

Green Synthesis of Cadmium Sulfide Quantum Dots from Nerium Oleander Leaves Extract and Detection of Its Antibacterial Effects Onsome Gram- Negative and Gram- Positive Bacteria

Arman Rostamzad^{1*}, Pegah Pourbabaei¹, Azar Abasi², Mehdi Omid³

1. Department of Biology, Faculty of Sciences, Ilam University, Ilam, Iran.

2. Laboratory Expert, Ilam University, Ilam, Iran.

3. Department of Mathematics, Faculty of Sciences, Ilam University, Ilam, Iran.

Received: November 07, 2022; Accepted: February 25, 2023

Abstract

Background and Aim: The distribution of multiple-drug resistance among pathogenic bacteria is an increasing serious problem for medicine and the pharmaceutical industry. The aim of this study was to evaluate the antibacterial effects of green synthesized Cadmium Sulfide Quantum dots (CdS QDs) using Nerium oleander leaves extract, due to its anti- cancer and anti- inflammatory effects, on some gram negative and gram positive bacteria.

Methods: In this experimental study, the green synthesis of Cadmium Sulfide quantum dots was carried out using Nerium oleander leaves extract, which were collected from mountains around Ilam city, using three different methods including: ultrasonic (15 minutes at 37°C), microwave (15 minutes under 300W radiation), and flotation (soaking in water 3 days in Balloon packed). Then, dehydrated Cadmium acetate and Sulfide sodium were added. After that, the antibacterial effect of supernatant of different synthetic QDs were evaluated on *E.coli* ATCC 25922, *Salmonella enterica* ATCC 14028, *S.aureus* ATCC 25923, and clinical isolates of *Bacillus cereus* using disc diffusion method on Muller Hinton agar, and those were compared with ceftazidime (30µg), chloramphenicol (30µg), penicillin (10µg), and imipenem (10µg). Also, Mean and standard deviation were used for descriptive analysis, and U- mann- whitney test was used to compare variables.

Results: The antibacterial effects of Cadmium sulfide quantum dots prepared by ultrasonic, microwave and flotation methods were stronger than ceftazidime, chloramphenicol and penicillin, while their antimicrobial effects were less than imipenem. The means effects and standard deviation of ceftazidime were respectively attained 11.50 ± 1.9 , for chloramphenicol and for imipenem attained 13.2 ± 1.5 , 27.75 ± 2.2 , respectively ($P < 0.05$).

Conclusion: It seems that the aqueous and methanolic extracts of cadmium sulfide quantum dots have had strong antibacterial effects and this effect had a direct relation with the concentrations of aqueous and methanolic extract of QDs, so if they won't have any side effects, they can be used as alternatives for antibiotics.

Keywords: Quantum dots; Green synthesis; antibacterial effects; *Nerium oleander*; antibiotic resistance

Please cite this article as: Rostamzad A, Pourbabaei P, Abasi A, Omid M. Green Synthesis of Cadmium Sulfide Quantum Dots from Nerium Oleander Leaves Extract and Detection of Its Antibacterial Effects Onsome Gram- Negative and Gram- Positive Bacteria. *Pejouhesh dar Pezeshki*. 2023;47(2):62-74.

*Corresponding Author: Arman Rostamzad; Email: a.rostamzad@ilam.ac.ir
Department of Biology, Faculty of Sciences, Ilam University, Ilam, Iran.

بررسی خاصیت آنتی باکتریال نقاط کوانتومی کادمیم سولفید سنتز شده به روش سبز از عصاره برگ گیاه خرزهره علیه برخی از باکتری های گرم مثبت و گرم منفی

آرمان رستمزاد^{۱*}، پگاه پور بابایی^۱، آذر عباسی^۲، مهدی امیدی^۳

۱- گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران.

۲- کارشناس آزمایشگاه، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران.

۳- گروه ریاضی دانشکده علوم پایه، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۸/۱۶

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۲/۰۶

چکیده

سابقه و هدف: گسترش مقاومت چند دارویی در میان باکتری های بیماری زا مشکلی جدی و فزاینده در پزشکی و صنعت داروسازی است. هدف از این مطالعه، ارزیابی اثر آنتی باکتریال نقاط کوانتومی کادمیم سولفید سنتز شده به روش سبز با استفاده از عصاره برگ گیاه خرزهره با توجه به داشتن خاصیت ضد التهابی و ضد سرطانی آن، علیه برخی باکتری های گرم مثبت و گرم منفی بود.

روش کار: در این مطالعه تجربی، سنتز سبز نقاط کوانتومی کادمیم سولفید، با استفاده از عصاره برگ گیاه خرزهره، جمع آوری شده از کوه های اطراف ایلام، به سه روش اولتراسونیک (۱۵ دقیقه در ۴۵ درجه سانتی گراد) و مایکروویو (۱۵ دقیقه تحت تابش ۳۰۰ وات) و خیساندن (نگهداری سه روز در بالن دربسته)، انجام شد، سپس کادمیم استات دهیدراته و سدیم سولفید اضافه و اثرات ضد باکتریایی مایع رویی بر باکتری های پاتوژن /شریشیاکلی ATCC25922، سالمونلا /انتریکا ATCC14028، استافیلوکوکوس /اورئوس ATCC25923 و نمونه بالینی باسیلوس سرئوس بر محیط کشت مولر هینتون آگار (MHA) و با روش دیسک دیفیوژن به صورت دو بار تکرار ارزیابی و با آنتی بیوتیک های سفنازیدیم (۳۰ میکروگرم)، کلرامفنیکل (۳۰ میکروگرم)، پنی سیلین (۱۰ میکروگرم)، ایمی پنم (۱۰ میکروگرم) مقایسه شد. همچنین از میانگین، انحراف معیار برای تحلیل توصیفی و از آزمون من-یو-ویتی برای بررسی اختلاف معناداری میان متغیرها استفاده شد.

یافته ها: اثر آنتی باکتریال نقاط کوانتومی کادمیم سولفید تهیه شده از روش های اولتراسونیک، مایکروویو و خیساندن، قوی تر از آنتی بیوتیک های سفنازیدیم، کلرامفنیکل و پنی سیلین بود، درحالی که اثر ضد میکروبی آنها کمتر از ایمی پنم بود میانگین و انحراف معیار اثر آنتی باکتریال سفنازیدیم به ترتیب $1/9 \pm 11/50$ ، کلرامفنیکل $1/5 \pm 13/2$ برای پنی سیلین $2/2 \pm 27/75$ به دست آمد ($P < 0/05$).

نتیجه گیری: به نظر می رسد که محلول آبی و متانولی نقاط کوانتومی کادمیم سولفید دارای خاصیت آنتی باکتریال قوی بود و این خاصیت با افزایش غلظت محلول های آبی و متانولی نقاط کوانتومی رابطه مستقیم و بنابراین در صورت نداشتن عوارض جانبی می تواند آلترناتیوی برای آنتی بیوتیک ها باشند.

واژگان کلیدی: نقاط کوانتومی؛ سنتز سبز؛ اثر ضد باکتریایی؛ گیاه خرزهره؛ مقاومت آنتی بیوتیکی

به این مقاله، به صورت زیر استناد کنید:

Rostamzad A, Pourbabaei P, Abasi A, Omidi M. Green Synthesis of Cadmium Sulfide Quantum Dots from *Nerium Oleander* Leaves Extract and Detection of Its Antibacterial Effects Onsome Gram- Negative and Gram- Positive Bacteria. *Pejouhesh dar Pezeshki*. 2023;47(2):62-74.

