

СУДАЛГАА

№7 ЦАЙРЫН ОКСИДОД СУУРИЛСАН ХОЁР ГЭРТ ХАЛГАЙН (URTICA DIOICA L.) ХАНДТАЙ НАНОПАРТИКЛЫГ ГАРГАН АВСАН ДҮН

Т.Одмаа¹, Т.Буянхүү², Р.Оюун-Эрдэнэ², Ч.Одгэрэл², С.Тулгаа²,

Ч.Отгонжаргал², Ж.Мөнхцэцэг², М.Нандин-Эрдэнэ^{2,3}

¹Био-Анагаах 505-р хэсэг, Био-Анагаахын сургууль, АШУҮИС, Монгол

²Биохимийн тэнхим, Био-Анагаахын сургууль, АШУҮИС, Монгол

³Био-Анагаахын хүрээлэн, Био-Анагаахын сургууль, АШУҮИС, Монгол

Цахим шуудан: odmaahan.t@gmail.com Утас: 98930688

Түлхүүр үгс: Ногоон нийлэгжүүлэлт, биоидэвхт нэгдэл, шинж чанар, ханд, цайрын оксид

Судалгааны ажлын үндэслэл: Сүүлийн жилүүдэд дэлхийн улс орнууд наноматериалыг шинжлэх ухааны салбарт болон өдөр тутмын амьдралд хэрэглэгдэх нь нэмэгдэж байгаа бөгөөд тэр дундаа байгальд ээлтэй наноматериал гарган авахыг чиг хандлага болгоод байна.¹ Наноматериалыг анагаах ухаанд эмийн хүргэлт, оношлогоо, эмчилгээнд өргөнөөр хэрэглэгдэж байгаагаас гол төлөөлөгч болох нанопартиклын судалгаа, хөгжүүлэлт сүүлийн жилүүдэд нэмэгдсээр байна.²

Нанопартикл (НП) нь 100 нанометрээс бага хэмжээтэй, янз бүрийн хэлбэр, хэмжээтэй (0D, 1D, 2D, эсвэл 3D) байж болдог.³ Нанопартиклыг нийлэгжүүлэхэд хими, физикийн аргууд ашигладгаас сүүлийн жилүүдэд байгальд ээлтэй, аюулгүй, нийлэгжүүлэхэд хялбар химийн арга тэр дундаа ногоон нийлэгжүүлэлтийн арга нь анхаарлын төвд ороод байна.⁴ НП-ын найрлагад нь биологийн идэвхтэй үйлдэлтэй нэгдлүүдээр (метал ион болон оксид – цайр, зэс, алт, мөнгө гэх мэт) нийлэгжүүлэн авч (биоидэвхт нанопартикл) түүндээ жижиг молекулууд (ДНХ, РНХ, өсөлтийн хүчин зүйлүүд, ургамалын хандын идэвхт нэгдэл гэх

мэт)-ыг тээвэрлэн зорилтод газар ямар ч хэлбэрээр хүргэх боломжийг өгдгөөрөө давуу талтай.⁵

Цайрын оксид (ZnO) нь бактерийн эсийн гадаргуутай харилцан үйлчлэлцэх үед H_2O_2 (устөрөгчийн хэт исэл), $\text{OH}^\bullet$ (гидроксил радикал), $\text{O}_2^\bullet$ (супероксид радикал) зэрэг хүчилтөрөгчийн чөлөөт радикалууд үүсч, эсийн мембраныг гэмтээдэг, цайрын ион нь эсэд хуримтлагдаж, уургийн нийлэгжилт болон ДНХ-г гэмтээснээр өсөлт, хуваагдлыг саатуулдгаараа бактерийн эсрэг нөлөө үзүүлдэг. Мөн антиоксидант, чихрийн шижин, хорт хавдар, үрэвсэл, вирусийн эсрэг нөлөөтэй, шарх эдгэрэлтийг дэмжих үйлдэлтэй байна.^{6,7,8}

