیست‌سازگاری و عدم نیاز به فشار، دمای بالا و مواد شیمیایی خطرناک روشی ارجح برای تولید نانوذرات محسوب می‌شود. سنتز سبز نانوذرات توسط گیاهان و طیف وسیعی از ارگانیسم‌ها از جمله سیانوباکتری‌ها، قارچ‌ها، اکتینومیست‌ها و باکتری‌ها انجام می‌شود (۲).

سویه‌های مختلف باکتریایی به‌عنوان منبع زیستی برای سنتز نانوذرات عمل می‌کنند؛ با این حال، تمام سویه‌های باکتریایی قادر به سنتز نانوذرات نیستند. قابلیت سنتز نانوذرات به عواملی مانند فرایندهای متابولیک و وجود آنزیم‌های احیاکننده بستگی دارد. احیای یون‌های فلزی توسط NADH ردوکتاز یکی از مکانیسم‌هایی است که باکتری‌ها با آن نانوذرات فلزی را سنتز می‌کنند؛ برای مثال، باسیلوس لیکنی فورمیس<sup>۲</sup> با ترشح NADPH و آنزیم‌های وابسته به NADPH مانند نترات ردوکتاز،  $Ag^+$  را به  $Ag^0$  تبدیل می‌کند (۳). سویه

مقاوم به نقره، سودوموناس استوتزری<sup>۳</sup> AG259 که تجمع داخلی نانوذرات نقره در آن مشاهده شده است، از آنزیم ردوکتاز وابسته به NADH برای سنتز نانوذرات نقره استفاده می‌کند (۴). در مطالعه Kang و همکاران (۲۰۲۳)، نانوذرات طلا و نقره با استفاده از مایع رویی کشت لاکتی پلانتی باسیلوس<sup>۴</sup> سنتز شدند. نانوذرات طلا و نقره به ترتیب اشکال کروی با اندازه‌های ۱۰۰/۵۴ و ۱۲۹/۵۱ نانومتر را نشان دادند (۵). در مطالعه‌ای دیگر توسط Kang و همکاران، نانوذرات طلا و اکسید روی با استفاده از سویه لوکونوستوک<sup>۵</sup> جداشده از کیمچی سنتز شدند. نانوذرات طلا دارای اشکال کروی و با اندازه ۴۷/۷۷ نانومتر بودند؛ درحالی‌که نانوذرات اکسید روی مورفولوژی میله‌ای و اندازه ۱۷۳/۷۷ نانومتر را نشان دادند (۶).

ترکیبات فعال اکسیژن<sup>۶</sup> (ROS) مانند اکسید نیتریک (NO)، رادیکال هیدروکسیل ( $OH^\bullet$ )، آنیون سوپراکسید ( $O_2^\bullet$ ) و پراکسید هیدروژن ( $H_2O_2$ ) طی تنفس میتوکندریایی تولید می‌شوند؛ با این حال، وجود سیستم‌های دفاعی در ارگانیسم‌های سالم موجب حفظ تعادل اکسیداتیو می‌شود. اختلال در تعادل پرواکسیدانی - آنتی‌اکسیدانی باعث تنش اکسیداتیو می‌شود. این ترکیبات بسیار واکنش‌پذیر و سمی هستند که تولید بیش‌ازحد آنها ممکن است باعث آسیب به لیپیدها، DNA، کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها و در نتیجه بروز بیماری‌های مختلف شود (۷). تشکیل ROS با مصرف اکسیژن و عملکرد اکسیدازها در طول تنفس میتوکندریایی مرتبط است. براساس یافته‌ها، علت بیماری‌های مخرب، از جمله سرطان، مشکلات عروق مغزی و دیابت با آسیب ناشی از اکسیداسیون مرتبط است. افزایش تولید ROS رابطه مستقیمی

<sup>۳</sup> *Pseudomonas stutzeri*<sup>۴</sup> *Lactiplantibacillus*<sup>۵</sup> *Leuconostoc*<sup>۶</sup> *Reactive oxygen species*<sup>۲</sup> *Bacillus licheniformis*

اختلال در ارتباطات شبکه نورونی و تخریب آنها می‌شود. پروتئین‌های آمیلوئید بتا پس از جذب توسط میکروگلیا باعث آسیب‌های اکسیداتیو و التهابی می‌شود و در نهایت موجب اختلال عملکرد سیناپسی و مهار مولکول‌های پیام‌رسان در حافظه می‌شود (۱۷). اختلالات عصبی مختلف، از جمله بیماری پارکینسون، بیماری هانتینگتون، آلزایمز و زوال عقل به طور گسترده برای تحویل داروهای هدفمند مغز بررسی شده‌اند (۱۸). نانواپزارهای مختلفی مانند لیپوزوم‌ها، نیوزوم‌ها، میسل‌ها، نانوذرات پلیمری، نانوذرات فلزی و نانوذرات لیپیدی جامد، طراحی و توسعه یافته‌اند تا داروهای هدفمند مغز را با ایمنی، کارایی و پایداری بالا انتقال دهند (۱۹). در میان تمام نانواپزارها، نانوذرات فلزی خواص فیزیکی شیمیایی و بیولوژیکی متمایزی را در مقیاس‌های بالاتر نشان می‌دهند. این خواص منحصر به فرد نانوذرات فلزی به دلیل نسبت سطح به حجم بالا، افزایش پایداری و واکنش‌پذیری آنها است (۲۰). سد خونی مغزی مشکل اصلی هدف قرار دادن دارو برای هر بیماری عصبی است. نانوذرات فلزی به راحتی می‌توانند از سد خونی مغزی عبور کنند (۲۱). التهاب عصبی منجر به مرگ سلول‌های عصبی می‌شود و خطر ابتلا به آلزایمز را افزایش می‌دهد. گزارش شده است نانوذرات مختلف از جمله نانوذرات طلا، نقره (Ag)، پلاتین (Gupta, #18) و روتنیوم (Ru) قادرند سطح سایتوکاین‌های پیش‌التهابی مانند TNF- $\alpha$ ، IL-6 و IL-1 را کاهش دهند و با کاهش سطح آنزیم استیل کولین استراز و کاسپازها خطر ابتلا به آلزایمز را کاهش دهند (۲۲).

نانوذرات طلا به دلیل سمیت پایین، خواص کاتالیزوری و ویژگی منحصر به فرد خود یعنی رزونانس پلاسمون سطحی کاربرد گسترده‌ای در تصویربرداری زیستی، دارورسانی و سایر زمینه‌ها دارند. علاوه بر این، فعالیت‌های ضد میکروبی، ضد سرطانی، آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی و ضد درد نانوذرات طلا در مطالعه‌های قبلی مشخص شده است (۱۱). این

با افزایش سیتوکین‌های التهابی دارد (۸). آنتی‌اکسیدان‌ها برای جلوگیری از تنش اکسیداتیو، آسیب‌های سلولی و DNA و همچنین جلوگیری از اختلالات مزمن مانند سرطان و بیماری‌های قلبی مورد نیاز هستند. فعالیت آنتی‌اکسیدانی نانوذرات فلزی در تحقیقات قبلی مشخص شده است؛ برای مثال، مطالعه Boomi و همکاران (۲۰۲۰) نشان داد نانوذرات طلا سنتز شده با استفاده از عصاره برگ گیاه *آکالیفا ایندیکا*<sup>۲</sup> فعالیت آنتی‌اکسیدانی چشمگیری برای حذف رادیکال‌های آزاد ۲و۲ دی‌فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل<sup>۳</sup> (DPPH) دارند (۹). علاوه بر این، فعالیت آنتی‌اکسیدانی سایر نانوذرات فلزی از جمله نانوذرات مس (۱۰)، نقره (۱۱)، اکسید روی (۱۲) و سلنیوم (۱۳) در مطالعات قبلی مشخص شده است. در این میان، نانوذرات طلا به دلیل مقاومت در برابر اکسیداسیون توجه محققان را به خود جلب کرده‌اند (۱۴). نانوذرات فلزی می‌توانند با انتقال هیدروژن یا الکترون به عنوان آنتی‌اکسیدان عمل کنند. در فرایند انتقال الکترون، اهدای الکترون از ترکیبات آنتی‌اکسیدان منجر به کاهش مولکول‌های اکسیداتیو می‌شود؛ در حالی که در انتقال هیدروژن، از بین بردن رادیکال‌های آزاد توسط اتم‌های هیدروژن رخ می‌دهد. مشخص شده است نانوذرات فلزی از جمله نانوذرات طلا و نقره جاذب قوی یون‌های سوپراکسید، رادیکال‌های اکسید نیتریک، DPPH و رادیکال‌های هیدروکسیل هستند (۱۵).