*نویسنده مسئول مکاتبات: آرمان رستمزاد؛ آدرس پست الکترونیکی: a.rostamzad@ilam.ac.ir

گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران.

مقدمه

یکی از بزرگ‌ترین تهدیدهایی که امروزه بشر با آن مواجه است، مقاومت ضد میکروبی (Antibiotic resistance) است (۱). باکتری‌های مقاوم به طور چشمگیری شایع‌تر، بدخیم‌تر و متنوع‌تر شده‌اند. دلیل افزایش مقاومت این باکتری‌ها را می‌توان مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها بدون توجه به شکل یا ضرورت آنها دانست؛ از نتایج مقاومت ضد میکروبی درمان نکردن عفونت‌هاست که سبب شدیدتر شدن و طولانی‌تر شدن دوره بیماری‌ها می‌شود و افزایش مرگ را به دنبال دارد (۲). با توجه به مقاومت آنتی‌بیوتیکی و گسترش آن، درمان عفونت‌های باکتریایی موضوع مهمی است (۳). نانوتکنولوژی راه‌حلی مفید برای حل مسئله مقاومت باکتریایی به آنتی‌بیوتیک‌هاست. نانوذرات به سطح باکتری متصل می‌شوند و با پاره کردن دیواره سلولی، مرگ سلول را در پی دارند (۴). نانوذرات دارای ویژگی‌های منحصر به فردی از جمله سطح بزرگ، پایداری، استحکام مکانیکی و نقطه ذوب پایین هستند که با توجه به این ویژگی‌ها در کاربردهای بالینی مانند دارورسانی، مهار بیوفيلم و درمان عفونت‌های میکروبی بسیار مناسب و سازگار هستند (۵). یکی از دلایل مناسب بودن آنها برای حامل دارویی، ویژگی آب‌گریز بودن آنهاست (۶). فعالیت ضد میکروبی نانوذرات را به طور احتمالی می‌توان این‌گونه ذکر کرد: (۱) تولید بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن در داخل میکروب‌ها، (۲) با آسیب رساندن به غشاهای پلاسمایی باعث اختلال در آنزیم‌های حیاتی در زنجیره تنفسی می‌گردند، (۳) تجمع یون‌های فلزی در غشاهای میکروبی (۴) جاذبه الکترواستاتیکی بین سلول‌های میکروبی و نانوذرات که سبب اختلال در فعالیت‌های متابولیکی می‌شود (۵) با افزایش تولید H_2O_2 سبب مهار شدن آنزیم‌ها و پروتئین‌های میکروبی می‌شود (۷). برای سنتز نانوذرات از روش‌های فیزیکی و شیمیایی استفاده می‌شود (۸). از تکنیک‌های مختلفی برای تهیه نانوذرات به روش‌های فیزیکی و شیمیایی استفاده می‌شود که می‌توان به طور مثال از سایش

لیزری (Laser ablation)، آسیاب مکانیکی و رسوب شیمیایی (Chemical deposition) نام برد (۹). روش‌های فیزیکی و شیمیایی دارای تأثیر مخرب و هزینه‌های بالایی هستند (۱۰). یکی دیگر از روش‌های سنتز نانوذرات روش‌های بیولوژیکی است که به دلیل منبع‌های سازگار با محیط‌زیست، پایین و مناسب بودن هزینه و بهره‌وری آسان برای خلوص بالا این روش ترجیح داده می‌شود. در این روش نانوذرات از موجودات زیستی مانند باکتری‌ها، قارچ‌ها، جلبک‌ها، مخمرها، اکتینومیسیت‌ها و عصاره‌های گیاهی به دست می‌آیند (۸). در این مطالعه از عصاره گیاهی برگ گیاه خرزهره نریم (*Nerium oleander*) که با نام خرزهره شناخته شده و درختچه‌ای سبز و سمی است استفاده شد (۱۱، ۱۲). این گیاه یکی از گیاهان بومی منطقه حوزه مدیترانه است و در سراسر این حوزه به صورت خودرو رشد می‌کند. این گیاه تنها گونه از جنس نریم در خانواده آپوسیناسه (Apocynaceae) است (۱۳). قلمرو گیاهان این خانواده به عنوان یکی از متنوع‌ترین خانواده گیاهان دارویی شناخته شده‌اند (۱۴). در یک غربالگری فیتوشیمیایی نشان داده شده که گیاه خرزهره نریم دارای آلکالوئیدها، فلاونوئیدها، کربوهیدرات‌ها، تانن‌ها، فنول‌ها، ساپونین‌ها، کاردنولیدها، گلیکوزیدهای قلبی، پرگنان‌ها، تری‌ترپنوئیدها، تری‌ترین‌ها و استروئیدها است (۱۵). از آثار گزارش شده فارماکولوژیکی گیاه، می‌توان از فعالیت‌های ضد دردی، ضد التهاب و ضد سرطانی گیاه نام برد (۱۶). علاوه بر فعالیت ضد سرطانی و ضد التهابی عصاره گیاه خرزهره در مطالعه ای که توسط سبزعلی و همکاران در ایلام انجام شد، خاصیت آنتی باکتریال عصاره هیدروالکلی این گیاه بر باکتری‌های گرم مثبت به اثبات رسیده است. از این‌رو از عصاره گیاه خرزهره در ساخت نقاط کوانتومی در این پژوهش استفاده شده است (۱۷). هدف از این مطالعه بررسی اثر ضد میکروبی نقاط کوانتومی کادمیم سولفید تولید شده از عصاره آبی و متانولی برگ گیاه خرزهره بر باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی بود.

روش کار

جمع‌آوری و تهیه نمونه:

در این مطالعه تجربی، برگ‌های گیاه خرزهره در تابستان سال ۱۴۰۰ از کوه‌های اطراف شهر ایلام جمع‌آوری شد و در سایه بدون رطوبت و نور آفتاب قرار گرفت، تا خشک شود. برگ گیاه خشک شده به وسیله آسیاب برقی پودر شد و با روش‌های اولتراسونیک، مایکروویو، خیساندن، عصاره آبی و متانولی تهیه شد. در هر سه روش عصاره‌گیری، ۵ گرم از پودر گیاه خرزهره به درون ۲۰۰ میلی‌لیتر از حلال‌های مورد نظر به طور جداگانه اضافه شد و به ترتیب در روش‌های اولتراسونیک و مایکروویو و نمونه‌ها درون دستگاه اولتراسونیک (Bandelin Sonorex Digitec) به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد و در دستگاه مایکروویو (Milestone) به مدت ۱۵ دقیقه تحت تابش با توان ۳۰۰ وات قرار گرفتند و در روش خیساندن حلال‌های مورد نظر را به مدت سه روز در بالن دربسته شده توسط پارافین در محیط استریل و به دور از نور و رطوبت نگهداری شدند (۱۷-۱۹). در انتهای هر سه روش عصاره‌گیری، عصاره را صاف‌کرده و در ارن استریل دربسته شده با پارافین و در محیطی غیرقابل نفوذ به هوا و نور در یخچال قرار داده شد. برای حلال‌های مورد استفاده، عصاره آبی از آب مقطر دیونیزه و برای عصاره متانولی از متانول ۸۰ درصد استفاده شد (۱۷-۱۹).