Монгол орны Төв, Хангай, Хэнтий, Дундад халх, Дорнод зэрэг бүс бүслүүрийн тариалангийн талбай, зам дагуу, хот суурин газраар элбэг ургадаг хоёр гэрт халгайн (*Urtica dioica* L.) спиртэн ханданд агуулагдах биоидэвхт нэгдлүүдээс флавоноид болон фенолт нэгдлүүд илүү их хэмжээтэй хандлагддаг байна. Эдгээр нь бактерийн эсийн мембраны фосфолипидийн давхаргыг гэмтээж, мембраны нүхжилт (permeabilization) үүсгэж, осмос даралтыг алдагдуулж бактерийн эсийн хуваагдлыг саатуулснаар эсийн задралыг өдөөдөг. Мөн реактив хүчилтөрөгчийн хэлбэрүүд (РОС) үүсгэж

бактерийн эсийн мембраныг гэмтээдэг байна.⁹ Флавоноидууд нь бактерийн эсийн амьдрахад шаардлагатай каталаза, супероксид дисмутаза (SOD) зэрэг энзимийг дарангуйлах нөлөө үзүүлдэг.^{10,11}

Иймд бид орчин үеийн био нанотехнологийг ашигласан ногоон нийлэгжүүлэлтийн аргыг ашиглан цайрын оксидын нанопартиклыг бие махбодод олон төрлийн ашигтай үйлдэл үзүүлдэг Монгол оронд элбэг ургадаг эмийн ургамлын хандыг агуулсан байдлаар цайрыг оксидын нанопартиклын биоидэвхт шинж чанарыг нь нэмэгдүүлэн гарган авч, түүний шинж чанарыг тогтоон цаашид эмчилгээнд ашиглагдахуйц шинэ материал гарган авах нь бидний судалгааны ажлын үндэслэл боллоо.

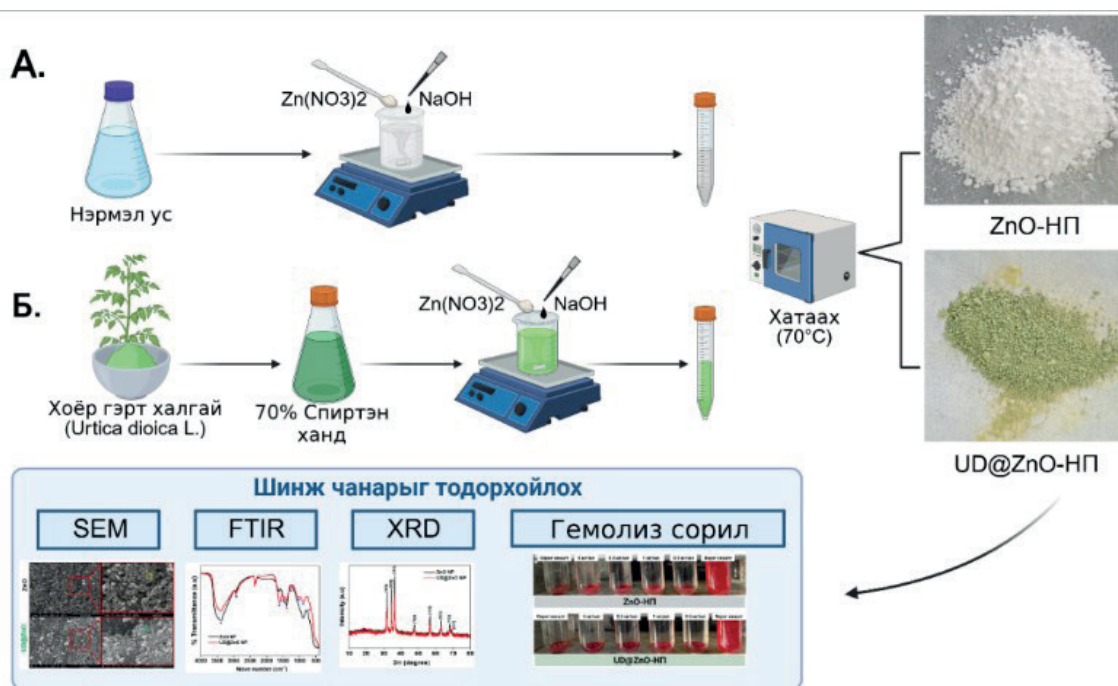
Зорилго: ZnO-дод суурилсан хоёр гэрт халгайн (*Urtica dioica* L. - UD) хандтай, цайрыноксидын үйлчилгээг нэмэгдүүлсэн давхар үйлдэлтэй нанопартикл (НП) гарган авах, тодорхойлох

Судалгааны ажлын арга, аргачлал: Энэхүү судалгааны ажлыг туршилт судалгааны загвараар, АШУҮИС-ийн Био-Анагаахын сургуулийн Биохимийн тэнхимийн сургалт судалгааны лаборатори, Био-Анагаахын хүрээлэн, ШУА-ын Физик Технологийн Хүрээлэнг

түшиглэн хийв. Судалгаандаа ZnO-НП-ыг (хяналтын бүлэг) болон Халгайн хандтай ZnO-НП (UD-ZnO-НП) болох туршилтын бүлгүүдийг харьцуулан судлав.