آلزایمز یک بیماری تحلیل‌برنده سیستم عصبی وابسته به سن است که دو سوم از جمعیت‌های سالخورده بالای ۶۵ سال را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۱۶). تجمع غیرطبیعی پروتئین آمیلوئید بتا در خارج سلول‌های عصبی و پروتئین تائو در داخل این سلول‌ها دو نشانه اصلی این بیماری هستند که به ترتیب با عنوان پلاک‌های آمیلوئیدی و کلاف‌های نوروفیبریلاری شناخته می‌شوند. این تجمعات غیرطبیعی سبب

<sup>۲</sup> *Acalypha indica*

<sup>۳</sup> 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

### سنتر نانوذرات طلا توسط باسیلوس سرئوس PTCC

1015

سنتر زیستی نانوذرات طلا با استفاده از باسیلوس سرئوس PTCC 1015 انجام شد. سویه باکتریایی در محیط MGY<sup>۱۱</sup> برات حاوی گلوکز (۱۰ گرم بر لیتر)، عصاره مالت (۳ گرم بر لیتر)، پپتون (۵ گرم بر لیتر) و عصاره مخمر (۳ گرم بر لیتر) تلقیح و به مدت ۴۸ ساعت در شیکر انکوباتور با سرعت ۲۰۰ دور در دقیقه و با دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد گرماگذاری شد. سپس کشت باکتریایی به مدت ۲۰ دقیقه و با سرعت ۶۰۰۰ سانتریفیوژ شد. مایع رویی حاصل از سانتریفیوژ خالی شد و رسوب سلولی ۳ مرتبه با محلول نمک فسفات بافری<sup>۱۳</sup> (PBS) شست‌وشو داده شد. برای سنتر نانوذرات طلا، محلول ۱ میلی مولار H<sub>2</sub>AuCl<sub>4</sub> در آب دیونیزه، تهیه و pH آن با استفاده از سود ۰/۱ مولار روی ۷ تنظیم شد. ۲ گرم از زیست‌توده میکروبی به ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول H<sub>2</sub>AuCl<sub>4</sub> اضافه شد و به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور شیکر ۳۷ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۲۰۰ دور در دقیقه تحت همزن قرار گرفتند (۲۶).

### بررسی ویژگی‌های نانوذرات طلا

#### تغییر رنگ محلول و آنالیز UV-vis

اولین مشخصه سنتر نانوذرات طلا با تغییر رنگ مخلوط H<sub>2</sub>AuCl<sub>4</sub> در حضور سوسپانسیون توده زنده میکروبی بررسی شد. علاوه بر این، نمونه‌ها با سرعت ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند و طیف جذب محلول رویی حاصل از سانتریفیوژ در محدوده ۸۰۰-۳۰۰ نانومتر برای مشاهده پیک جذب خاص نانوذرات طلا با استفاده از اسپکتروفتومتر UV-vis (Shimadzu, UV Pharma spec) اندازه‌گیری شد (۲۷).

نانوذرات همچنین دارای توانایی اتصال به پروتئین آلبومین سرم انسانی<sup>۹</sup> (HSA) هستند (۲۳). در این تحقیق از باکتری باسیلوس سرئوس<sup>۱۱</sup> برای سنتر نانوذرات طلا استفاده شد. ویژگی‌های مطلوب باسیلوس سرئوس از جمله سازگاری با طیف وسیعی از شرایط محیطی، توانایی کاهش فلزات سنگین و تحمل غلظت بالای آن در برابر یون‌های فلزی، آن را به گزینه‌ای مناسب برای سنتر نانوذرات فلزی تبدیل کرده است (۲۴, ۲۵). از آنجایی که مطالعه مشابهی در زمینه سنتر نانوذرات طلا توسط این گونه باکتری انجام نشده است، مطالعه حاضر با هدف سنتر نانوذرات طلا با استفاده از باسیلوس سرئوس PTCC 1015 و بررسی اثرات ضد اکسیدکنندگی و ضد آمیلوئیدی بر نانورشته‌های آلبومین سرم گاوی به‌عنوان یک پروتئین مدل انجام شد.

### مواد و روش‌ها

#### مواد شیمیایی و سویه باکتری استفاده‌شده

تمام مواد شیمیایی استفاده‌شده در این تحقیق شامل هیدروژن تتراکلوآورات (H<sub>2</sub>AuCl<sub>4</sub>)، گلوکاتایون، آلبومین سرم گاوی و ۲،۲-دی‌فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH) از شرکت سیگما آلدریج (میزوری، آمریکا) تهیه شدند. کنگو رد از شرکت مرک (دارمشتات، آلمان) خریداری شد. سویه باسیلوس سرئوس PTCC 1015 از مرکز کلکسیون میکروارگانیزم‌های صنعتی ایران (تهران، ایران) به‌صورت لیوفیلیزه تهیه شد. برای فعال‌سازی سویه، پودر لیوفیلیزه با اضافه کردن ۵۰۰ میکرولیتر محیط آبگوشت مغذی<sup>۱۱</sup> (NB) به صورت سوسپانسیون درآورده و در محیط آگار مغذی<sup>۱۱</sup> (NA) در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت کشت داده شد.

<sup>۹</sup> Human serum albumin

<sup>۱۱</sup> Nutrient broth

<sup>۱۱</sup> Nutrient agar

<sup>۱۱</sup> Malt extract Glucose Yeast extract Peptone

<sup>۱۳</sup> phosphate buffered saline solution

خشک شد. سپس تصویر برداری با استفاده از میکروسکوپ الکترونی عبوری انجام شد (۲۹).

**آنالیز میکروسکوپ الکترونی روبشی<sup>۱۷</sup> (Zeinivand, )**  
#36  
ساختار سطحی نانوذرات سنتز شده با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی بررسی شد. به منظور تصویربرداری SEM، نانوذرات با لایه‌ای نازک از طلا پوشانده شدند و تصویربرداری با میکروسکوپ الکترونی روبشی (Tescan Vega, Czech Republic) انجام شد (۲۹).

**آنالیز پراش انرژی پرتو ایکس<sup>۱۸</sup> (EDX)**  
تجزیه و تحلیل عنصری نانوذرات با استفاده از آزمون پراش انرژی پرتو ایکس مشخص شد. به طور خلاصه پس از برخورد الکترون‌ها به نمونه، انرژی پرتو ایکس ساطع شده از نمونه توسط میکروسکوپ SEM مجهز به افزونه EDX اندازه‌گیری شد (۲۹).

### بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی نانوذرات طلا در حذف رادیکال‌های DPPH

فعالیت آنتی‌اکسیدانی نانوذرات سنتز شده با استفاده از آزمون DPPH بررسی شد (۳۰). DPPH در اتانول به فرم رادیکالی خود تبدیل می‌شود و در طول موج ۵۱۷ نانومتر، بیشترین مقدار جذب را دارد. این ترکیب پس از واکنش با ماده آنتی‌اکسیدان احیا می‌شود و جذب آن در طول موج ۵۱۷ نانومتر کاهش می‌یابد و رنگ محلول از ارغوانی به زرد تغییر می‌کند. ابتدا ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول ۰/۱ مولار DPPH در اتانول تهیه شد. سپس ۲ میلی‌لیتر از این محلول به ۲ میلی‌لیتر از غلظت‌های مختلف نانوذرات طلا (۱-۲) میکروگرم بر میلی‌لیتر) اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد و

### آنالیز پراش اشعه ایکس<sup>۱۴</sup> (XRD)

ساختار کریستالی نانوذرات با استفاد از آنالیز پراش اشعه ایکس (Philips PW 1800, Netherlands) انجام شد. نمونه‌ها تحت تابش اشعه ایکس با طول موج  $\lambda = 1.540598$  Å قرار گرفتند و آنالیز با زوایای پراش (۲θ) ۰-۸۰ درجه سانتی‌گراد و گام ۰/۰۵ در هر ثانیه انجام شد (۲۸).

### آنالیز مادون قرمز تبدیل فوریه<sup>۱۵</sup> (FTIR)

گروه‌های عاملی موجود در نانوذرات با استفاده از آزمون مادون قرمز تبدیل فوریه بررسی شدند. برای این منظور، نمونه‌ها با برومید پتاسیم (KBr) مخلوط شدند و برای حذف رطوبت تحت خلأ قرار گرفتند. نمونه‌های پودر شده با استفاده از پرس به صورت گلوله درآمدند و طیف جذبی آنها در محدوده طول موج ۴۰۰-۴۰۰۰ نانومتر توسط اسپکترومتر FTIR شرکت Thermo Fisher Scientific مدل Nicolet 360 (Waltham, USA) Avatar ثبت شد (۲۹).

### آنالیز میکروسکوپ الکترونی عبوری<sup>۱۶</sup> (TEM)

اندازه و مورفولوژی نانوذرات سنتز شده با استفاده از میکروسکوپ الکترونی عبوری تعیین شدند. نمونه‌ها برای تصویربرداری TEM، ابتدا با استفاده از حمام اولتراسونیک در آب پراکنده شدند و ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون تهیه شده روی شبکه مسی با پوشش کربن قرار داده و در محفظه خلأ

<sup>۱۴</sup> X-Ray Diffraction (XRD)

<sup>۱۵</sup> Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR)

<sup>۱۶</sup> Transmission Electron Microscopy 31. Zeinivand M, Aghaei Ss, Zargar M, Ghasemzadeh MA. Synthesis of Gold Nanoparticles Using Exopolysaccharide from Lactobacillus Paracasei and Evaluation of their Antibacterial, Anti-biofilm, and Antioxidant Properties. Journal of Microbial Biology. 2022;11(42):67-83.

<sup>۱۷</sup> Scanning electron microscopy 31. Ibid.

<sup>۱۸</sup> Energy Dispersive X-ray Spectrometer (EDX)

شرایط تاریکی انکوبه شد. از گلو تاتیون نیز به عنوان استاندارد استفاده شد. سپس جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر، اندازه‌گیری و درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد.