سنتز نقاط کوانتومی کادمیم سولفید با استفاده از عصاره آبی و متانولی:

برای تهیه نقاط کوانتومی کادمیم سولفید، کادمیم استات دهیدراته و سدیم سولفید به عصاره‌های آبی و متانولی اضافه شد. در آزمایشگاه شیمی برای به‌دست‌آوردن غلظت‌ها و نسبت‌های اپتیمم؛ کادمیم استات دهیدراته و سدیم سولفید، میزان ۰/۱ مولار کادمیم استات دهیدراته و ۰/۱ مولار سدیم سولفید را به ۲۰ میلی‌لیتر عصاره‌های گیاهی آبی و متانولی اضافه شد. در نهایت برای عصاره آبی و متانولی شش میلی‌لیتر کادمیم استات دهیدراته ۰/۱ مولار و دو میلی‌لیتر سدیم سولفید ۰/۱ مولار به‌عنوان غلظت‌های اپتیمم در نظر گرفته شد (۱۸).

تعیین اثر ضد میکروبی در غلظت‌های مختلف با روش انتشار چاهک:

برای تعیین اثر آنتی‌باکتریال نقاط کوانتومی سنتز شده، از باکتری‌های پاتوژن /شریشیاکلاسی ATCC25922، /استافیلوکوکوس اورئوس ATCC25923 و /سالمونلا /تیریکا ATCC14028 و نمونه بالینی *باسیلوس سرئوس* که در مرکز تحقیقات میکروبیولوژی در آزمایشگاه مرکزی دانشگاه ایلام موجود بود، استفاده شد. ابتدا رقت‌های سریالی ۱، $\frac{1}{2}$ ، $\frac{1}{4}$ ، $\frac{1}{8}$ از محلول‌های کوانتومی سنتز شده، تهیه شد، سپس یک کلنی از کشت ۲۴ ساعته باکتری‌های نام برده شده در محیط تریپتیکاز سوی براث (Merck Germany) تلقیح و به مدت یک شبانه‌روز در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد و در ادامه کدورت آنها به معادل استاندارد نیم مک فارلند رسید؛ را بر روی پلیت‌های حاوی محیط کشت مولر هینتون آگار (Merck Germany) کشت داده و به وسیله پیت پاستور، چاهک‌هایی با فاصله منظم در سطح محیط ایجاد، ۵۰ میکرولیتر از غلظت‌های تهیه شده محلول‌های نقاط کوانتومی افزوده شد و بعد از گذشت ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به وسیله خط‌کش، میزان هاله عدم رشد باکتری‌ها اندازه‌گیری شد. ذکر این نکته لازم است که تمامی مراحل به صورت دو بار تکرار (Duplicate) انجام و میانگین نتایج به‌صورت نتیجه نهایی ثبت شد (۱۹).

تعیین حساسیت سویه‌های میکروبی به آنتی‌بیوتیک‌ها:

بررسی حساسیت نمونه‌ها با استفاده از دیسک‌های سفنازیدیم (۳۰ میکروگرم)، کلرامفنیکل (۳۰ میکروگرم)، ایمی پنم (۱۰ میکروگرم) و پنی‌سیلین (۱۰ میکروگرم) (Mast, Merseyside, United Kingdom) بر اساس استاندارد CLSI به روش انتشار دیسک (Kirby Bauer Method) انجام شد. سوسپانسیون باکتری‌ها به کدورت معادل نیم مک فارلند رسانده شدند و بعد از کشت باکتری‌ها روی محیط مولر هینتون آگار، دیسک‌ها با فاصله‌های معین قرار داده شدند و پلیت‌ها در انکوباتور ۳۷ درجه به مدت ۲۴ ساعت نیز قرار گرفتند و نتایج

حاصل از هاله عدم رشد این آنتی بیوتیک‌ها با هاله عدم رشد ناشی از نقاط کوانتومی باهم ارزیابی شدند (۱۹).

اندازه‌گیری حداقل غلظت ممانعت‌کننده رشد باکتری‌ها (MIC):

در این روش از میکروپلیت‌های ۹۶ خانه‌ای الیزا استفاده شد. در چاهک اول مقدار ۲۰۰ میکرولیتر محیط کشت TSB مایع به عنوان کنترل منفی، در چاهک دوم علاوه بر محیط کشت به میزان ۱۸۰ میکرولیتر، به میزان ۲۰ میکرولیتر باکتری با غلظت معادل ۰/۵ مک فارلند و در چاهک‌های بعدی علاوه بر محیط کشت و باکتری غلظت‌های سریالی نقاط کوانتومی به اندازه ۱۰۰ میکرولیتر به چاهک‌ها اضافه شد و بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، اولین غلظتی که در آن رشد باکتری متوقف شده بود (فاقد کدورت بود) به‌عنوان MIC در نظر گرفته شد. ذکر این نکته لازم است که تمامی مراحل تعیین MIC به‌صورت دو بار تکرار برای هر غلظت انجام شد (۲۰).

اندازه‌گیری حداقل غلظت کشندگی (MBC):

از چاهکی که به‌عنوان MIC مشخص شد، از دو غلظت مابعد آن روی محیط کشت مولر هینتون آگار کشت داده شد و برای ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. کم‌ترین غلظتی که در آن باکتری رشد نکرده به‌عنوان حداقل غلظت کشندگی MBC در نظر گرفته می‌شود (۲۰).

آنالیز آماری داده‌ها:

برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS (version 22) استفاده شد و با توجه به کم بودن تعداد نمونه‌ها از آزمون ناپارامتری یو-من-ویتنی (Mann Withney-U) استفاده گردید.

یافته‌ها

به طور معمول تشکیل نانوذرات به روش بیولوژیک به دو صورت تأیید می‌شود: اول، هنگام تشکیل نانوذرات، تغییر رنگ محلول کلئیدی اتفاق می‌افتد که ناشی از احیای فلزات به وسیله بیومولکول‌هایی همچون اسیدهای آمینه، آلدهیدها، آلکالوئیدها، فلاونوئیدها، کتون‌ها و پروتئین‌ها است که در این مطالعه، نشر

نور کادمیوم سولفید آبی رنگ شد. دوم، تعیین شکل و اندازه نانوذرات تشکیل شده با استفاده از میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) است که این نقاط کوانتومی سنتز شده دارای شکل کروی و اندازه ۱۰ نانومتر بودند که این نتایج با بررسی انجام شده توسط میکروسکوپ الکترونی دانشگاه تهران به دست آمد. نتایج به‌دست‌آمده از بررسی خاصیت آنتی‌باکتریال نقاط کوانتومی کادمیوم سولفید سنتز شده در محلول آبی و متانولی به روش اولتراسونیک، مایکروویو، خیساندن، در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌های سفنازیدیم (۳۰ میکروگرم)، کلرامفنیکل (۳۰ میکروگرم)، پنی‌سیلین (۱۰ میکروگرم) و ایمی‌پنم (۱۰ میکروگرم) به شرح زیر است:

روش اولتراسونیک:

بیشترین اثر میکروب‌کشی نقطه کوانتومی تهیه شده در محلول آبی روی *باسیلوس سرئوس* (۲۰ میلی‌متر) و کمترین اثر روی *استافیلوکوکوس اورئوس* (۱۶ میلی‌متر) بود، بیشترین اثر آنتی‌باکتریال نقطه کوانتومی تهیه شده در محلول متانولی روی *باسیلوس سرئوس* (۲۲ میلی‌متر) و کمترین اثر روی *استافیلوکوکوس اورئوس* (۱۷ میلی‌متر) بود (جدول ۱).