Zn(NO₃)₂ -н уусмалыг бэлтгэн, 1M NaOH уусмалаар pH сул шүлтлэг болтол титрлэсний дараагаар өрөөний температурт 48 цаг автомат холигчоор хутгасан. В. 1:20 харьцаагаар бэлтгэсэн 50% спиртэн UD-н хандан уусмал дээр Zn(NO₃)₂ -н уусмалыг бэлтгэн, 1M NaOH уусмалаар , pH сул шүлтлэг болтол титрлэсний дараагаар мөн адил өрөөний температурт 48 цаг хутгасан. НП бэлэн болсны дараагаар центрфугийн тусламжтай НП-г цуглуулан авч 60°C-н хатаах шүүгээнд 24 цаг хатаан цаашдын туршилтандаа ашигласан. **(Зураг 1-т үзүүлэв)**

Гарган авсан НП-н морфолог бүтэц, хэмжээг скан электрон микроскопоор (SEM), химийн холбоог Фурье хувиргалттай нил улаан туяаны спектроскопигоор (FTIR), талст бүтцийг Рентген дифракц-ын (XRD) багаж ашиглан тодорхойлов. Цусны улаан эс задлах идэвхийг тодорхойлсон. Үр дүнгийн статистик боловсруулалтыг GraphPad програм ашиглан нанопартиклын дундаж хэмжээг болон XRD, FTIR үр дүнг боловсруулан график болгон тодорхойлов.

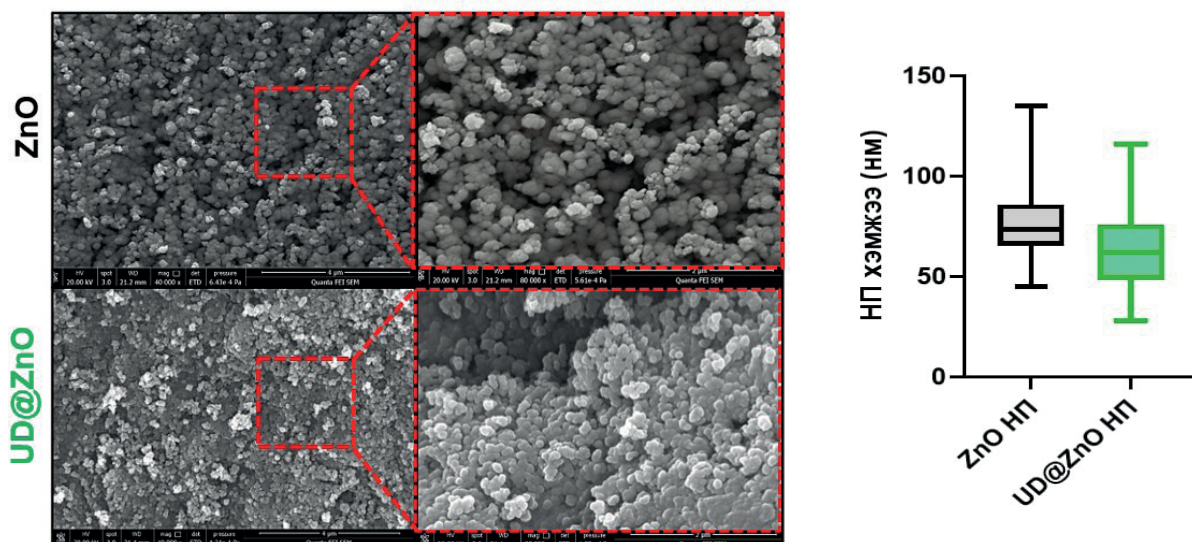


Зураг 1. Судалгааны арга аргачлалын ерөнхий бүдүүвч зураглал.