$100 \times X$  جذب نمونه کنترل / جذب نمونه تیمار - جذب نمونه کنترل = درصد مهار رادیکال DPPH

### سنجش فعالیت آنتی‌آمیلوئیدوزنیک نانوذرات طلا

پتانسل ضد‌آمیلوئیدی نانوذرات طلا با استفاده از بافر کنگورد اندازه‌گیری شد (۳۱). ابتدا آلبومین سرم گاوی با غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در بافر فسفات-سیترات (۳ pH) تهیه شد. سپس غلظت‌های ۰/۲، ۰/۴، ۰/۸، ۱/۶ و ۳/۲ میکروگرم به‌ازای میلی‌لیتر از نانوذرات طلا به ۴۰۰ میکرولیتر از محلول آلبومین سرم گاوی اضافه شدند و به مدت ۴۸ ساعت روی همزن مغناطیسی با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد و سرعت ۱۰۰ دور در دقیقه قرار گرفت. کنگورد با غلظت ۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر در محلول PBS تهیه شد. سپس برای طیف‌سنجی کنگورد، ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه‌های آمیلوئیدی تهیه‌شده در حضور نانوذرات طلا با ۱۹۰۰ میکرولیتر از بافر کنگورد ترکیب شد و پس از ۱۰ دقیقه انکوباسیون در دمای اتاق، میزان جذب نمونه‌ها توسط اسپکتروفتومتر در محدوده ۴۰۰ تا ۶۰۰ نانومتر، خوانده و منحنی آن رسم شد.

### آنالیز آماری

تمام اطلاعات به‌دست‌آمده در این تحقیق از میانگین  $\pm$  انحراف معیار از سه تکرار برای هر آزمون بود. آنالیز آماری به کمک آزمون t-test انجام پذیرفت. ارزش ( $p < 0.05$ ) از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد. در مطالعه فعالیت ضد‌آمیلوئیدی، بررسی آماری میانگین نتایج به‌دست‌آمده از سه تکرار براساس آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (Least significant difference) انجام شد.

## نتایج

### بررسی ویژگی‌های نانوذرات

#### تغییر رنگ محلول و آنالیز UV-vis

همان‌طور که در [شکل ۱](#) نشان داده شده است، تغییر رنگ محلول  $\text{HAuCl}_4$  پس از افزودن عصاره باسیلوس سرئوس از زرد کم‌رنگ به قرمز ارغوانی بیان‌کننده احیای یون‌های طلا و سنتز نانوذرات طلا بود. علاوه بر این، طیف‌سنجی UV-vis وجود یک پیک جذب قوی در طول موج ۵۶۰ نانومتر را نشان داد که مشخصه سنتز نانوذرات طلا است. ([شکل ۲](#)).

#### آنالیز مادون‌قرمز تبدیل فوریه (FTIR)

طیف مادون‌قرمز تبدیل فوریه (FTIR) نانوذرات سنتز شده در محدوده طول موج  $4000-400 \text{ cm}^{-1}$  نشان داده شده است ([شکل ۳](#)). دو پیک جذبی پهن در شکل مشخص است که یکی در طول موج  $3253 \text{ cm}^{-1}$  مربوط به ارتعاشات جذب مولکول‌های آب روی گروه O-H متصل‌شده به نانوذرات طلا است و دیگر پیک مشاهده‌شده در طول موج  $1580 \text{ cm}^{-1}$  مربوط به تشکیل پیوند با گروه C-N است ([۵](#)).

#### آنالیز پراش اشعه ایکس (XRD)

اندازه بلورهای نانوذرات طلا براساس نتایج به‌دست‌آمده از XRD و به کمک رابطه شرر محاسبه شد. طیف پراش اشعه ایکس نانوذرات طلا سنتز شده ۴ پیک شارپ را در  $38.1^\circ$ ،  $44.3^\circ$ ،  $64.5^\circ$  و  $77.7^\circ$  به ترتیب با زوایای میلر ۱۱۱، ۲۰۰، ۲۲۰ و ۳۱۱ نشان داد که سنتز نانوذرات طلا را تأیید می‌کند ([شکل ۴](#)).

#### آنالیز میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM)

که با بزرگ‌نمایی‌های ۱ میکرومتر، ۵۰۰ و ۲۰۰ نانومتر مشخص شده‌اند (شکل ۶).

### آنالیز پراش انرژی پرتو ایکس (EDX)

بر اساس آنالیز پراش انرژی پرتو ایکس (EDX)، حضور پیک مربوط به اتم طلا در محدوده ۱/۵ Kev و عدم حضور عناصر دیگر بیان‌کننده خلوص نانوذرات طلا بود (شکل ۷).

همان‌طور که در تصاویر میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) نشان داده شده است، نانوذرات سنتز شده دارای مورفولوژی کروی با اندازه ۱۵-۱۰ نانومتر بودند (شکل ۵).

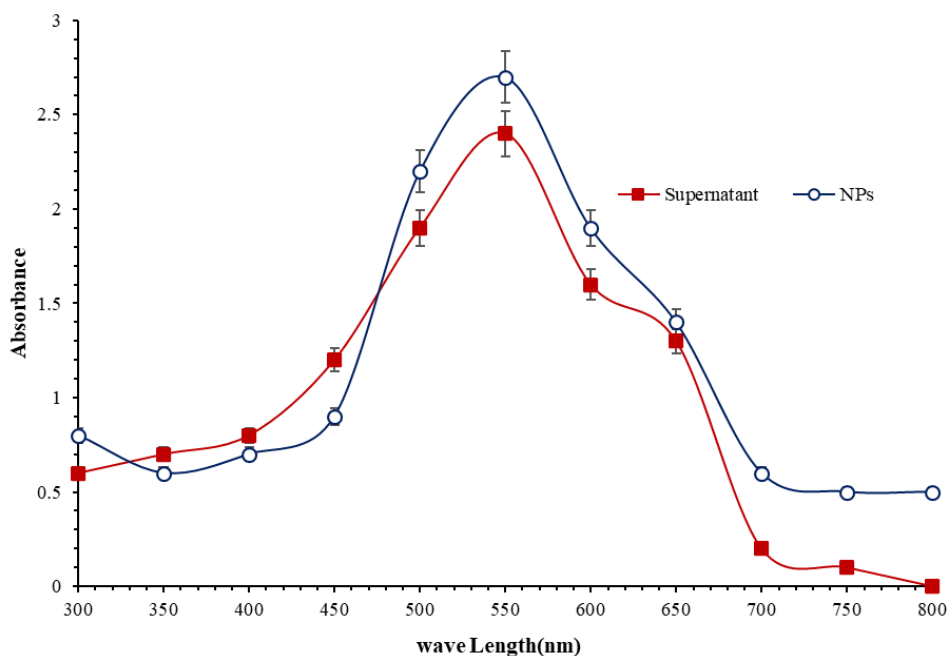
### آنالیز میکروسکوپ الکترونی روبشی (Zeinivand, #36)

تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی (Zeinivand, #36) نیز بیان‌کننده تجمع نانوذرات با میانگین اندازه ۷۰ نانومتر بودند



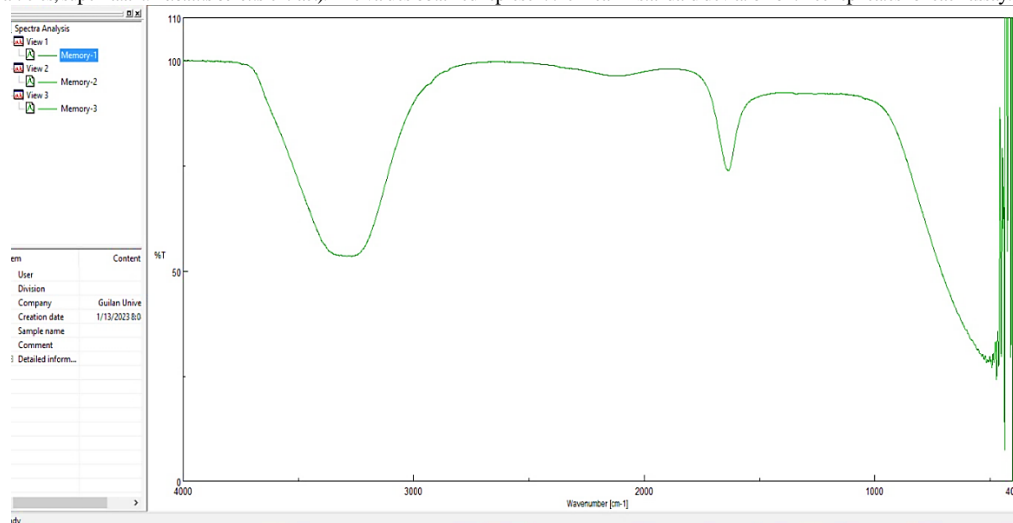
شکل ۱. تغییر رنگ مخلوط واکنش از زرد به قرمز ارغوانی پس از افزودن زیست‌توده میکروبی باسیلوس سرئوس به محلول  $\text{HAuCl}_4$  که بیان‌کننده سنتز نانوذره طلا بود (از چپ به راست تغییر رنگ مشخص شده است).

Fig1. The colour change of the reaction mixture from yellow to purple-red after the addition of *B. cereus* microbial biomass to the  $\text{HAuCl}_4$  solution indicates the synthesis of gold nanoparticles (from left to right, showing the specified colour change).