روش مایکروویو:

بیشترین تأثیر نقطه کوانتومی تهیه شده در محلول آبی روی *باسیلوس سرئوس* (۱۹ میلی‌متر) و کمترین تأثیر روی *اشریشیاکلی* (۱۶ میلی‌متر) و بیشترین تأثیر نقطه کوانتومی محلول متانولی روی باکتری‌های، *باسیلوس سرئوس* و *سالمونلا انتریکا* (۲۰ میلی‌متر) و کمترین تأثیر را روی *استافیلوکوکوس اورئوس* به میزان (۱۴ میلی‌متر) داشت (جدول ۱).

روش خیساندن:

بیشترین تأثیر نقطه کوانتومی محلول آبی بر باکتری *اشریشیاکلی* (۲۲ میلی‌متر)، و کمترین اثر بر *سالمونلا انتریکا* (۱۸ میلی‌متر)، در حالی که بیشترین تأثیر نقطه کوانتومی محلول متانولی بر *سالمونلا انتریکا* (۲۷ میلی‌متر) و کمترین اثر را بر *استافیلوکوکوس اورئوس* به میزان (۱۵ میلی‌متر) داشت (جدول ۱). بر اساس p-مقدارهای به‌دست آمده روش Q.D در ماکروویو با آنتی‌بیوتیک کلرامفنیکل و روش خیساندن محلول

متانولی (Q.D) با ایمی پنم اختلاف معناداری نداشتند ($P > 0.05$)، برای سایر روش‌ها اختلاف معنادار وجود دارد ($P \leq 0.05$). علاوه بر این، میانگین و انحراف معیار اثر

آنتی‌باکتریال سفتازیدیم به ترتیب ۱۱/۵۰ و ۱/۹۱۵، کلرامفنیکل ۱۳/۲۵ و ۱/۵۰ و برای پنی‌سیلین ۲۷/۷۵ و ۲/۲۱۷ به دست آمد.

جدول ۱- بررسی فعالیت آنتی‌باکتریال نقاط کوانتومی تهیه شده به سه روش مختلف اولتراسونیک، مایکروویو و خیساندن، در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌ها (قطر هاله عدم رشد باکتری‌ها بر حسب میلی‌متر)

اشریشیاکلی	استافیلوکوکوس اورئوس	باسیلوس سرئوس	سالمونلا انتریکا	انحراف معیار	میانگین	P-مقدار
روش اولتراسونیک						
محلول آبی (Q.D)	۱۹	۱۶	۲۰	۱۸	۱۷/۷۰۸	۰/۰۲۰*
روش اولتراسونیک						
محلول متانولی (Q.D)	۱۹	۱۷	۲۲	۱۹	۲/۰۶۲	۰/۰۱۹*
روش مایکروویو						
محلول آبی (Q.D)	۱۶	۱۷	۱۹	۱۷	۱/۲۵۸	۰/۰۱۹*
روش مایکروویو						
محلول متانولی (Q.D)	۱۶	۱۴	۲۰	۲۰	۳/۰۰۰	۰/۰۲۷*
روش خیساندن						
محلول آبی (Q.D)	۲۲	۲۰	۲۱	۱۸	۱/۷۰۸	۰/۰۲۰*
روش خیساندن						
محلول متانولی (Q.D)	۱۹	۱۵	۲۰	۲۷	۴/۹۹۲	۰/۰۲۸*
سفتازیدیم	۱۰	۱۰	۱۴	۱۲	۱/۹۱۵	۱۱/۵۰
کلرامفنیکل	۱۴	۱۲	۱۲	۱۵	۱/۵۰	۱۳/۲۵
پنی‌سیلین	-	-	-	-	-	-
ایمی پنم	۲۵	۲۳	۲۷	۲۸	۲۵/۷۵	-

*: معناداری در سطح ۵ درصد

در هر سه روش اولتراسونیک، مایکروویو و خیساندن عصاره آبی و متانولی گیاه خرزهره خاصیت آنتی‌باکتریال نداشتند، اما نقاط کوانتومی کادمیم سولفید دارای خاصیت آنتی‌باکتریال بودند (شکل ۱). تأثیر نقطه کوانتومی در محلول‌های آبی و متانولی بر باکتری‌ها در روش‌های اولتراسونیک، مایکروویو و خیساندن کمتر از آنتی‌بیوتیک ایمی‌پنم (۱۰ میکروگرم) بود (جدول ۲).

نتایج بررسی مقایسه خاصیت آنتی‌باکتریال عصاره گیاهی آبی و متانولی خرزهره با محلول آبی و متانولی نقاط کوانتومی سنتز شده کادمیم سولفید به روش‌های اولتراسونیک، مایکروویو و خیساندن با دیسک آنتی‌بیوگرام ایمی‌پنم (۱۰ میکروگرم) به این صورت بود:

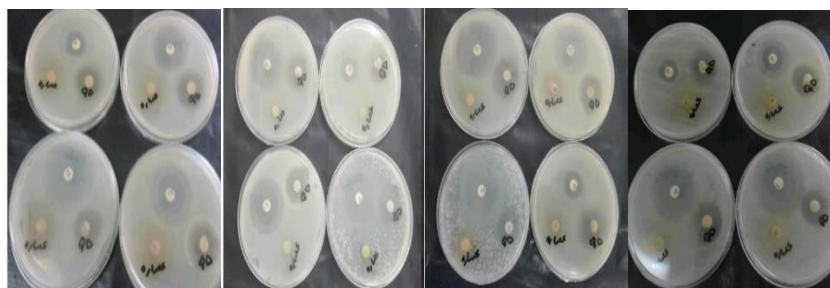
بر اساس p -مقادیرهای به‌دست آمده در مقایسه روش‌ها با آنتی‌بیوتیک ای‌می‌پنم تنها روش Q.D MS در خیساندن اختلاف معناداری با آنتی‌بیوتیک IMP ندارد ($P > 0.05$), برای سایر روش‌ها اختلاف معناداری وجود دارد ($P < 0.05$).

جدول ۲- بررسی خاصیت آنتی‌باکتریال نقاط کوانتومی آبی و متانولی در مقایسه با آنتی‌بیوتیک ای‌می‌پنم (بر حسب میلی‌متر)

اشریشیاکلی	استافیلوکوکوس اورئوس	باسیلوس سرئوس	سالمونلا انتریکا	انحراف معیار	میانگین	p- مقدار
روش اولتراسونیک (Q.D AS)	۱۹	۱۶	۲۰	۱۸	۱/۷۰۸	۱۸/۲۵
روش اولتراسونیک (Q.D MS)	۱۹	۱۷	۲۲	۱۹	۲/۰۶۲	۱۹/۲۵
روش اولتراسونیک (AE)	-	-	-	-	-	-
روش اولتراسونیک (ME)	-	-	-	-	-	-
روش مایکروویو (Q.D AS)	۱۶	۱۷	۱۹	۱۷	۱/۲۵۸	۱۷/۲۵
روش مایکروویو (Q.D MS)	۱۶	۱۴	۲۰	۲۰	۳/۰۰۰	۱۷/۵
روش مایکروویو (AE)	-	-	-	-	-	-
روش مایکروویو (ME)	-	-	-	-	-	-
روش خیساندن (Q.D AS)	۲۲	۲۰	۲۱	۱۸	۱/۷۰۸	۲۰/۲۵
روش خیساندن (Q.D MS)	۱۹	۱۵	۲۰	۲۷	۴/۹۹۲	۲۰/۲۵
روش خیساندن (AE)	-	-	-	-	-	-
روش خیساندن (ME)	-	-	-	-	-	-
آنتی بیوتیک ای‌می‌پنم	۲۵	۲۳	۲۷	۲۸	۲/۲۱۷	۲۵/۷۵