А. $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ -н уусмалыг бэлтгэн, 1М NaOH уусмалаар рН сул шүлтлэг болтол титрлэсний дараагаар өрөөний температурт 48 цаг автомат холигчоор хутгасан. В. 1:20 харьцаагаар бэлтгэсэн 50% спиртэн UD-н хандан уусмал дээр $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ -н уусмалыг бэлтгэн, 1М NaOH уусмалаар, рН сул шүлтлэг болтол титрлэсний дараагаар мөн адил өрөөний температурт 48 цаг хутгасан. НП бэлэн болсны дараагаар центрифугийн тусламжтай НП-г цуглуулан авч 60°C -н хатаах шүүгээнд 24 цаг хатаан цаашдын туршилтандаа ашигласан. Зургийн баруун буланд гарган авсан НП-уудын бодит зургаар үзүүлэв.

Үр дүн: Нийлэгжүүлэн гарган авсан ZnO -НП болох хяналтын бүлэг болон Халгайн хандтай ZnO -НП (UD-ZnO -НП) болох туршилтын бүлгүүдийн морфологи

хэлбэрийг харьцуулан электрон микроскопоор шалгахад хоёр бүлэг нэгэн жигд бөмбөлөг хэлбэртэй, гадаргуу нь жигд нүхжилтгүй, дунджаар 100 нм-с бага (хяналтын бүлэг дунджаар 77 нм, туршилтын бүлэг 63 нм) байгаа байлаа (**Зураг 2**). Химийн холбоог FTIR (Fourier Transform Infrared - shimadzu-IR Prestige 21, Герман) ашиглан тодорхойлоход хяналтын бүлэг болох ZnO -НП нь $550\text{--}3385\text{ см}^{-1}$, туршилтын бүлэг болох UD-ZnO -НП $669\text{--}3396\text{ см}^{-1}$ хүртэлх спектрийн мужид суналтын хэлбэлзэл үзүүлсэн бөгөөд UD (халгайн ханд) агуулсан туршилтын бүлэгт нэмэлт суналтын хэлбэлзэл үзүүлж байв (**Зураг 3.А**). Мөн хяналтын болон туршилтын бүлгүүдийн талст бүтцийг XRD ашиглан харьцуулан анализ хийж үзэхэд хоёр бүлэгт 31.7°



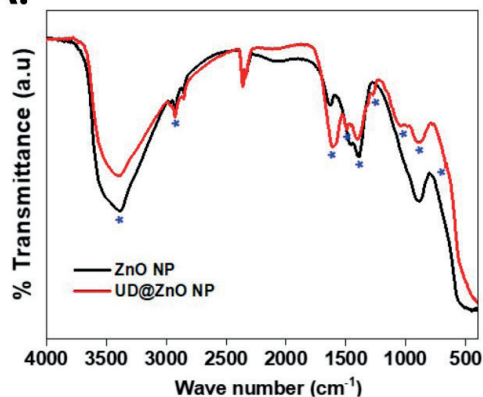
Зураг 2. ZnO-НП болон UD-ZnO-НП морфолог бүтэц болон хэмжээ

4 мкм ба 2 мкм хэмжээнд татаж авсан SEM-ын зургаар хяналтын болон туршилтын бүлгүүдийг харуулав. Хоёр бүлгийн хувьд жигд, бөмбөлөг хэлбэртэй, гадаргуу нүхжилтгүй жигд хараглаа. 2 мкм хэмжээнд авсан зурган дээр ImageJ програм ашиглан НП-уудын хэмжээг гарган графикаар үзүүлэв. Scale bar 4 & 2 μm .

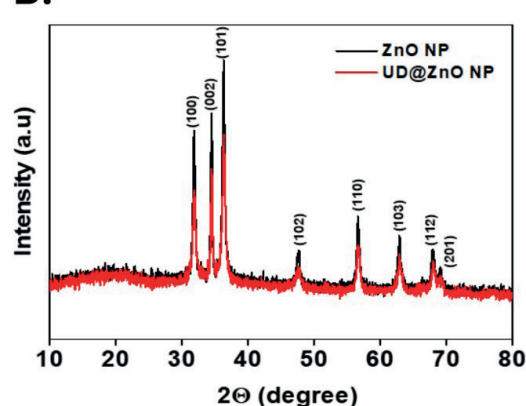
(100), 34.4° (002), 36.2° (101), 47.5° (102), 56.6° (110), 62.8° (103), 67.9° (112), 69.1° (201)-т оргил цэгүүдтэй