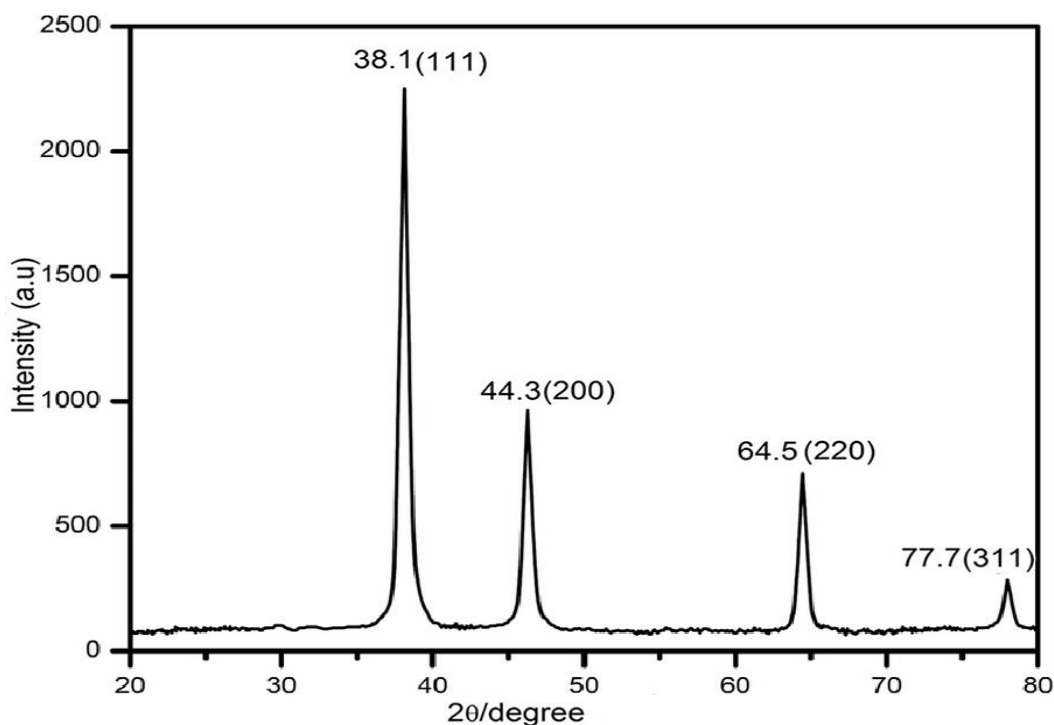
شکل ۲. طیف اسپکتروفتومتر UV-vis نانوذرات طلا سنتز شده توسط باسیلوس سرئوس PTCC 1015 در مقایسه با عصاره باسیلوس سرئوس (NPs: نانوذرات طلا، Supernatant عصاره باسیلوس سرئوس). مقادیر به دست آمده از میانگین  $\pm$  انحراف معیار از سه تکرار برای هر آزمون است. ( $p < 0.05$ )

Fig 2. The UV-vis spectrophotometer spectrum of gold nanoparticles synthesized by *B. cereus* PTCC 1015 is compared with that of the *B. cereus* extract. (NPs: gold nanoparticles, supernatant: *Bacillus cereus* extract). The values obtained represent the mean  $\pm$  standard deviation of three replicates for each assay. ( $p < 0.05$ )



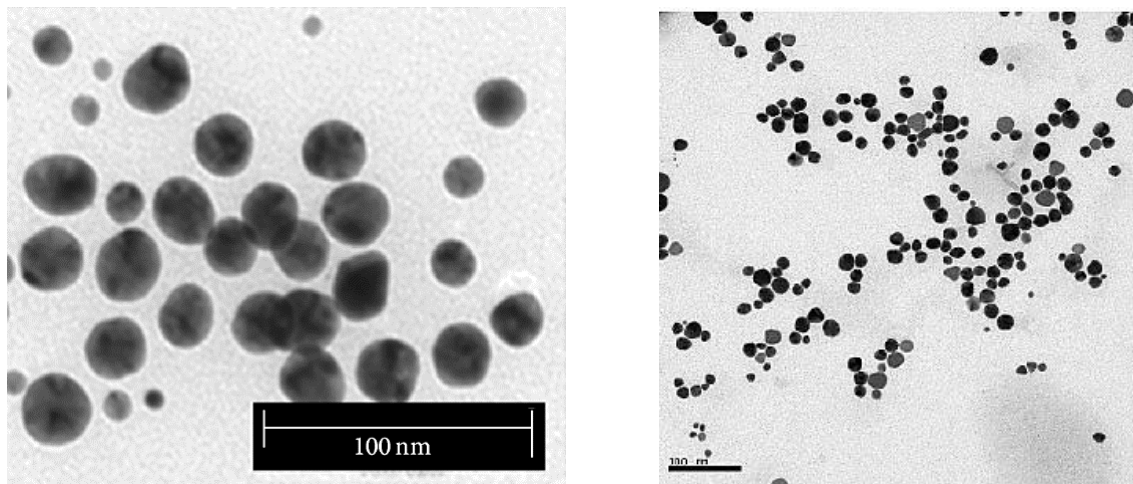
شکل ۳. نمودار طیف مادون‌قرمز تبدیل فوری نانوذرات طلا سنتز شده توسط باسیلوس سرئوس PTCC 1015

Fig 3. Fourier transform infrared spectrum of gold nanoparticles synthesized by *B. cereus* PTCC 1015.



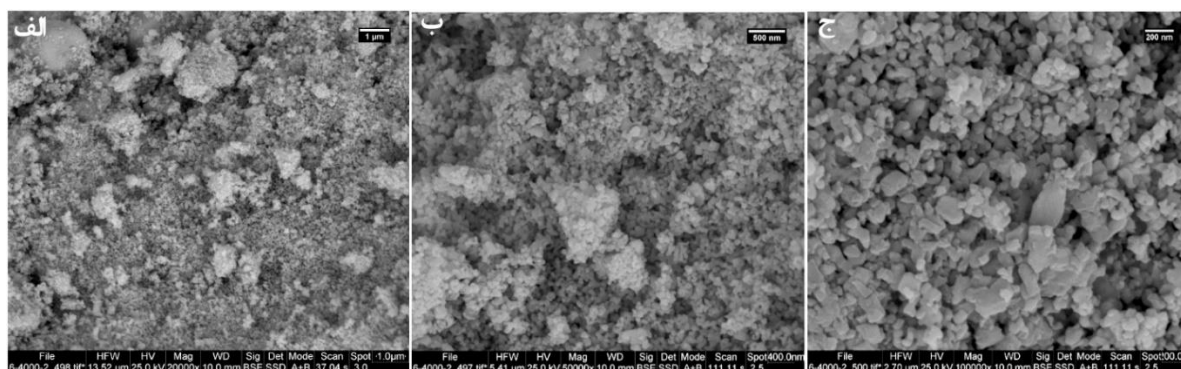
شکل ۴. طیف پراش اشعه ایکس نانوذرات طلا سنتز شده توسط باکتری باسیلوس سرئوس PTCC 1015

Fig 4. X-ray diffraction spectrum of gold nanoparticles synthesized by *B. cereus* PTCC 1015.



شکل ۵. تصاویر میکروسکوپ الکترونی عبوری نانوذرات طلای سنتز شده توسط باسیلوس سرئوس PTCC 1015. اندازه ذرات ۱۰ تا ۱۵ نانومتر است.

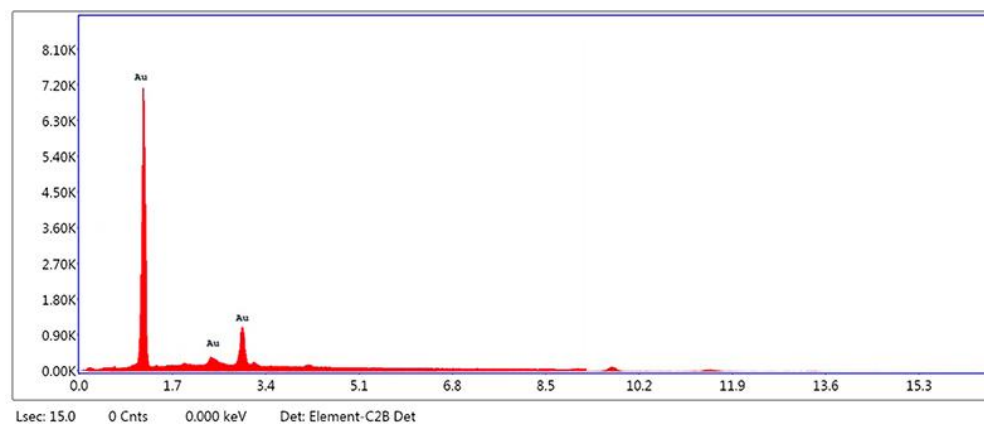
Fig 5. Transmission electron microscope images of gold nanoparticles synthesized by *B. cereus* PTCC 1015 show particles in the size range of 10 to 15 nm.



شکل ۶. تصاویر میکروسکوپ الکترونی روشنی نانوذرات طلای سنتز شده توسط باسیلوس سرئوس PTCC 1015

الف- بزرگ‌نمایی ۱ میکرومتر، ب- بزرگ‌نمایی ۵۰۰ نانومتر، ج- بزرگ‌نمایی ۲۰۰ نانومتر

Fig 6. Scanning electron microscope images of gold nanoparticles synthesized by *B. cereus* PTCC 1015. A - 1  $\mu\text{m}$  resolution, B - 500 nm resolution, C - 200 nm resolution.