*: معناداری در سطح ۵ درصد

محلول آبی کوانتومی دات = QDAS، عصاره آبی = AE، ای‌می‌پنم = IMP، محلول متانولی کوانتومی دات = QDMS، عصاره متانولی = ME



شکل ۱- مقایسه هاله عدم رشد باکتری در محلول‌های کوانتومی آبی و متانولی و عصاره گیاهی و ای‌می‌پنم در هر سه روش اولتراسونیک، مایکروویو، خیساندن

در همه روش‌ها در محلول‌های کوانتومی آبی و متانولی با افزایش غلظت، تأثیر بر باکتری‌های مورد نظر افزایش یافت. در واقع افزایش غلظت با افزایش قدرت ضد میکروبی رابطه مستقیم داشت (جدول ۳ و ۴).

نتایج بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف محلول‌های آبی و کوانتومی کادمیم سولفید سنتز شده به روش‌های اولتراسونیک، مایکروویو و خیساندن بر بازدارندگی باکتری‌ها:

جدول ۳- ارزیابی اثر آنتی‌باکتریال کوانتوم دات تهیه شده در محلول آبی در غلظت‌های مختلف (بر حسب میلی‌متر)

غلظت	اشریشیاکلی	استافیلوکوکوس اورئوس	باسیلوس سرئوس	سالمونلا انتریکا	میانگین	انحراف معیار
۱ (Q.D AS)	۱۷	۲۰	۲۰	۲۱	۱۹/۵۰	۱/۷۳۲
۱/۲ (Q.D AS)	۱۱	۱۵	۱۷	۱۶	۱۴/۷۵	۲/۶۳
۱/۴ (Q.D AS)	۸	۱۱	۱۰	۸	۹/۲۵	۱/۵۰
۱/۸ (Q.D AS)	۷	۷	۹	-	۷/۶۶۷	۱/۱۵۵
۱ (Q.D AS)	۱۵	۲۴	۱۹	۱۷	۱۸/۷۵	۳/۸۶۲
۱/۲ (Q.D AS)	۱۴	۱۷	۱۷	۱۴	۱۵/۵۰	۱/۷۳۲
۱/۴ (Q.D AS)	۱۰	۱۴	۱۵	۸	۱۱/۷۵	۳/۳۰۴
۱/۸ (Q.D AS)	۶	۱۰	۹	۷	۸/۰۰	۱/۸۲۶
۱ (Q.D AS)	۱۷	۲۰	۱۹	۲۲	۱۹/۵۰	۲/۰۸۱
۱/۲ (Q.D AS)	۱۴	۱۶	۱۵	۱۶	۱۵/۲۵	۰/۹۵۷
۱/۴ (Q.D AS)	۱۱	۱۰	۱۲	۱۲	۱۱/۲۵	۰/۹۵۷
۱/۸ (Q.D AS)	-	-	۹	۷	۸/۰۰	۱/۴۱۴

جدول ۴- ارزیابی اثر آنتی‌باکتریال کوانتوم دات تهیه شده در محلول متانولی در غلظت‌های مختلف (بر حسب میلی‌متر)

غلظت	اشریشیاکلی	استافیلوکوکوس اورئوس	باسیلوس سرئوس	سالمونلا انتریکا	میانگین	انحراف معیار
۱ (Q.D MS)	۱۸	۱۷	۱۴	۱۸	۱۶/۷۵	۱/۸۹۳
۱/۲ (Q.D MS)	۱۵	۱۴	۱۱	۱۶	۱۴/۰۰	۲/۱۶۰
۱/۴ (Q.D MS)	۱۱	۱۳	۱۰	۱۲	۱۱/۵۰	۱/۲۹۱
۱/۸ (Q.D MS)	۹	۱۱	۷	۱۰	۹/۲۵	۱/۷۰۸
۱ (Q.D MS)	۱۵	۱۶	۱۸	۱۸	۱۶/۷۵	۱/۵۰
۱/۲ (Q.D MS)	۱۴	۱۲	۱۷	۱۷	۱۵/۰۰	۲/۴۵۰

غلظت	اشریشیاکلی	استافیلوکوکوس اورئوس	باسیلوس سرئوس	سالمونلا انتریکا	میانگین	انحراف معیار
$\frac{1}{4}$	۱۳	۱۰	۱۴	۱۶	۱۳/۲۵	۲/۵۰
$\frac{1}{8}$	۱۰	۸	۱۲	۱۱	۱۰/۲۵	۱/۷۰۸
۱	۱۸	۱۶	۱۹	۱۷	۱۷/۵۰	۱/۲۹۱
$\frac{1}{2}$	۱۶	۱۴	۱۶	۱۵	۱۵/۲۵	۰/۹۵۷
$\frac{1}{4}$	۱۲	۱۱	۱۲	۸	۱۰/۷۵	۱/۸۹۳
$\frac{1}{8}$	۱۰	۶	۷	-	۷/۶۶۷	۲/۰۸۱

تعیین حداقل غلظت بازدارندگی از رشد (MIC):

میزان MIC محلول‌های متانولی و آبی کوانتومی سنتز شده به روش اولتراسونیک، مایکروویو، خیساندن در جدول ۵ آمده است.

جدول ۵- MIC باکتری‌ها در محلول‌های کوانتومی آبی و متانولی در هر سه روش اولتراسونیک، مایکروویو، خیساندن (بر حسب میلی گرم در میلی لیتر)

اشریشیاکلی	استافیلوکوکوس اورئوس	باسیلوس سرئوس	سالمونلا انتریکا	میانگین	انحراف معیار
روش اولتراسونیک (Q.D AS)	۰/۰۰۳۱۲	۰/۰۰۳۱۲	۰/۰۰۶۲۵	۰/۰۰۳۹۰	۰/۰۰۱۵۷
روش اولتراسونیک (Q.D MS)	۰/۰۰۶۲۵	۰/۰۰۳۱۲	۰/۰۰۳۱۲	۰/۰۰۳۹۰	۰/۰۰۱۵۷
روش مایکروویو (Q.D AS)	۰/۰۰۶۲۵	۰/۰۰۳۱۲	۰/۰۰۶۲۵	۰/۰۰۴۶۹	۰/۰۰۱۸۱
روش مایکروویو (Q.D MS)	۰/۰۰۳۱۲	۰/۰۰۱۵۶	۰/۰۰۳۱۲	۰/۰۰۲۳۴	۰/۰۰۰۹۰
روش خیساندن (Q.D AS)	۰/۰۰۶۲۵	۰/۰۰۳۱۲	۰/۰۰۱۵۶	۰/۰۰۲۸۰	۰/۰۰۲۵۸
روش خیساندن (Q.D MS)	۰/۰۰۳۱۲	۰/۰۰۱۵۶	۰/۰۰۳۱۲	۰/۰۰۲۳۴	۰/۰۰۰۹۰

نتایج مقایسه اثر آنتی‌باکتریال نقاط کوانتومی نشان داد که اختلاف معناداری میان روش‌های بررسی شده با همدیگر وجود ندارد ($P > 0.05$).