судлагдлаа (Зураг 3.В). Хяналтын болон туршилтын бүлгүүдийн эсэд үзүүлэх хоруу чанарыг судлах зорилгоор цусны улаан эс задлах идэвхийг цусны улаан эсийн оксигемоглобины шингээлтээр тодорхойлоход хоёр бүлэг 0,5-2.5 мг/мл хүртэлх концентрацид 5%-иас бага үзүүлэлт үзүүлсэн. Харин 5мг/мл концентрацид (хэт өндөр тун) хяналтын бүлэг цус задлах идэвх 11% байсан бол туршилтын бүлэг 8%-ийн идэвх үзүүлж байлаа (Зураг 3.С).

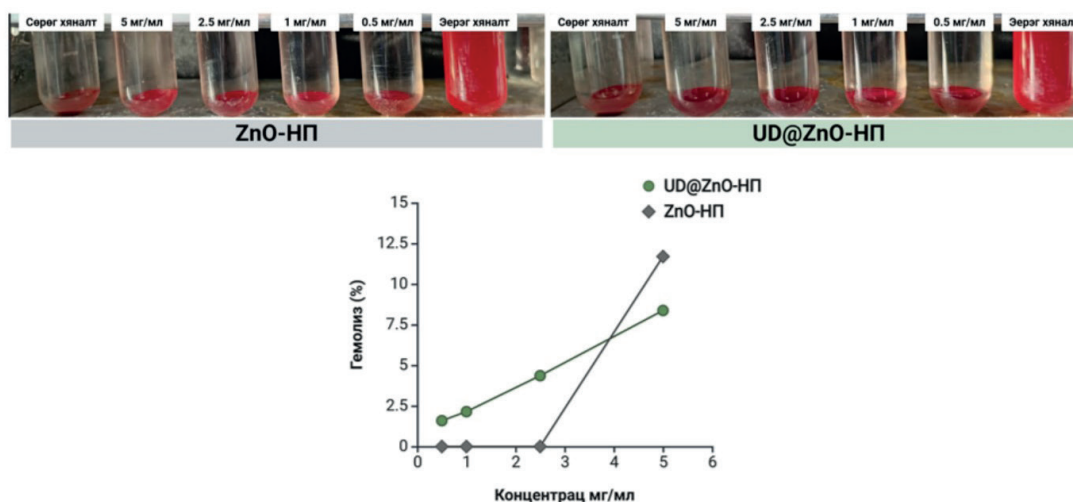
A.



B.



С.



Зураг 3. Нанопартиклын шинж чанарыг тодорхойлсон дүн

А.Химийн холбоог FTIR аргаар тодорхойлсон дүн. Хяналтын болон туршилтын бүлгүүдийг харьцуулахад ижил хэлбэлзэл үзүүлсэн бөгөөд хяналтын бүлэгт нэмэлт хэлбэлзэл судлагдсан. В. Талст бүтцийг XRD аргаар тодорхойлоход хоёр бүлгийн хооронд ялгаа судлагдаагүй болно. С. Эсэд үзүүлэх хоруу чанарыг цусны улаан эс задлах идэвхээр үнэлсэн үр дүн.

Хэлцэмж: Бидний судалгаагаар нийлэгжүүлсэн ZnO-НП болон UD-ZnO-НП-ийн морфолог бүтэц бөмбөрцөг хэлбэртэй, хяналтын бүлэг ZnO-НП-ын дундаж хэмжээ 63 нм, туршилтын бүлэг болох UD-ZnO-НП-ынх 77 нм судлагдсан нь бусад судлаачдын Khalil нарын 2020 оны судалгаагаанд бионийлэгжүүлэлтийн аргаар гарган авсан ZnO-НП 50-90 нм хэмжээтэй, бөмбөрцөг хэлбэртэй болохыг тогтоосон нь манай судалгаатай нийцэж байлаа.¹² ZnO-НП-г 7-150 нм хүртэл нийлэгжүүлэн гарган авч болох бөгөөд энэ нь нийлэгжүүлэх арга, урвалж бодис, температур, болон бусад нөхцлөөс хамаардаг байна.^{13,14,15}