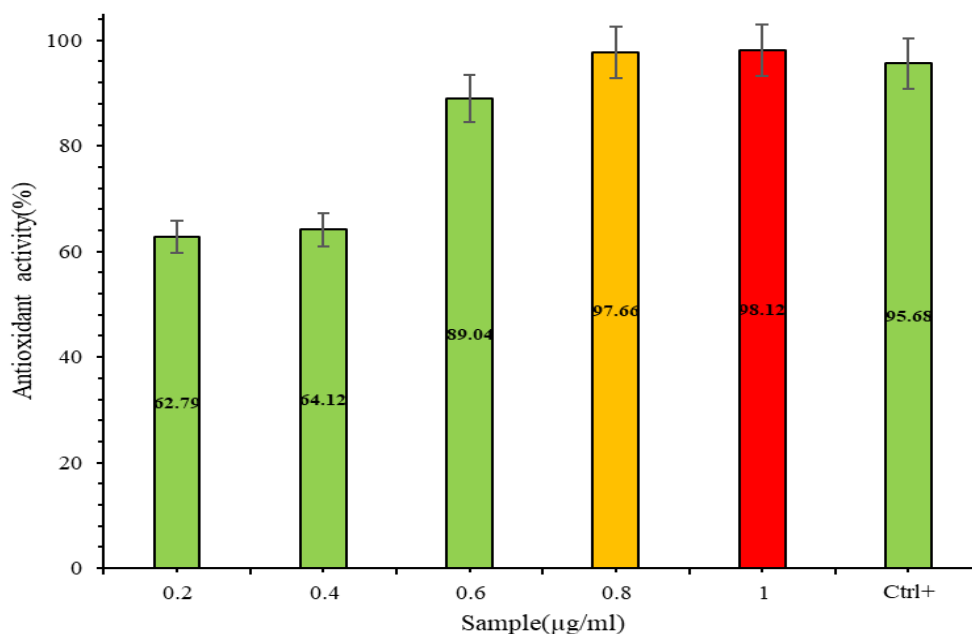
شکل ۷. نمودار پراش انرژی پرتو ایکس نانوذرات طلا سنتز شده توسط باسیلوس سرئوس PTCC 1015

Fig 7. Energy dispersive X-ray spectroscopy spectrum of gold nanoparticles synthesized by *B. cereus* PTCC 1015.

لیتر شروع شده است و بالاترین اثر مهارکنندگی رادیکال‌های DPPH با میزان ۹۸/۱۲ درصد در غلظت ۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر مشاهده شد. همچنین مقادیر  $IC_{50}$  برای نانوذرات طلا و گلو تاتیون (کنترل) به ترتیب به میزان ۰/۸ و ۰/۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود ( $p < 0.05$ ).

### سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی نانوذرات طلا

نتایج آزمون DPPH نشان دادند فعالیت آنتی‌اکسیدانی نانوذرات طلا به صورت وابسته به غلظت است؛ به طوری که با افزایش غلظت نانوذرات، خاصیت آنتی‌اکسیدانی آنها نیز افزایش می‌یابد. همان‌طور که در [شکل ۸](#) نشان داده شده است، اثر مهارکنندگی نانوذرات از غلظت ۰/۶ میکروگرم بر میلی‌



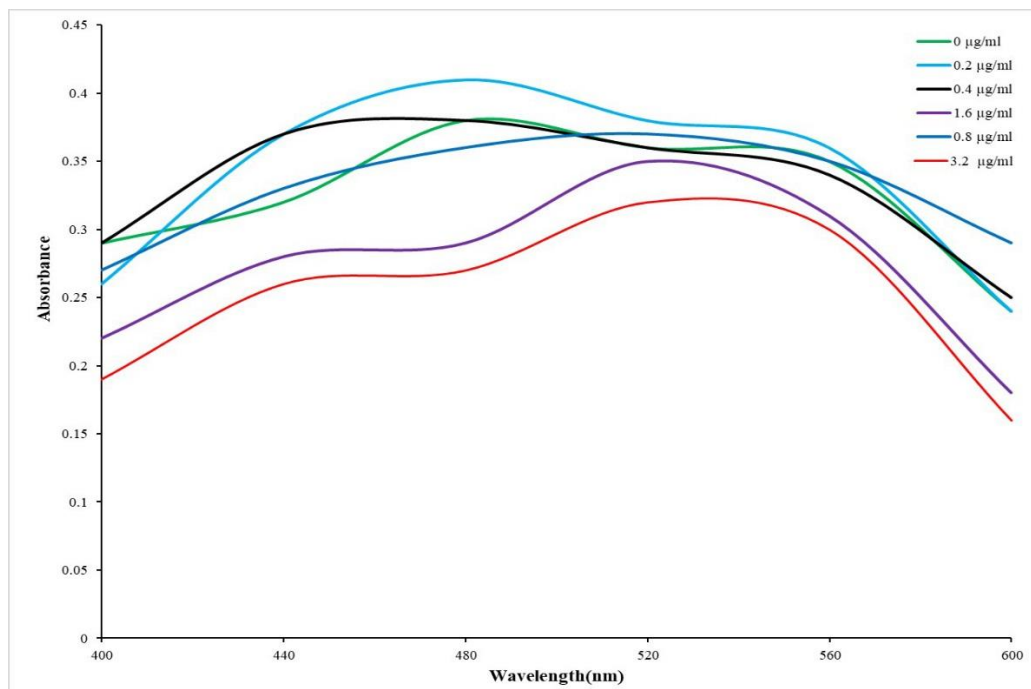
شکل ۸. مهار رادیکال DPPH توسط غلظت‌های مختلف نانوذرات طلا در مقایسه با گلو تاتیون. مقادیر به دست آمده از میانگین  $\pm$  انحراف معیار از سه تکرار برای هر آزمون است. ( $p < 0.05$ )

**Fig 8.** Inhibition of DPPH radicals by different concentrations of gold nanoparticles compared to glutathione. The values obtained represent the mean  $\pm$  standard deviation of three replicates for each test. ( $p < 0.05$ )

بر اساس آزمون حداقل اختلاف میانگین (LSD) نتایج به دست آمده بین گروه‌های تیمار در طول موج بین ۴۸۰ و ۵۲۰ نانومتر معنادار است. این اختلاف در غلظت ۳/۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر نسبت به غلظت‌های پایین‌تر بیشتر مشاهده شد. به این ترتیب، نتیجه گرفته می‌شود فعالیت ضد آمیلوئیدی نانوذرات طلا وابسته به غلظت بوده است و در غلظت ۳/۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر بیشترین مقدار را دارد.

### مهار تولید نانورشته‌های آمیلوئیدی توسط نانوذرات طلا

برای بررسی فعالیت ضد آمیلوئیدی نانوذرات طلا سنتز شده، طیف جذبی (شدت جذب) فیبریل‌های آمیلوئیدی در حضور غلظت‌های مختلف نانوذرات (۰، ۰/۲، ۰/۴، ۰/۸، ۱/۶ و ۳/۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر) اندازه‌گیری شد. همان‌طور که در [شکل ۹](#) نشان داده شده، بیشترین درصد مهار تشکیل رشته‌های آمیلوئیدی در غلظت ۳/۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر است.



شکل ۹. میزان طیف جذبی نانوفیبریل‌های آمیلوئیدی تشکیل شده در حضور غلظت‌های ۰، ۰/۲، ۰/۴، ۰/۸، ۱/۶ و ۳/۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر نانوذرات طلا سنتز شده توسط باسیلوس سرئوس PTCC 1015. ( $p < 0.05$ )

**Fig 9.** Absorption spectrum of amyloid nanofibrils formed in the presence of 0.0, 0.2, 0.4, 0.8, 1.6, and 3.2  $\mu\text{g/ml}$  concentrations of gold nanoparticles synthesized by *B. cereus* PTCC 1015. ( $p < 0.05$ )

قارچ‌ها، مخمرها، باکتری‌ها و ویروس‌ها انجام داد (۳۲). در پژوهش حاضر سنتز زیستی نانوذرات طلا با احیای یون‌های هیدروژن تتراکلرو آنورات ( $\text{HAuCl}_4$ ) توسط زیست‌توده میکروبی باسیلوس سرئوس PTCC 1015 پس از گذشت ۴۸ ساعت انجام شد که با تغییر رنگ مخلوط واکنش از سفید مایل به زرد به قرمز ارغوانی مشخص شد. به‌طور مشابه، در مطالعه Khan و همکاران (۲۰۲۳) نیز تغییر رنگ مخلوط واکنش هیدروژن تتراکلرو آنورات و بتا-کاربوفیلین<sup>۱۹</sup> از زرد به قرمز پس از تولید نانوذرات طلا مشاهده شد (۳۳). علاوه بر این، بررسی اسپکتروفتومتری UV-vis وجود پیک جذب در طول موج ۵۶۰ نانومتر، سنتز نانوذرات طلا در مطالعه ما را تأیید کرد. در مطالعه Kang و همکاران (۲۰۲۳)، نانوذرات طلا بیوسنتز شده طیف جذبی را در ناحیه ۵۶۰ نانومتر نشان دادند که با مطالعه حاضر مطابقت دارد (۵). در مطالعه‌ای