بحث

نتایج ما نشان داد که اثر آنتی‌باکتریال نانو ذرات مورد مطالعه، بیشتر از سفتازیدیم و کلرامفنیکل و پنی‌سیلین بود، اما نسبت به ایمی‌پنم قدرت کشندگی کمتری بر باکتری‌های مورد مطالعه داشتند. امروزه مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها در باکتری‌ها به یکی از اصلی‌ترین چالش‌ها در حوزه پزشکی تبدیل شده است. به دلیل عفونت‌های ناشی از باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها سالانه بیش از ۷۰۰۰۰۰ مرگ‌ومیر رخ می‌دهد (۲۱). با این افزایش

چشمگیر و هشداردهنده مقاومت آنتی‌بیوتیکی نیاز ضروری و فوری به استراتژی‌های درمانی جایگزین برای مقابله با باکتری‌های همیشه در حال تغییر اجتناب ناپذیر است (۲۲). پیشرفت‌های حاصل شده در علم نانو، سبب کاربردهای گسترده از نانوذرات در حوزه‌های مختلف علوم شده است (۲۳). سنتز نانوذرات سبز دارای سازگاری زیستی و عوامل ضد میکروبی نیز هستند. خواص ذاتی نانوذرات آنها را به یک ماده چندمنظوره کاربردی تبدیل کرده است (۲۴). در این مطالعه بررسی خاصیت آنتی‌باکتریال سنتز سبز نقاط کوانتومی کادمیم سولفید تهیه

شده از عصاره‌های آبی و متانولی گیاه خرزهره به سه روش اولتراسونیک، مایکروویو، خیساندن به عمل آمد. نانوذرات کادمیم سولفید (CdSNp) به دلیل داشتن شکل و اندازه خاص خود در زمینه‌های حسگرهای زیستی، نانو پزشکی، آسیب‌شناسی مولکولی و فعالیت‌های ضد میکروبی بسیار مورد توجه هستند (Irshad, B. ۲۵). و همکارش با روش سنتز سبز نانوذرات کادمیم سولفید با عصاره *Panicum Sarmentosum* به بررسی خاصیت ضد باکتریایی علیه باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *شریشیاکلی* پرداختند. این محققان نتیجه گرفتند که روش‌های سازگار با محیط‌زیست، نانوذرات ساده و آسان و با هزینه‌ای مناسب‌تر از روش‌های شیمیایی و فیزیکی تولید می‌کنند و همچنین توانایی خاصیت ضد باکتریایی نیز داشتند، اما خاصیت آنتی‌باکتریال این نانو ذرات کمتر از خاصیت آنتی‌باکتریال تهیه شده در این مطالعه بود (۲۶). Mohammad Oves و همکارانش برای بررسی تأثیر سنتز سبز نانوذرات نقره بر فعالیت ضد میکروبی و ضد سرطانی از عصاره میوه آبی *ConocarpusLancifolius* استفاده کردند؛ نتایج آنها نشان داد که نانوذرات نقره روی سطح باکتری‌ها عمل کرده و از رشد آنها جلوگیری می‌کنند و منجر به مرگ سلول‌های باکتریایی می‌شوند و همچنین دارای اثر ضد تکثیر در رده سلولی سرطان پستان MDA-MB-231 با القای آپوپتوز هستند که نشان‌دهنده جایگزین مناسبی برای درمان سرطان پستان انسان دارند (۲۷). K.Kombaiah و همکارانش نانوذرات فریت کبالت را به روش سنتز سبز از عصاره گیاه بامیه تهیه کردند. بر اساس آنالیز مغناطیس‌سنج نمونه ارتعاشی، دریافتند نانوذرات سنتز شده فعالیت ضد میکروبی عالی در برابر باکتری‌ها و سوبه‌های قارچی دارند، که این اثر آنتی‌باکتریال با نتایج حاصل از این پژوهش همخوانی دارد (۲۸). در این مطالعه ما خاصیت آنتی‌باکتریال محلول کوانتوم دات کادمیم سولفید با عصاره آبی و متانولی گیاه خرزهره بر باکتری‌های گرم مثبت (*استافیلوکوکوس اورئوس*، *باسیلوس سرئوس*) و باکتری‌های گرم منفی (*شریشیاکلی*، *سالمونلا انتریکا*) و مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌های سفنازیدیم (۳۰) میکروگرم، کلرامفنیکل (۳۰) میکروگرم، پنی‌سیلین (۱۰) میکروگرم و ایمپنم (۱۰) میکروگرم بررسی کردیم که نتایج نشان دادند محلول سنتز شده سبز کادمیوم سولفید دارای

خاصیت آنتی‌باکتریال بود. Nurul. Y و همکارانش فعالیت ضد باکتریایی نانوذرات اکسید روی را بر باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *شریشیاکلی* بررسی کردند. نتایج نشان داد که ناحیه بازدارندگی نانوذرات اکسید روی برای *استافیلوکوکوس اورئوس* ۱۶ میلی‌متر و برای *شریشیاکلی* ۱۳ میلی‌متر بود. این نتیجه اشاره به آن دارد که باکتری گرم مثبت نسبت به باکتری گرم منفی حساس‌تر است، در حالی‌که در مطالعه حاضر، اثر آنتی‌باکتریال نقاط کوانتومی تهیه شده به روش‌های اولتراسونیک و خیساندن بسیار بیشتر بود (۲۹). صدیقه خدادی و همکارانش در بررسی خواص ضد باکتریایی سنتز سبز نانوذرات نقره با استفاده از عصاره *Vaccinium Arctostaphylos* به این نتیجه رسیدند که نانوذرات خواص ضد باکتریایی بیشتری برای باکتری‌های گرم مثبت (*باسیلوس سویتی لیس* و *استافیلوکوکوس اورئوس*) نسبت به باکتری‌های گرم منفی (*شریشیاکلی* و *سالمونلا انتریکا*) داشتند (۳۰). نتایج ما نشان داد که باکتری‌های گرم مثبت (*استافیلوکوکوس اورئوس* و *باسیلوس سرئوس*) نسبت به باکتری‌های گرم منفی (*شریشیاکلی* و *سالمونلا انتریکا*) در برابر محلول‌های آبی و متانولی سنتز شده کادمیوم سولفید دارای حساسیت بیشتری بودند. آنتی‌بیوتیک‌ها با ایجاد آلودگی در محیط‌زیست به شدت بر سلامت انسان‌ها تأثیر گذاشته است (۳۱). صنایع داروسازی پساب‌هایی تولید می‌کنند که حاوی آنتی‌بیوتیک‌های فراوانی است که یکی از مشکلات محیط زیستی برای بهداشت عمومی است؛ در واقع روش تصفیه فاضلاب استفاده شده برای حذف آنتی‌بیوتیک موجود در فاضلاب مناسب نیست؛ زیرا قادر به حذف کامل این آنتی‌بیوتیک‌ها نیست (۳۲). مطالعات نشان داده‌اند که آنتی‌بیوتیک‌ها با ایجاد اختلال در میکروبیوتای روده، سبب تحریک سرطان روده می‌شوند. همچنین با افزایش التهاب مزمن و تغییر دادن متابولیسم طبیعی بافت سبب سمیت ژنتیکی و پاسخ ایمنی شده و منجر به ایجاد اختلال در درمان سرطان می‌شود (۳۳). از طرفی میزان کشف آنتی‌بیوتیک‌های جدید به طور چشمگیری کاهش یافته است. بنا به دلایل یاد شده، جایگزین کردن عوامل ضد باکتریایی تأثیرگذار و جدید از اولویت‌های امروز جامعه پزشکی است. گیاهان منبع مناسبی برای عوامل ضد میکروبی نیز هستند و به دلیل کم‌هزینه و در