ZnO-НП болон UD-ZnO-НП-ийг ногоон нийлэгжүүлэлтийн аргаар гарган авч, тэдгээрийн химийн холбоо, функционал бүлгүүдийг FTIR ашиглан тодорхойлоход Zn-O холбоо нь ZnO-НП-д 669.3 см^{-1} , харин UD@ZnO-НП-д 550 см^{-1} рүү шилжсэн, ургамлын ханд дахь биоидэвхт нэгдлүүдийг илтгэх химийн холбоо илэрсэн нь O-H, N-H 3282 см^{-1} , C-H

2928 см^{-1} , 2855 см^{-1} , C=O 1720 см^{-1} , C=C 1608 , 1516 см^{-1} , C-N 1381 см^{-1} , C-O 1250 , 1033 см^{-1} суналтын хэлбэлзэл илэрсэн нь ZnO-НП-н гадаргуутай халгайн ханд харилцан үйлчлэлцэж, химийн холбоо үүсгэснийг илтгэж эдгээр нь олон улсын судалгаануудтай нийцэж байлаа.^{16,17} Туршилтыг бүлэг болох UD-ZnO-НП-ын XRD шинжилгээний үр дүнг бусад судалгаатай харьцуулан авч үзэхэд манай судалгааны үр дүнгээр ZnO-ийн зургаан өнцөгт бүтцийг илэрхийлэх 31.7° (100), 34.4° (002), 36.2° (101), 47.5° (102), 56.6° (110), 62.8° (103), 67.9° (112), 69.1° (201) зэрэг тодорхой оргилууд ажиглагдсан нь ZnO-НП-ын стандарт бүтэцтэй (JCPDS №36-1451) нийцэж байна. Энэхүү үр дүн нь Rajeswari Rathnasamy нарын 2017 онд хийсэн судалгаагаар Carica парауа навчны хандаар нийлэгжүүлсэн ZnO нанопартикл мөн адил 31.7° , 34.4° , 36.2° зэрэг оргилууд тод ажиглагдаж, зургаан өнцөгт ZnO-ийн цэвэр талст бүтэц үүссэнийг нотолсон байдаг.^{18,19}

Ebrahimian нарын 2021 онд хийсэн судалгаагаар XRD-ийн үр дүнд 31.78° , 34.49° , 36.28° , 47.61° , 56.60° , 62.96° , 68.03° , 69.14° (2θ) зэрэг хүчтэй тодорхой оргилууд харагдсан бөгөөд эдгээр нь тус тус (100), (002), (101), (102), (110), (103), (201), (004) талстын хавтгайнуудтай тохирч байгаа нь UD-ZnO-НП амжилттай үүссэнийг баталлаа. Эдгээр оргилууд нь ZnO-НП-н зургаан өнцөгт (hexagonal wurtzite) бүтцийг илтгэж байгаа бөгөөд энэ нь Joint Committee on Powder Diffraction Standards (JCPDS №36-1451) болох стандарт лавлах утгатай ижил байлаа.. Ийнхүү, UD-ZnO-НП-ын XRD шинжилгээний үр дүн нь бусад судалгааны үр дүнтэй нийцэж байгаа ба фитохимийн нэгдлүүд нь нанопартиклын бүтцийг бага зэрэг өөрчилдөг ч үндсэн талст бүтцэд мэдэгдэхүйц өөрчлөлт оруулдаггүй болохыг баталж байна.

Халгайн хандыг агуулсан (*Urtica dioica* L.) ZnO-НП-ыг фибробласт болон MCF-7 шугаман эсэд үзүүлэх эс хордуулах нөлөөг судалсан байсан нь бидний цусны улаан эс задлах идэвхийг үзсэн 5–200 мкг/мл тунгаар тодорхойлоход 200 мкг/мл хүртэлх концентрацуудад цус задлах идэвх 5%-иас бага байсантай дүйж байлаа. Энэ нь олон улсын стандартын дагуу “гемотоксикомжтой” буюу цусны эсэд хор хөнөөлгүй гэсэн үр дүн гарсан байсан.^{16,18}

Дүгнэлт: Ногоон нийлэгжүүлэлтийн аргаар 63-77 нм хэмжээтэй бөмбөлөг хэлбэртэй, гадаргуу жигд, нүхжилтгүй ZnO-НП (хяналтын бүлэг) болон UD-ZnO-НП (туршилтын бүлэг)-г гарган авав. Гарган авсан хоёр бүлгийг харьцуулан судлахад талст бүтэц, химийн холбоо нь бүтцийн хувьд ижил байсан бөгөөд нэмэлтээр ургамлын хандны биоидэвхт нэгдлийг илтгэх химийн холбоо UD-ZnO-НП-д тодорхойлогдлоо. Цусны улаан эс задлах идэвхийг тодорхойлоход тунгийн хэмжээнээс хамааралтайгаар