## بحث و نتیجه‌گیری

در طول دو دهه گذشته، فناوری نانو دستخوش جهش‌های عظیمی شده و به یکی از پررونق‌ترین حوزه‌های تحقیقاتی تبدیل شده است. ذرات در مقیاس نانو، خواص کاتالیزوری، مغناطیسی، الکتریکی، مکانیکی، نوری، شیمیایی و بیولوژیکی بهتری از خود نشان می‌دهند. از کاربردهای فناوری نانو در حوزه پزشکی می‌توان به تولید عوامل ضدباکتریایی، ضدقارچی، ضدویروسی، ضدالتهاب، ضدسرطان، ضددیابت و آنتی‌اکسیدانی اشاره کرد. سنتز سبز نانوذرات با توجه به کارایی آنها در پزشکی و علوم زیستی در سال‌های اخیر افزایش یافته است. همچنین، افزایش آگاهی نسبت به شیمی سبز و فرایندهای زیستی، استفاده از روش‌های سازگار با محیط زیست را برای تهیه غیررسمی نانو مواد ضروری کرده است. سنتز بیولوژیکی نانوذرات را می‌توان با استفاده از مجموعه وسیعی از منابع مانند گیاهان و محصولات گیاهی، جلبک‌ها،

<sup>۱۹</sup>  $\beta$ -caryophyllene

انجام دادند، نانوذرات طلا سنتز شده توسط آگروپولی ساکارید لاکتوباسیلوس پاراکازنی<sup>۲۲</sup> در غلظت ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر باعث مهار ۸۱ درصد رادیکال‌های آزاد DPPH شد (۳۶). علاوه بر این، فعالیت آنتی‌اکسیدانی نانوذرات سنتز شده ممکن است به دلیل فعالیت تقلیدی کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز باشد که امکان حذف ترکیبات فعال اکسیژن را فراهم می‌کند (۳۷). مطالعه و همکاران در سال ۲۰۱۰ این فرضیه را تقویت می‌کند. آنها نشان دادند تیمار موش‌های دیابتی با نانوذرات طلا باعث افزایش سطوح گلوکوتایون، سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوکوتایون پراکسیداز در مقایسه با گروه تیمار نشده می‌شود (۳۸).

آلزایمر یک بیماری تخریب‌کننده عصبی است که باعث آسیب‌های پیش‌رونده و برگشت‌ناپذیر زبان و حافظه می‌شود. این بیماری نه تنها در افراد مسن، بلکه در افراد مبتلا به بیماری‌های مزمن مانند دیابت نیز بروز می‌کند (۳۹). از دست دادن حافظه و بی‌ثباتی رفتاری از ویژگی‌های اساسی این بیماری است (۴۰). آلزایمر عمدتاً با اختلال شناختی شروع می‌شود و سپس به تدریج نوروپاتی حسی و حرکتی را مختل می‌کند (۴۱). پاتوژنز آلزایمر شامل تنش اکسیداتیو، التهاب و تخریب عصبی، اختلال در تنظیم کلسیم، اختلال در عملکرد میتوکندری، تشکیل گره‌های نوروفیبریلاری، الیگومریزاسیون آمیلوئید، سمیت سیناپسی و دیسومئوستاز یون‌های فلزی مانند آهن، مس و روی است (۴۲). آلزایمر عمدتاً به دلیل تجمع پلاک‌های آمیلوئید بتا تولید شده توسط پروتئین پیش‌ساز آمیلوئید بتا، تشکیل گره‌های نوروفیبریلاری، اختلال عملکرد عصبی، تولید ترکیبات فعال اکسیژن، کاهش متابولیسم انرژی مغز، تنش ردوکس در مغز و التهاب عصبی ایجاد می‌شود (۴۳).

دیگر، Reddy و همکاران (۲۰۱۰)، با استفاده از توده زیستی باکتری باسیلوس سوتیلیس<sup>۲۰</sup> و محلول HAuCl<sub>4</sub> موفق به سنتز نانوذرات طلا شدند؛ با این حال، مدت زمان سنتز نانوذرات ۷۲ ساعت و بیشتر از مطالعه حاضر بود (۳۴). براساس تصاویر میکروسکوپ الکترونی، نانوذرات سنتز شده دارای اشکال کروی و قطر کمتر از ۱۰۰ نانومتر بودند که با مطالعات قبلی مطابقت دارد (۵، ۶).

تنش اکسیداتیو وضعیتی است که در آن اکسیدان‌ها به ماکرومولکول‌ها از جمله پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و لیپیدهای تشکیل‌دهنده غشای سلولی آسیب می‌رسانند. بسیاری از بیماری‌ها از جمله دیابت، فشارخون بالا، تصلب شرایین، بیماری مزمن انسدادی ریه<sup>۲۱</sup> (COPD)، سرطان و آلزایمر با تنش اکسیداتیو مرتبط هستند (۳۵). در مطالعه حاضر، توانایی نانوذرات طلا در مهار رادیکال‌های آزاد DPPH ارزیابی شد. DPPH (۲،۲-دی‌فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل) یک رادیکال آزاد آلی پایدار با رنگ بنفش تیره و جذب قوی در طول موج ۵۱۷ نانومتر است که با پذیرش هیدروژن یا الکترون از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی کاهش می‌یابد و به ترکیب پایدار ۲،۲-دی‌فنیل-۱-پیکریل هیدرازین (DPPH-H) مایل به زرد کم رنگ تبدیل می‌شود. براساس نتایج، مهار رادیکال‌های آزاد توسط نانوذرات سنتز شده وابسته به غلظت بود و غلظت ۰/۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر از نانوذرات باعث مهار ۵۰ درصدی رادیکال‌های آزاد شد. همچنین مقدار IC<sub>50</sub> گلوکوتایون که به‌عنوان یک ماده آنتی‌اکسیدان استاندارد در این مطالعه استفاده شده است، برابر با ۰/۶ میکروگرم به‌ازای میلی‌لیتر بود. یکی از مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدانی نانوذرات سنتز شده ممکن است توانایی آنها در اهدای الکترون یا یون هیدروژن به رادیکال‌های آزاد DPPH برای خنثی کردن آنها باشد (۱۵). به‌طور مشابه، در مطالعه‌ای که زینتی‌وند و همکاران (۲۰۲۲)

<sup>۲۰</sup> *Bacillus subtilis*

<sup>۲۱</sup> Chronic obstructive pulmonary disease

<sup>۲۲</sup> *Lactobacillus paracasei*

نورون‌های سالم و کاهش توانایی سلول‌های میکروگلیال برای حذف پلاک‌های آمیلوئید شده است که رابطه مستقیمی با پیشرفت بیماری آلزایمر دارد (۵۰). طبق تحقیقات انجام شده، افزایش سطح سرمی پروتئین واکنشی C<sup>۳۳</sup> (CRP) در میان‌سالی با زوال عقل و بیماری آلزایمر مرتبط است (۵۱). مطالعات اخیر نشان داده‌اند استفاده طولانی مدت از داروهای ضد التهاب غیراستروئیدی<sup>۲۴</sup> (NSAIDs) پیامدهای ارزشمندی برای جلوگیری از زوال عقل و بیماری آلزایمر دارند (۵۲). براساس این یافته‌ها، ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی نقش مهمی در محافظت عصبی و جلوگیری از بیماری آلزایمر دارند. مهار فعال شدن مسیرهای سیگنالینگ NF-kB و MAPK و همچنین کاهش ترشح سیتوکین‌های پیش التهابی توسط نانوذرات طلا گزارش شده است (۵۳-۵۵)؛ بنابراین، یکی از مکانیسم‌های نانوذرات طلا برای مقابله با بیماری آلزایمر ممکن است مداخله با مسیرهای سیگنالینگ القاکننده التهاب و کاهش ترشح سیتوکین‌های پیش التهابی باشد. مطالعه ما نشان داد نانوذرات طلا سنتز شده توسط باسیلوس سرئوس PTCC 1015 به‌طور چشمگیری موجب مهار رادیکال‌های آزاد DPPH می‌شوند. خاصیت آنتی‌اکسیدانی نانوذرات طلا همراه با مهار رشته‌های آمیلوئیدی در مطالعه حاضر، پتانسیل ضد آمیلوئیدی نانوذرات سنتز شده را تقویت می‌کند.

### نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر نانوذرات طلا با اشکال کروی و اندازه ۷۰-۲۰ نانومتر با استفاده از عصاره باسیلوس سرئوس سنتز شدند. این کار نشان داد نانوذرات طلا بیوسنتز شده پتانسیل بالایی در حذف رادیکال‌های آزاد DPPH و مهار تولید رشته‌های آمیلوئیدی در شرایط آزمایشگاهی دارند. براساس این یافته‌ها، نانوذرات سنتز شده ممکن است در جلوگیری از تشکیل

عدم توانایی عبور از سد خونی مغزی، یک محدودیت مهم داروهای موجود برای درمان بیماری آلزایمر است (۴۴). با استفاده از درمان‌های مبتنی بر فناوری نانو، این محدودیت برطرف می‌شود. نانوذرات فلزی از طریق دارورسانی هدفمند یک رویکرد درمانی مفید برای مدیریت بیماری آلزایمر محسوب می‌شوند (۱۸). مهم‌ترین علت بیماری آلزایمر تجمع پروتئین آمیلوئید بتا است و درمان‌هایی که موجب کاهش این پروتئین می‌شوند، بهبود علائم بیماری آلزایمر را سبب می‌شوند؛ بنابراین، اگر تولید نانورشته‌های آمیلوئیدی در حضور ترکیبی مهار شود، می‌تواند بر اثرات درمانی آن برای کاهش عوارض ناشی از بیماری آلزایمر دلالت داشته باشد. در پژوهش حاضر با بررسی نتایج حاصل از طیف‌سنجی کنگورد مشخص شد نانوذرات طلا سنتز شده توانایی کاهش تولید پروتئین آمیلوئید را دارند. براساس نتایج، بیشترین میزان مهار رشته‌های آمیلوئیدی (۹۶ درصد) در غلظت ۳/۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر از نانوذرات طلا مشاهده شد. در توافق با یافته‌های ما، مطالعه‌ای دیگر نشان داد نانوذرات طلا کونژوگه شده با گلوکاتینون از تجمع پروتئین‌های آمیلوئید بتا جلوگیری می‌کنند (۴۵). این یافته‌ها فعالیت ضد آمیلوئیدی نانوذرات طلا را برجسته می‌کند.

ترکیبات فعال اکسیژن و تنش اکسیداتیو یک عامل مهم در پیشرفت بیماری‌های عصبی از جمله آلزایمر هستند. بسیاری از مطالعات افزایش تنش اکسیداتیو در مغز بیماران مبتلا به آلزایمر را نشان داده‌اند؛ از جمله افزایش سطح ایزوپروستان آلفا در مایع مغزی-نخاعی (۴۶) و لوب‌های پیشانی و گیجگاهی (۴۷)، آکرولئین در آمیگدال و شکنج هیپوکامپ-پاراهیپوکامپ (۴۸). همچنین، افزایش سطح اکسیداسیون DNA هسته‌ای و میتوکندریایی در لوب‌های پیشانی، آهیانه‌ای و گیجگاهی مغز بیماران مبتلا به آلزایمر در مقایسه با افراد سالم مشاهده شده است (۴۹). علاوه بر تنش اکسیداتیو، فعالیت التهابی در مغز با افزایش تولید آمیلوئید موجب مرگ

<sup>۳۳</sup> C-reactive protein

<sup>۲۴</sup> Nonsteroidal anti-inflammatory drugs

نانوذرات سنتز شده ضروری است.

پلاک‌های آمیلوئیدی در مغز مفید باشند؛ با این حال، انجام مطالعات درون تنی و کشف مکانیسم‌های ضد آمیلوئیدی

## References

- (1) Bhardwaj K., Dhanjal DS., Sharma A., Nepovimova E., Kalia A., Thakur S., et al. Conifer-Derived Metallic Nanoparticles: Green Synthesis and Biological Applications. *Int J Mol Sci*, 2020; 21 (23): 9028. <https://doi.org/10.3390/2Fijms21239028>
- (2) Chopra H., Bibi S, Singh I, Hasan MM, Khan MS, Yousafi Q, et al. Green Metallic Nanoparticles: Biosynthesis to Applications. *Front Bioeng Biotechnol*, 2022; 10: 874742. <https://doi.org/10.3389/2Ffbioe.2022.874742>
- (3) Vaidyanathan R., Gopalram S, Kalishwaralal K, Deepak V, Pandian SR, Gurunathan S. Enhanced silver nanoparticle synthesis by optimization of nitrate reductase activity. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2010; 75 (1): 335-41. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2009.09.006>
- (4) Haefeli C., Franklin C, Hardy K. Plasmid-determined silver resistance in *Pseudomonas stutzeri* isolated from a silver mine. *J Bacteriol*, 1984; 158 (1): 389-92. <https://doi.org/10.1128/2Fjb.158.1.389-392.1984>
- (5) Kang MG., Khan F, Tabassum N, Cho KJ, Jo DM, Kim YM. Inhibition of Biofilm and Virulence Properties of Pathogenic Bacteria by Silver and Gold Nanoparticles Synthesized from *Lactiplantibacillus* sp. Strain C1. *ACS Omega*, 2023; 8 (11): 9873-88. <https://doi.org/10.1021/2Facsomega.2c06789>
- (6) Kang MG., Khan F, Jo DM, Oh D, Tabassum N, Kim YM. Antibiofilm and Antivirulence Activities of Gold and Zinc Oxide Nanoparticles Synthesized from Kimchi-Isolated *Leuconostoc* sp. Strain C2. *Antibiotics*, 2022; 11 (11): 1524. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11111524>
- (7) Halliwell B., Gutteridge JM. The antioxidants of human extracellular fluids. *Arch Biochem Biophys*, 1990; 280 (1): 1-8. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(90\)90510-6](https://doi.org/10.1016/0003-9861(90)90510-6)
- (8) Reddy VP. Oxidative Stress in Health and Disease. *Biomedicines*, 2023; 11. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11112925>
- (9) Boomi P., Ganesan R, Prabu Poorani G, Jegatheeswaran S, Balakumar C, Gurumallesh Prabu H, et al. Phyto-Engineered Gold Nanoparticles (AuNPs) with Potential Antibacterial, Antioxidant, and Wound Healing Activities Under in vitro and in vivo Conditions. *Int J Nanomedicine*, 2020; 15: 7553-68. <https://doi.org/10.2147/ijn.s257499>
- (10) Zangeneh MM., Ghaneialvar H, Akbaribazm M, Ghanimatdan M, Abbasi N, Goorani S, et al. Novel synthesis of *Falcaria vulgaris* leaf extract conjugated copper nanoparticles with potent cytotoxicity, antioxidant, antifungal, antibacterial, and cutaneous wound healing activities under in vitro and in vivo condition. *J Photochem Photobiol B*, 2019; 197: 111556. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2019.111556>
- (11) Ahmad S., Ahmad S, Xu Q, Khan I, Cao X, Yang R, et al. Green synthesis of gold and silver nanoparticles using crude extract of *Aconitum violaceum* and evaluation of their antibacterial, antioxidant and photocatalytic activities. *Front Bioeng Biotechnol*, 2023; 11: 1320739. <https://doi.org/10.3389/2Ffbioe.2023.1320739>
- (12) Hussain M., Kaousar R, Haq SIU, Shan C, Wang G, Rafique N, et al. Zinc-oxide nanoparticles ameliorated the phytotoxic hazards of cadmium toxicity in maize plants by regulating primary metabolites and antioxidants activity. *Front Plant Sci*, 2024; 15: 1346427. <https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1346427>
- (13) Sentkowska A., Pyrzyńska K. Antioxidant Properties of Selenium Nanoparticles Synthesized Using Tea and Herb Water Extracts. *Applied Sciences*, [Internet] 2023; 13. <https://doi.org/10.3390/app13021071>
- (14) Guo R., Song Y, Wang G, Murray RW. Does core size matter in the kinetics of ligand exchanges of monolayer-protected Au clusters?. *J Am Chem Soc*, 2005; 127 (8): 2752-7. <https://doi.org/10.1021/ja044638c>