وجود گونه‌های مقاوم به چند دارو (Multi drug resistance) و مقاوم به انواع آنتی‌بیوتیک‌ها (Pan drug resistance) گزارش شده است (۳۳، ۳۴) و این نگرانی را در سطح جهانی ایجاد کرده است که بشر باز هم با مرگ‌ومیر وسیع ناشی از گسترش بیماری‌های عفونی در آینده روبه‌رو خواهد شد، بنابراین محققان به دنبال یک آلترناتیو برای آنتی‌بیوتیک‌ها هستند. مطالعه حاضر هم در همین راستا و در پاسخ به این پرسش انجام شده است که آیا نانوذرات و به‌ویژه کوانتوم دات‌هایی که به روش سبز سنتز شده و سازگار با محیط هستند، می‌توانند جایگزین مناسبی برای آنتی‌بیوتیک‌ها باشند؟ هرچند که نقاط کوانتومی مطالعه شده در این بررسی دارای خاصیت آنتی‌باکتریال قوی و به اندازه مناسبی بودند، اما هنوز بررسی اثر جانبی آنها در بدن و مکانیسم احتمالی واکنش آنها با سلول‌ها و بافت‌های بدن انجام نشده است. بنابراین در ادامه این بررسی‌ها انجام چنین پژوهش‌هایی توصیه می‌شود.

نتیجه‌گیری

به نظر می‌رسد که محلول آبی و متانولی نقاط کوانتومی کادمیم سولفید دارای خاصیت آنتی‌باکتریال قوی بود و این خاصیت با افزایش غلظت محلول‌های آبی و متانولی نقاط کوانتومی رابطه مستقیم و بنابراین در صورت نداشتن عوارض جانبی می‌توانند آلترناتیوی برای آنتی‌بیوتیک‌ها باشند.

ملاحظات اخلاقی

این مطالعه، در دانشگاه ایلام بررسی و با کد اخلاق IR.ILAM.REC.1401.007 ثبت شده است.

تعارض منافع

نویسندگان، تعارض منافع را گزارش نکرده‌اند.

دسترس‌بودن آنها، عصاره گیاهی در برابر عوامل بیماری‌زا عملکرد بالایی دارند. همچنین دارای عوارض جانبی شدیدی نیستند (۳۴). باتوجه به مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی ایجاد شده و پیشرو، عوارض جانبی ناشی از استفاده آنها مشکلات زیست‌محیطی و نتایج دریافت شده از این مطالعه، می‌توانیم از عصاره‌های گیاهی که مقرون به صرفه هستند و نقاط کوانتومی تهیه شده به روش سنتز سبز که دارای خاصیت آنتی‌باکتریال قابل‌توجهی هستند به عنوان جایگزینی مناسب برای درمان بیماری‌های میکروبی استفاده کرد. نتایج این مطالعه نشان داد محلول‌های دارای نقاط کوانتومی آبی و متانولی کادمیم سولفید تهیه شده به روش سنتز سبز از عصاره برگ گیاه خرزهره به هر سه روش اولتراسونیک، مایکروویو و خیساندن دارای خاصیت آنتی‌باکتریال بود و با افزایش غلظت محلول‌های کوانتومی آبی و متانولی، افزایش خاصیت آنتی‌باکتریال را به دنبال داشت. محلول‌های کوانتومی آبی و متانولی کادمیم سولفید بر باکتری‌های گرم مثبت (*استافیلوکوکوس اورئوس* و *باسیلوس سرئوس*) تأثیر بازدارندگی بیشتری نسبت به باکتری‌های گرم منفی (*اشریشیا کلی* و *سالمونلا انتریکا*) داشتند. در واقع باکتری‌های گرم مثبت نسبت به محلول کوانتومی کادمیم سولفید حساسیت بیشتری داشتند. عصاره گیاهی بدون نقاط کوانتومی کادمیم سولفید خاصیت آنتی‌باکتریال نداشت. آنچه به عنوان نتیجه‌گیری نهایی از این پژوهش منتج می‌شود این است که در سال‌های اخیر سنتز سبز نقاط کوانتومی به روش‌های مختلف و با استفاده از بیومولکول‌های مختلفی از جمله انواع گونه‌های گیاهی، میوه‌ها؛ دانه‌ها؛ برگ‌ها و حتی میکروب‌ها انجام می‌شود که هرکدام از این اجزای گیاهی و نحوه ساخت آنها و از طرفی شرایط سنتز آنها مثل دما، PH بر اندازه، شکل و ساختار نقاط کوانتومی و حتی فعالیت بیولوژیک آنها تأثیر می‌گذارد (۳۶، ۱۹) از طرفی، این روش در مقایسه با دیگر روش‌های موسوم به فیزیکی و شیمیایی یک روش غیر سمی و دوستدار محیط‌زیست است (۳۶). امروزه محققان حوزه‌های پزشکی، دامپزشکی و میکروبیولوژی بر این باورند که به پایان عصر آنتی‌بیوتیک‌ها رسیده‌ایم و دلیل این نگرانی هم گسترش روزافزون مقاومت آنتی‌بیوتیکی در بین گونه‌های باکتریایی پاتوژن برای انسان و دام است به طوری که در مطالعات مختلف

