

Antibacterial Activity and Biofilm Inhibition of Gold Nanoparticles Synthesized with Ethanolic Extract of Rosa damascena and Juglans regia

Batoul Ghavabesh^{1,2},
Mohammad Taheri³,
Razieh Dalirfardouei^{4,2},
Fatemeh Nouri⁵,
Akram Jalali^{4,2}

¹ MSc Student in Medical Biotechnology, School of Advanced Technologies in Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

² Research Center for Molecular Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

³ Assistant Professor, Department of Medical Microbiology, School of Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

⁴ Assistant Professor, Department of Medical Biotechnology, School of Advanced Technologies in Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

⁵ Assistant Professor, Department of Pharmaceutical Biotechnology, School of Pharmacy, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

(Received October 18, 2022 ; Accepted February 14, 2023)

Abstract

Background and purpose: This study aimed at investigating the antibacterial effects of nanoparticles synthesized with ethanol extract of *Rosa damascena* and *Juglans regia* (walnut leaves) against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, and *Acinetobacter baumannii*.

Materials and methods: In this experimental study, gold nanoparticles were synthesized by green method using ethanol extract of *R. damascena* and walnut leaves. Then, inhibition of biofilm formation, minimum growth inhibitory concentration (MIC), and minimum bacterial lethal concentration (MBC) were determined by micro broth dilution method. Also, inhibition of biofilm synthesis by nanoparticles was investigated against methicillin-resistant *S. aureus*, *P. aeruginosa*, and *A. baumannii*.

Results: UV-vis spectroscopy showed that the gold nanoparticles synthesized with the ethanolic extract of *R. damascena* had better quality than the nanoparticles synthesized with the ethanolic extract of walnut leaf in terms of uniformity and ease of synthesis. The greatest effect of gold nanoparticle synthesized with ethanolic extract of *R. damascena* was on bacterial biofilm formed by Methicillin-resistant *S. aureus*, which inhibited the biofilm of this bacteria by 100%.

Conclusion: In this study, nanoparticles synthesized with ethanolic extract of *R. damascena* showed higher antibacterial properties than walnut leaves. These findings can provide the basis for further in vivo studies to identify, quantify and purify its effective compounds.

Keywords: antibacterial effects, walnut leaves, ethanolic extract, *Rosa damascena*, green synthesis

J Mazandaran Univ Med Sci 2023; 33 (219): 1-15 (Persian).

Corresponding Author: Akram Jalali- School of Pharmacy, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran.
(E-mail: akramjalali95@gmail.com)

بررسی فعالیت ضد میکروبی و مهار بیوفیلم نانوذرات طلا ساخته شده با عصاره اتانولی گل محمدی (*Rosa damascene*) و برگ گردو (*Juglans regia*)

بتول غوابش^۱محمد طاهری^۳راضیه دلیر فردویی^۲فاطمه نوری^۵اکرم جلالی^۲

چکیده

سابقه و هدف: این مطالعه با هدف بررسی اثرات آنتی‌باکتریال نانوذرات سنتز شده با عصاره اتانولی گل محمدی و برگ گردو بر علیه *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین، *سودوموناس آئروژینوزا*، *اشریشیا کلی*، *اسینتو باکتر بومانی* می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، نانوذرات طلا به روش سبز و با استفاده از عصاره اتانولی گل محمدی و برگ گردو سنتز شد. سپس مهار تشکیل بیوفیلم و تعیین حداقل غلظت ممانعت‌کنندگی از رشد (MIC) و حداقل غلظت کشندگی باکتری (MBC) با روش میکرو برات دایلوژن مورد بررسی قرار گرفت. هم‌چنین مهار سنتز بیوفیلم توسط نانوذرات، علیه باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین، *سودوموناس آئروژینوزا*، *اسینتو باکتر بومانی*، مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج طیف‌سنجی UV-vis نشان داد که نانوذرات طلا سنتز شده با عصاره اتانولی گل محمدی از جهت یکنواختی و سهولت سنتز نسبت به نانوذرات سنتز شده با عصاره اتانولی برگ گردو دارای کیفیت بهتری بودند. بیش‌ترین اثر نانوذره طلا سنتز شده با عصاره اتانولی گل محمدی بر روی بیوفیلم باکتری (*استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین) است که صد درصد باعث مهار بیوفیلم این باکتری شد.