эсэд үзүүлэх хоруу чанар ихсэж байгаа нь энэхүү материалыг цаашид нарийн анализ (ион ялгаруулах байдал, биологийн буюу энзиматик задрал, гадаргууд химийн нэгдэл холбогдох байдал түүнийг ялгаруулах хурд зэрэг) хийж шинж чанарыг бүрэн тогтоон *in vitro*, *in vivo* туршилтаар шалган баталгаажуулж монголд ургадаг эмийн ургамал агуулсан, хоруу чанар багатай, биед хуримтлагддаггүй, олон дахин хэрэглэх давтамжгүй багатай шинэ эмчилгээний бүтээгдэхүүн гарган авах судалгааны эхлэл болж байгаа нь манай судалгааны онцлог юм.

Талархал: Энэхүү судалгааг хийж гүйцэтгэхэд дэмжлэг, туслалцаа үзүүлсэн АШУҮИС-ийн БАС-ийн Биохимийн тэнхимийн эрхэм багш нар, Био-Анагаахын хүрээлэнгийн эсийн биологийн лабораторийн судлаач М.Бадмаараг, ШУА-ийн Физик Технологийн Хүрээлэнгийн хамт олон болон үргэлж тусалж, дэмждэг гэр бүл, найз нөхөддөө талархал илэрхийлье. Бидний судалгаанд санхүүжилт олгосон Био-Анагаахын сургуульдаа гүн талархал илэрхийлж байна.

Ном зүй

1. Ferreira MT, Soldado E, Borsoi G, Mendes MP, Flores-Colen I. Nanomaterials Applied in the Construction Sector: Environmental, Human Health, and Economic Indicators. *Appl Sci.* 2023;13(23). doi:10.3390/app132312896
2. Ward B. *Development, Synthesis and Characterization of Multifunctional Nanomaterials.*; 2014. https://www.researchgate.net/profile/Ward-Brullot/publication/263723744_Development_synthesis_and_characterization_of_multifunctional_nanomaterials/links/0f31753bbff1c9014b000000/Development-synthesis-and-characterization-of-multifunctional-

- nanomaterials.
3. Khan I, Saeed K, Khan I. Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. *Arab J Chem*. 2019;12(7):908-931. doi:10.1016/j.arabjc.2017.05.011
 4. Li M, Xia W, Khoong YM, et al. Smart and versatile biomaterials for cutaneous wound healing. *Biomater Res*. 2023;27(1). doi:10.1186/s40824-023-00426-2
 5. Singh MP, Shabir S, Deopa AS, et al. Synthesis of Green Engineered Silver Nanoparticles through *Urtica dioica*: An Inhibition of Microbes and Alleviation of Cellular and Organismal Toxicity in *Drosophila melanogaster*. *Antibiotics*. 2022;11(12). doi:10.3390/antibiotics11121690
 6. Bhardwaj B, Singh P, Kumar A, Kumar S, Budhwar V. Eco-friendly greener synthesis of nanoparticles. *Adv Pharm Bull*. 2020;10(4):566-576. doi:10.34172/apb.2020.067
 7. Alhujaily M, Albukhaty S, Yusuf M, et al. Recent Advances in Plant-Mediated Zinc Oxide Nanoparticles with Their Significant Biomedical Properties. *Bioengineering*. 2022;9(10). doi:10.3390/bioengineering9100541
 8. Tsou TC, Yeh SC, Tsai FY, et al. Zinc oxide particles induce inflammatory responses in vascular endothelial cells via NF- κ B signaling. *J Hazard Mater*. 2010;183(1-3):182-188. doi:10.1016/j.jhazmat.2010.07.010
 9. Semwal P, Rauf A, Olatunde A, et al. The medicinal chemistry of *Urtica dioica* L.: from preliminary evidence to clinical studies supporting its neuroprotective activity. *Nat Products Bioprospect*. 2023;13(1). doi:10.1007/s13659-023-00380-5
 10. Devkota HP, Paudel KR, Khanal S, et al. Stinging Nettle (*Urtica dioica* L.): Nutritional Composition, Bioactive Compounds, and Food Functional Properties. *Molecules*. 2022;27(16). doi:10.3390/molecules27165219
 11. Grauso L, de Falco B, Lanzotti V, Motti R. Stinging nettle, *Urtica dioica* L.: botanical, phytochemical and pharmacological overview. *Phytochem Rev*. 2020;19(6):1341-1377. doi:10.1007/s11101-020-09680-x
 12. Shabir S, Sehgal A, Dutta J, et al. Therapeutic Potential of Green-Engineered ZnO Nanoparticles on Rotenone-Exposed *D. melanogaster* (Oregon R+): Unveiling Ameliorated Biochemical, Cellular, and Behavioral Parameters. *Antioxidants*. 2023;12(9). doi:10.3390/antiox12091679
 13. Mayekar J. A REVIEW ON THE PLANT MEDIATED SYNTHESIS OF ZINC OXIDE NANOPARTICLES. Vol 12.; 2024. www.ijcrt.orgwww.ijcrt.org
 14. Akhtar MJ, Ahamed M, Kumar S, Majeed Khan MA, Ahmad J, Alrokayan SA. Zinc oxide nanoparticles selectively induce apoptosis in human cancer cells through reactive oxygen species. *Int J Nanomedicine*. 2012;7:845-857. doi:10.2147/IJN.S29129
 15. Pushpalatha C, Suresh J, Gayathri VS, et al. Zinc Oxide Nanoparticles: A Review on Its Applications in Dentistry. *Front Bioeng Biotechnol*. 2022;10(May):1-9. doi:10.3389/fbioe.2022.917990