- (15) Bedlovičová Z., Strapáč I, Baláž M, Salayová A. A Brief Overview on Antioxidant Activity Determination of Silver Nanoparticles. *Molecules*, 20 (14): 20-25. <https://doi.org/10.3390/molecules25143191>
- (16) Mendez MF. Early-Onset Alzheimer Disease. *Neurol Clin*, 2017; 35 (2): 263-81. <https://doi.org/10.1016/j.ncl.2017.01.005>
- (17) Scarpa E., Cascione M, Griego A, Pellegrino P, Moschetti G, De Matteis V. Gold and silver nanoparticles in Alzheimer's and Parkinson's diagnostics and treatments. *Ibrain*, 2023; 9 (3): 298-315. <https://doi.org/10.1002%2Fibra.12126>
- (18) Gupta J., Fatima MT, Islam Z, Khan RH, Uversky VN, Salahuddin P. Nanoparticle formulations in the diagnosis and therapy of Alzheimer's disease. *Int J Biol Macromol*, 2019; 130: 515-26. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.02.156>
- (19) Pradhan S, Padhi S, Dash M, Heena, Bhartimittu D, Behera A. *Carotenoids*. 2022. p. 135-57. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-89779-2.00006-5>
- (20) Mary Ealias A., M P S. A review on the classification, characterisation, synthesis of nanoparticles and their application. *IOP Conference Series Materials Science and Engineering*, 2017; 263: 032019. <http://doi.org/10.1088/1757-899X/263/3/032019>
- (21) Blanco E., Shen H, Ferrari M. Principles of nanoparticle design for overcoming biological barriers to drug delivery. *Nat Biotechnol*, 2015; 33 (9): 941-51. <https://doi.org/10.1038/nbt.3330>
- (22) Behera A., Sa N, Pradhan SP, Swain S, Sahu PK. Metal Nanoparticles in Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis Rep*, 2023; 7 (1): 791-810. <https://doi.org/10.3233%2FADR-220112>
- (23) Velmurugan P., Lee SM, Iydroose M, Lee KJ, Oh BT. Pine cone-mediated green synthesis of silver nanoparticles and their antibacterial activity against agricultural pathogens. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2013; 97 (1): 361-8. <https://doi.org/10.1007/s00253-012-3892-8>
- (24) El-Arabi TF., Griffiths MW. *Bacillus cereus*. Foodborne infections and intoxications: Elsevier; 2021. p. 431-7. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819519-2.00011-6>
- (25) Huang Y., Yang L, Pan K, Yang Z, Yang H, Liu J, et al. Heavy metal-tolerant bacteria *Bacillus cereus* BCS1 degrades pyrethroid in a soil-plant system. *Journal of Hazardous Materials*, 2024; 461: 132594. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2023.132594>
- (26) Correa-Llantén DN., Muñoz-Ibacache SA, Castro ME, Muñoz PA, Blamey JM. Gold nanoparticles synthesized by *Geobacillus* sp. strain ID17 a thermophilic bacterium isolated from Deception Island, Antarctica. *Microb Cell Fact*, 2013; 12: 75. <https://doi.org/10.1186/1475-2859-12-75>
- (27) Abbas Q. Understanding the UV-Vis Spectroscopy for Nanoparticles. 2019 *J Nanomater Mol Nanotechnol*, 8: 3. <https://doi.org/10.4172/2324-8777.1000268>
- (28) Brady JB., Boardman SJ. Introducing mineralogy students to x-ray diffraction through optical diffraction experiments using lasers. *Journal of Geological Education*, 1995; 43 (5): 471-6. <https://doi.org/10.5408/0022-1368-43.5.471>
- (29) Nagaonkar D., Rai M. Sequentially reduced biogenic silver-gold nanoparticles with enhanced antimicrobial potential over silver and gold monometallic nanoparticles. *Adv Mater Lett*, 2015; 6 (4): 334-341. <http://dx.doi.org/10.5185/amlett.2015.5737>
- (30) Kedare SB., Singh RP. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *J Food Sci Technol*, 2011; 48 (4): 412-22. <https://doi.org/10.1007%2Ffs13197-011-0251-1>
- (31) Klunk WE., Pettegrew JW, Abraham DJ. Quantitative evaluation of congo red binding to amyloid-like proteins with a beta-pleated sheet conformation. *J Histochem Cytochem* 1989; 37 (8): 1273-81. <https://doi.org/10.1177/37.8.2666510>
- (32) Marouzi S., Sabouri Z, Darroudi M. Greener synthesis and medical applications of metal oxide nanoparticles. *Ceramics International* 2021; 47 (14): 19632-50. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2021.03.301>
- (33) Khan F., Tabassum N, Jeong GJ, Jung WK, Kim YM. Inhibition of Mixed Biofilms of

- Candida albicans* and *Staphylococcus aureus* by  $\beta$ -Caryophyllene-Gold Nanoparticles. *Antibiotics (Basel)*, 2023; 12 (4): 726. <https://doi.org/10.3390%2Fantibiotics12040726>
- (34) Reddy AS., Chen CY, Chen CC, Jean JS, Chen HR, Tseng MJ, et al. Biological synthesis of gold and silver nanoparticles mediated by the bacteria *Bacillus subtilis*. *J Nanosci Nanotechnol*, 2010; 10 (10): 6567-74. <https://doi.org/10.1166/jnn.2010.2519>
- (35) Forman HJ., Zhang H. Targeting oxidative stress in disease: promise and limitations of antioxidant therapy. *Nat Rev Drug Discov*, 2021; 20 (9): 689-709. <https://doi.org/10.1038/s41573-021-00233-1>
- (36) Zeinivand M., Aghaei Ss, Zargar M, Ghasemzadeh MA. Synthesis of Gold Nanoparticles Using Exopolysaccharide from *Lactobacillus paracasei* and Evaluation of their Antibacterial, Anti-biofilm, and Antioxidant Properties. *Journal of Microbial Biology*, 2022; 11 (42): 67-83. <https://doi.org/10.22108/bjm.2021.129552.1404> [In Persian].
- (37) Yadav S., Maurya PK. Recent advances in the protective role of metallic nanoparticles in red blood cells. *3 Biotech*, 2022; 12 (1): 28. <https://doi.org/10.1007%2Fs13205-021-03087-x>
- (38) Barathmanikanth S., Kalishwaralal K, Sriram M, Pandian SR, Youn HS, Eom S, et al. Antioxidant effect of gold nanoparticles restrains hyperglycemic conditions in diabetic mice. *J Nanobiotechnology*, 2010; 8: 16. <https://doi.org/10.1186/1477-3155-8-16>
- (39) Brookmeyer R., Gray S, Kawas C. Projections of Alzheimer's disease in the United States and the public health impact of delaying disease onset. *Am J Public Health*, 1998; 88 (9): 1337-42. <https://doi.org/10.2105/ajph.88.9.1337>
- (40) Ayaz M., Junaid M, Ullah F, Subhan F, Sadiq A, Ali G, et al. Anti-Alzheimer's Studies on  $\beta$ -Sitosterol Isolated from *Polygonum hydropiper* L. *Front Pharmacol*, 2017; 8: 697. <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00697>
- (41) Cummings JL., Vinters HV, Cole GM, Khachaturian ZS. Alzheimer's disease: etiologies, pathophysiology, cognitive reserve, and treatment opportunities. *Neurology*, 1998; 51 (1 Suppl 1): S2-17; discussion S65-7. [https://doi.org/10.1212/wnl.51.1\\_suppl\\_1.s2](https://doi.org/10.1212/wnl.51.1_suppl_1.s2)
- (42) Castellani RJ., Rolston RK, Smith MA. Alzheimer disease. *Dis Mon*, 2010; 56 (9): 484-546. <https://doi.org/10.1016/j.disamonth.2010.06.001>
- (43) Ballatore C., Lee VM, Trojanowski JQ. Tau-mediated neurodegeneration in Alzheimer's disease and related disorders. *Nat Rev Neurosci*, 2007; 8 (9): 663-72. <https://doi.org/10.1038/nrn2194>
- (44) Ryu JK., McLarnon JG. A leaky blood-brain barrier, fibrinogen infiltration and microglial reactivity in inflamed Alzheimer's disease brain. *J Cell Mol Med*, 2009; 13 (9a): 2911-25. <https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2008.00434.x>
- (45) Chiang MC., Nicol CJB. GSH-AuNP anti-oxidative stress, ER stress and mitochondrial dysfunction in amyloid-beta peptide-treated human neural stem cells. *Free Radic Biol Med*, 2022; 187: 185-201. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2022.05.025>
- (46) Montine TJ., Beal MF, Cudkovicz ME, O'Donnell H, Margolin RA, McFarland L, et al. Increased CSF F2-isoprostane concentration in probable AD. *Neurology*, 1999; 52 (3): 562-5. <https://doi.org/10.1212/wnl.52.3.562>
- (47) Praticò D., V MYL, Trojanowski JQ, Rokach J, Fitzgerald GA. Increased F2-isoprostanes in Alzheimer's disease: evidence for enhanced lipid peroxidation in vivo. *Faseb J*, 1998; 12 (15): 1777-83. <https://doi.org/10.1096/fasebj.12.15.1777>
- (48) Lovell MA., Xie C, Markesbery WR. Acrolein is increased in Alzheimer's disease brain and is toxic to primary hippocampal cultures. *Neurobiol Aging*, 2001; 22 (2): 187-94. [https://doi.org/10.1016/s0197-4580\(00\)00235-9](https://doi.org/10.1016/s0197-4580(00)00235-9)
- (49) Wang J., Xiong S, Xie C, Markesbery WR, Lovell MA. Increased oxidative damage in nuclear and mitochondrial DNA in Alzheimer's disease. *J Neurochem*, 2005; 93

- (4): 953-62. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2005.03053.x>
- (50) Novoa C., Salazar P, Cisternas P, Gherardelli C, Vera-Salazar R, Zolezzi JM, et al. Inflammation context in Alzheimer's disease, a relationship intricate to define. *Biol Res*, 2022; 55 (1): 39. <https://doi.org/10.1186/s40659-022-00404-3>
- (51) Schmidt R., Schmidt H, Curb JD, Masaki K, White LR, Launer LJ. Early inflammation and dementia: a 25-year follow-up of the Honolulu-Asia Aging Study. *Ann Neurol*, 2002; 52 (2): 168-74. <https://doi.org/10.1002/ana.10265>
- (52) Szekely CA., Breitner JC, Fitzpatrick AL, Rea TD, Psaty BM, Kuller LH, et al. NSAID use and dementia risk in the Cardiovascular Health Study: role of APOE and NSAID type. *Neurology*, 2008; 70 (1): 17-24. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000284596.95156.48>
- (53) Aili M., Zhou K, Zhan J, Zheng H, Luo F. Anti-inflammatory role of gold nanoparticles in the prevention and treatment of Alzheimer's disease. *Journal of Materials Chemistry B*, 2023; 11 (36): 8605-21. <https://doi.org/10.1039/D3TB01023F>
- (54) Di Bella D., Ferreira JPS, Silva RNO, Echem C, Milan A, Akamine EH, et al. Gold nanoparticles reduce inflammation in cerebral microvessels of mice with sepsis. *J Nanobiotechnology*, 2021; 19 (1): 52. <https://doi.org/10.1186/s12951-021-00796-6>
- (55) Fujita T., Zysman M, Elgrabli D, Murayama T, Haruta M, Lanone S, et al. Anti-inflammatory effect of gold nanoparticles supported on metal oxides. *Sci Rep*, 2021; 11 (1): 23129. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-02419-4>