استنتاج: نتایج این مطالعه نشان داد که در شرایط برون‌تنی نانوذرات سنتز شده با عصاره اتانولی گیاه گل محمدی نسبت به برگ گردو از ویژگی‌های ضد باکتریایی بالاتری برخوردار است. این یافته‌ها می‌تواند زمینه تحقیقات بیش‌تری را در آینده برای شناسایی، تعیین مقدار و تخلیص ترکیبات موثره آن در شرایط درون‌تنی فراهم نماید.

واژه‌های کلیدی: اثرات آنتی‌باکتریال، برگ گردو، عصاره اتانولی، گل محمدی، سنتز سبز

مقدمه

مقاومت باکتریایی به‌طور فزاینده‌ای به یک بحران جدی تبدیل شده است و توسعه نانو مواد ضد باکتریایی می‌تواند یک روش موثر برای مقابله با این مشکل باشد. امروزه به علت وجود مقاومت دارویی، درمان بسیاری از

E-mail: akramjalali95@gmail.com

مؤلف مسئول: اکرم جلالی - همدان: دانشگاه علوم پزشکی همدان، دانشکده داروسازی

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد زیست فناوری پزشکی، دانشکده علوم و فناوری های نوین، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران

۲. مرکز تحقیقات پزشکی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران

۳. استادیار، گروه باکتری شناسی پزشکی، دانشکده علوم پزشکی همدان، همدان، ایران

۴. استادیار، گروه زیست فناوری پزشکی، دانشکده علوم و فناوری های نوین، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران

۵. استادیار، گروه زیست فناوری دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران

© تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۷/۲۶ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۴۰۱/۸/۸ تاریخ تصویب: ۱۴۰۱/۱۱/۲۵

بیماری‌های باکتریایی دچار مشکل شده است. بر همین اساس کشف راه‌های جدید برای مبارزه با این پاتوژن‌ها حائز اهمیت است.

استافیلوکوکوس اورئوس یک باکتری گرم مثبت می‌باشد. یکی از عوامل عمده عفونت‌های کسب شده از بیمارستان و جامعه می‌باشد که نشان‌دهنده بار قابل توجه بر سیستم بهداشت و درمان است. این باکتری عامل عفونت‌های مختلف با نتایج کاملاً متنوع شامل عفونت‌های حاد از قبیل باکتری می و آبه‌های پوستی و عفونت‌های مزمن با تشکیل بیوفیلم همراه هستند که *استافیلوکوکوس اورئوس* می‌تواند بر روی بافت‌های میزبان مانند دریچه‌های قلب و استخوان، متصل شود و تداوم داشته باشد که به ترتیب باعث آندوکاردیت و استئومیلیت می‌شود هم‌چنین می‌تواند بر روی دستگاه‌های پزشکی داخل بدن مانند کاتترها و مفاصل مصنوعی نیز کلونیزه شود (۱). از باکتری‌های بیماری‌زای رایج عامل ایجاد انواع عفونت‌ها می‌توان به *سودوموناس آئروژینوزا* اشاره نمود این باکتری یک باسیل گرم منفی هوازی است که در بسیاری محیط‌های اکولوژیکی می‌تواند رشد کند اما محیط‌های مرطوب را ترجیح می‌دهد. در محیط‌های آبی با مواد مغذی کم یا لیگوتروفیک و محیط‌های مغذی مانند فاضلاب و بدن انسان یافت می‌شود و یک پاتوژن شایع مجاری ادراری و دستگاه تناسلی در بیمارستان است (۲). اسیتوباکتر، نوعی کوکوباسیل گرم منفی غیر تخمیری است که بعد از *سودوموناس آئروژینوزا* به عنوان دومین عامل اصلی عفونت‌های بیمارستانی مطرح است. مهم‌ترین گونه این جنس، *اسیتوباکتر بومانی* است که می‌تواند عفونت‌های بیمارستانی مجاری ادراری، عفونت‌های زخم و حتی سپتی سمی ایجاد نماید. این باکتری به عوامل ضد میکروبی بسیار مقاوم است که این مقاومت می‌تواند ذاتی و یا اکتسابی باشد (۳).