ABSTRACT

TO SYNTHESISE DUAL-ACTION NANOPARTICLES (NPS) BY INTEGRATING ZNO WITH THE EXTRACT OF URTICA DIOICA L. AND TO CHARACTERISE

B. Otgonbayar¹, S. Oyungerel², S. Chimegsaihan², E. Javsandulam², B. Khulan², B. Altantsetseg², B. Mandakh-Erdene², S. Oyun-Erdene³, N. Suvd⁴, B. Tumenbayar²

Background: The synthesis of multifunctional nanoparticles by integrating the bioactive properties of the ethanol extract of *Urtica dioica* L. a medicinal plant widely distributed in Mongolia, with zinc oxide nanoparticles (ZnO-NP) serves as the foundation of the present study. The aim is to produce nanoparticles with synergistic antioxidant, anti-inflammatory, antibacterial, and anticancer activities.

Objective: To synthesise dual-action nanoparticles (NPs) by integrating ZnO with the extract of *Urtica dioica* L. and to characterise their properties.

Materials and Methods: The Control group, as ZnO-NPs, and the study group, as medicinal plant ethanol extraction loaded nanoparticles (UD-ZnO-NPs), were synthesised using green synthesis techniques. The morphology and particle size were characterised by Scanning Electron Microscopy (SEM), chemical bonding was analysed using Fourier-Transform Infrared Spectroscopy (FTIR), and crystalline structure was examined by X-ray Diffraction (XRD). Hemolytic activity assays were conducted to assess cytotoxicity.

Results: The Control and study group's morphology and size distribution were uniform and spherical. The average particle size of the study group (UD-ZnO-NPs) was 63 nm, while the control group (ZnO-NPs) was 77 nm. FTIR analysis

showed that the basic chemical bonds in both types of nanoparticles were similar; however, additional peaks corresponding to the bioactive compounds from the *Urtica dioica* extract were detected in the UD-ZnO-NPs. XRD analysis revealed that both types of ZnO-NPs investigated the same crystalline structure, consistent with the standard reference data (JCPDS No. 36-1451). Hemolysis assays showed that at concentrations ranging from 0.5 to 2.5 mg/mL, the hemolytic activity was below 5%, indicating low cytotoxicity.

Conclusion: ZnO-NPs with and without *Urtica dioica* extract were successfully synthesized via a green method, yielding spherical, uniformly dispersed particles ranging from 63 to 77 nm in size. While the structural and crystalline characteristics of the NPs remained consistent, the presence of bioactive compounds was confirmed in the UD-ZnO-NPs. Hemolytic assays indicated dose-dependent cytotoxicity, highlighting the importance of concentration in biomedical applications.

Keywords: Green synthesis, bioactive compound, characterization, plant extract, zinc oxide