References

1. Vikesland P, Garner E, Gupta S, Kang S, Maile-Moskowitz A, Zhu N. Differential drivers of antimicrobial resistance across the world. *Accounts of Chemical Research*. 2019; 52(4): 916-924.
2. Regea G. Review on antibiotics resistance and its economic impacts. *J Pharmacol Clin Res*. 2018; 5 (1): 555- 675.
3. Singh A, Gautam P. K, Verma A, Singh V, Shivapriya P. M, Shivalkar S, et al. Green synthesis of metallic nanoparticles as effective alternatives to treat antibiotics resistant bacterial infections: A review. *Biotechnology Reports*. 2020; 25: e00427.
4. Wang L, Hu Ch, Shao L. The antimicrobial activity of nanoparticles: present situation and prospects for the future. *International journal of Nano medicine*. 2017; 12(1): 12-27.
5. Kumar Dikshit P , Kumar J, Das A K, Sadhu S, Sharma S, Singh S, Gupta P K, Kim B S. Green synthesis of metallic nanoparticles: applications and limitations. *Catalysts*. 2021; 11(9):1-30.
6. Lakkim V, Reddy M C , Pallavali R , Reddy K R, Venkata R , Inamuddin A L, Bilgrami A, Lomada D. Green synthesis of silver nanoparticles and evaluation of their antibacterial activity against multidrug-resistant bacteria and wound healing efficacy using a murine model. *Antibiotics* .2020; 9(1): 1-22.
7. Nisar P, Ali N, Rahman L, Ali M, Shinwari Z. K. Antimicrobial activities of biologically synthesized metal nanoparticles: an insight into the mechanism of action. *JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry*. 2019; 24(7): 929-941.
8. Salem S, Fouda A. Green synthesis of metallic nanoparticles and their prospective biotechnological applications: an overview. *Biological Trace Element Research*. 2021; 199(1): 344-370.
9. Saravanan A, SenthilKumar P, Karishma S, Dai-Viet N.V, Jeevanantham S, Yaashikaa P. R, et al. A review on biosynthesis of metal nanoparticles and its environmental applications. *Chemosphere*. 2021; 26(4): 12-18.
10. Srivastava S, Usmani S, Atanasov Z, Atanas G, Vinod K, Nagendra S, Abdel-Azeem P, et al. Biological nanofactories: Using living forms for metal nanoparticle synthesis. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*. 2021; 21(2): 245-265.
11. Abdou R. H, Walaa A, Basha A., Khalil W. F. Sub-acute toxicity of *Nerium oleander* ethanolic extract in mice. *Toxicological research*. 2019; 35(3): 233-239.
12. Giuliano DALL'OLIO, Montecchio Maggiore, Vicenza, Italia. *Nerium Oleander toxicology: an historical review*. *La Rivista Italiana della Medicina di Laboratorio*. 2019; 15(4): 305-312.
13. Lazzaro L, Sarracco E, Benesperi R, Coppi A. A probable anthropic origin of *Nerium oleander* L.(Apocynaceae) population in Montecristo island (Italy, Tuscany): evidence from loci polymorphism and ISSR analysis. *Caryologia*. 2018; 71(1): 50-57.
14. Islam Sh, Akter Lucky, R. A. A study on different plants of Apocynaceae family and their medicinal uses. *J Pharm Res*. 2019; 4(1): 40-44.
15. Esmail, A. Bioactive ingredients and pharmacological effects of *Nerium oleander*. *IOSR Journal of Pharmacy*. 2020; 10(9): 19-32.
16. Farkhondeh T, Kianmehr M, Kazemi T, Samarghandian S, Khazdair M. R. Toxicity effects of *Nerium oleander*, basic and clinical evidence: A comprehensive review. *Human & experimental toxicology*. 2020; 39(6): 773-784.
17. Sabzali S., Bakhteiary S, Rostamzad A, Haghani K. The evaluation antibacterial effects of *Nerium oleander* hydro alcoholic extract. *Yaphteh*. 2012; 14(1): 53-59.
18. Alvand Z. A, Rajabi H. R, Mirzaei A, Masoumias A, Sadatfaraji H. Rapid and green synthesis of cadmium telluride quantum dots with low toxicity based on a plant-mediated approach after microwave and ultrasonic assisted extraction: Synthesis, characterization, biological potentials and comparison study. *Materials Science and Engineering: C*. 2019; 98(1): 535-544.
19. Akbari M, Rahimi-Nasrabadia M, pourmasudc S, Eghbali-Aranic M, Banafshed H. R, Ahmadif F, Ganjalih M.R, Sobhani nasabi A. *Ceramics International*. 2020; 46(1): 1-11.
20. Moradi Alvand Z, Rajabia H R, Mirzaei A, Masoumiasl A, Sadatfarajid H. Rapid and green synthesis of cadmium telluride quantum dots with low toxicity based on a plant-mediated approach after microwave and ultrasonic assisted extraction: Synthesis, characterization, biological potentials and comparison study. *Materials Science & Engineering C*. 2019; 98(1): 535- 544.

21. Gupta A. S, Sarethy I. p, Dang Sh, Gabrani R. Green tea extract: possible mechanism and antibacterial activity on skin pathogens. Food chemistry. 2012; 135(2): 672-675.
22. Nicholas A, John Ch, McKillip L. Antibiotic resistance crisis: Challenges and imperatives. Biologia. 2021; 76(5): 1535-1550.
23. Vasudevan S, Swamy S.S, Kaur G. AdlinePrincy S, Balamurugan P. Synergism between quorum sensing inhibitors and antibiotics: Combating the antibiotic resistance crisis. In: Biotechnological Applications of Quorum Sensing Inhibitors. Springer, Singapore, 2018; 18 (2): 209-225.
24. Adewale S, Aderonke A, Folorunso S, Folorunso F. A, Oyebamiji A. K. Green synthesis of copper oxide nanoparticles for biomedical application and environmental remediation. Heliyon, 2020, 6.7: e04508.
25. Rana A, Yadav K, Jagadevan S. A comprehensive review on green synthesis of nature-inspired metal nanoparticles: Mechanism, application and toxicity. Journal of Cleaner Production. 2020; 27(2): 12-28.
26. Dabhane H, Ghotekar S, Tambade P, Pansambal Sh, AnandaMurthy H. C. Oza R, et al. A review on environmentally benevolent synthesis of CdS nanoparticle and their applications. Environmental Chemistry and Ecotoxicology. 2021; 3(1): 209-219.
27. Haq B, Irshad U, YI Y. S. Green synthesis and antibacterial activity of cadmium sulfide nanoparticles (CdSNPs) using Panicum sarmentosum. Asian Journal of Green Chemistry. 2019; 3(4): 455-469.
28. Oves M, Ahmar M, Rauf M. A, AQari H, Sonbol H, Ahmad I, et al. Green synthesis of silver nanoparticles by ConocarpusLancifolius plant extract and their antimicrobial and anticancer activities. Saudi journal of biological sciences. 2022; 29(1): 460-471.
29. Kombaiah K, Judith J, Vijaya L, John K, Bououdina M, Jothi R. R, Hamad A. A. Okra extract-assisted green synthesis of CoFe₂O₄ nanoparticles and their optical, magnetic, and antimicrobial properties. Materials Chemistry and Physics. 2018; 20(4): 410-419.
30. Nuru A, Ahmad Y, Norashikin M. Z, Norlin P. Synthesis of ZnO nanoparticles with chitosan as stabilizing agent and their antibacterial properties against Gram-positive and Gram-negative bacteria. International journal of biological macromolecules. 2019; 12(4): 1132-1136.
31. Khodadadi S, Mahdinezhad N, Fazeli-Nasab B, Heidari M. J, Fakheri B, Miri A. Investigating the possibility of green synthesis of silver nanoparticles using Vaccinium arctostaphylos extract and evaluating its antibacterial properties. BioMed research international, 2021; 6(4): 1-13.
32. Zheng-Yang L, Yuan-L M, Jiang T. Zh, Nian-Si F, Bao C. H, Ren-Cun J. A critical review of antibiotic removal strategies: Performance and mechanisms. Journal of Water Process Engineering. 2020; 38(1): 10-16.
33. Bao L. P., Chong C. O., Mohamed S. Pau-Loke .S. Jo-S. C, Tau C. L., et al. Conventional and emerging technologies for removal of antibiotics from wastewater. Journal of hazardous materials. 2020; 40(1): 12-29.
34. Yuan G, Qingyao S. H., Wenyu L., Wenxuan G., Alexander S., Ciaran M., et al. Antibiotics for cancer treatment: A double-edged sword. Journal of Cancer. 2020; 11(17): 5-13.
35. Cyrill L. G, Herman Y, Kiselev E. V, Budanova A. A. Zamyatnin, J. R., Larisa N. I. Plant secondary metabolites in the battle of drugs and drug-resistant bacteria: new heroes or worse clones of antibiotics? Antibiotics. 2020; 9(4): 170.
36. Dikshit P.K, Kumar J, Das A, Sadhu S, Sharma S, Singh S, Gupta P.K, Kim B.S. Green Synthesis of Metallic Nanoparticles: Applications and Limitations. Catalist. 2021; 11(2): 1-35.