شریشیا کلی باسیل گرم منفی و یکی از مهم‌ترین باکتری خانواده انتروباکتریاسه است. این باکتری عامل عفونت‌های بسیاری از جمله سپسیس *sepsis*،

گاستروانتریت *Gastroenteritis*، مننژیت *Meningitis*، عفونت صفراوی و کیسه صفراوی، عفونت زخم، پنومونی، پریتونیت و خصوصاً عفونت اداری و عامل نارسایی کلیه در کودکان است و این ارگانسیم پاتوژن روده‌ای اکثر حیوانات و انسان می‌باشد (۴).

گیاه گل محمدی (*Rosa damascene*) به طور سنتی برای درمان درد شکمی و قفسه سینه، تقویت قلب، خونریزی قاعدگی، مشکلات گوارشی و یبوست استفاده می‌شود که جایگاه با اهمیتی در طب سنتی ایران دارد. خواص ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدان، ضد درد، ضد التهابی، ضد دیابتی و ضد افسردگی آن نیز تایید شده است (۱). انسان‌ها از دیر باز از خواص دارویی گردو (*Juglans regia*) نظیر خواص ضد عفونی‌کنندگی و ضد قارچی آن اطلاع داشتند و از دم کرده برگ گردو برای رفع سرماخوردگی، خستگی، بیماری پوستی، درمان بیماری‌های لته و لوزه، درمان بیماری‌های ریوی و سایر موارد استفاده می‌کردند (۵). نانوذرات طلا دارای پایداری خوب و زیست سازگار بوده و خواص آنتی‌باکتریایی آن‌ها می‌تواند با تغییر ساختار و اندازه و یا اضافه کردن مواد افزایش یابد. نانوذرات طلا حامل‌های دارویی عالی نیز هستند که می‌توانند اثرات ضد باکتری داروهای ضد باکتری بارگیری شده را بهبود بخشند. نانوذرات طلا می‌توانند پس از اصلاح و ترکیب با سایر داروهای ضد باکتری، نقش ضد باکتری بهتری را در برابر برخی از باکتری‌های مقاوم به آن‌ها ببخشند (۶). در میان نانوذرات مختلف، نانوذرات طلا دارای ویژگی‌های منحصر به فردی مانند اندازه کوچک، سازگاری بیولوژیکی خوب و سمیت کم است. این ویژگی‌ها، نانوذرات طلا را برای استفاده در کاربردهای مختلف پزشکی مانند حسگرهای زیستی، انتقال دارو، شیمی درمانی و پرتودرمانی کاندید کرده است (۷، ۸).

سنتز سبز نانوذرات طلا (*Gold nanoparticles: AuNPs*) با عصاره‌های گیاه به دلیل امکان استفاده در طیف گسترده‌ای از کاربردهای بهداشتی به دلیل زیست

سازگاری مورد توجه قرار گرفته است (۹). از آنجا که نانوذرات طلا برای میزبان غیر سمی است امکان تنظیم دقیق ترکیب آن‌ها برای عمل به عنوان حامل آنتی بیوتیکی بر ضد باکتری‌ها وجود دارد (۱۰).

بیوسنتز نانوذرات با ترکیبات گیاهی اثرات مهاری خوبی بر روی تشکیل بیوفیلم داشته و همچنین خواص آنتی باکتریال آن‌ها نیز ثابت شده و قابل توجه است (۱۱، ۱۲). ترکیبات فنولی در بسیاری از گیاهان وجود دارند و اثر ضد میکروبی آن‌ها بستگی به محل و تعداد گروه‌های هیدروکسیل روی حلقه فنلی دارد و ادعا شده که ارتباط مستقیمی بین تعداد گروه‌های هیدروکسیل و سمیت آن‌ها روی میکروارگانیسم‌ها وجود دارد و فنل‌های اکسید شده نیز اثر شدیدتری اعمال می‌کنند (۱۳، ۱۴). پژوهش حاضر به مطالعه اثرات ضد باکتریایی نانوذرات طلا ساخته شده با عصاره‌های اتانولی گل محمدی و برگ گردو و مقایسه میزان اثر بخشی هر کدام با توجه به تفاوت ترکیبات احیاکننده آن‌ها در بیوسنتز نانوذرات می‌پردازد.

مواد و روش‌ها

مواد شیمیایی و میکروارگانیسم‌های مورد استفاده

در این مطالعه تجربی، تمامی مواد شیمیایی مورد استفاده با خلوص بالا تهیه شدند. میکروارگانیسم‌های استفاده شده در این مطالعه سویه‌های استاندارد *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متیسیلین (25923 ATCC) و *سودوموناس آئروژینوزا* (ATCC ۲۷۸۵۳) و *اسیتوباکتر بومانی* (ATCC ۱۸۵۵) و *اشریشیا کلی* (ATCC ۲۵۹۲۲) همگی از انستیتو پاستور تهران تهیه شد. روش‌های میکروب‌شناسی در گروه میکروب‌شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی همدان انجام شد.

تهیه عصاره گیاهی

گلبرگ گیاه گل محمدی و برگ گردو در سایه و در مجاورت هوا خشک و کاملاً آسیاب شد و در کمد، محیط بدون نور و عاری از بو نگهداری شدند. مقدار ۱۰

گرم از هر گیاه پودر شده توسط ترازوی دیجیتالی وزن شد و به درون ارلن حاوی ۱۰۰ میلی لیتر اتانول مطلق منتقل و به مدت ۴ روز در یخچال در دمای ۴ درجه سانتی گراد قرار گرفت و روزانه به مدت ۳۰ دقیقه بر روی شیکر با سرعت ۵۰ rpm گذاشته شد. سپس توسط کاغذ صافی واتمن ۲۲ صاف شد و برای خشک شدن در روتاری قرار گرفت. سپس ۱۰ میلی لیتر آب دیونیزه به آن اضافه شد و پس از ۱۵ دقیقه ورتکس، به لوله فالدکون انتقال داده شد. جهت حذف ذرات معلق، عصاره تهیه شده به مدت ۱۵ دقیقه با در ۲۶۲۹ g (۷۰۰۰ rpm) سانتریفیوژ شد.

سنتز نانوذرات طلا

به منظور بهینه سازی سنتز نانوذرات، از عصاره با pH ۵ و ۸ استفاده شد. برای این منظور، ۱ میلی لیتر HAuCl₄ با غلظت ۵ میلی مولار با ۲ میلی لیتر آب دیونیزه درون لوله مخلوط شد و بر روی هیتر استیرر با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار گرفت. سپس ۱ میلی لیتر از عصاره اتانولی با غلظت (۰/۲۵ mg/ml) پس از تنظیم pH اضافه شد و پس از ۳۰ تا ۴۵ دقیقه واکنش خاتمه یافت. پس از اتمام واکنش (مشاهده تغییر رنگ از زرد در عصاره اتانولی گل محمدی و سبز در عصاره اتانولی برگ گردو به قرمز و بنفش) محلول حاوی نانوذرات به مدت ۱۵ دقیقه و دمای ۲۵ درجه سانتی گراد، با دور ۲۶۲۹ g (۷۰۰۰ rpm) سانتریفیوژ شد. سپس دیالیز در آب دیونیزه به مدت ۱ ساعت با کیسه دیالیز سه کیلو دالتون صورت گرفت و پس از آن با فیلتر ۰/۲۲ میکرون فیلتر شد و فعالیت ضد باکتری نانوذرات ارزیابی گردید.

تعیین مشخصات نانوذرات

آنالیز طیف سنج مرئی فرابنفش

جهت تایید سنتز نانوذرات از طیف سنجی UV-vis استفاده شد. بدین منظور ۱ میلی لیتر از محلول حاوی نانو ذرات سنتز شده در pH متفاوت با آب دیونیزه به نسبت

۱ به ۴ رقیق شد و در محدوده نور مرئی با دستگاه طیف سنج فرابنفش مرئی (BRUKER) سنجیده شد.

تفرق نور پویا (DLS)

با استفاده از دستگاه زتاسایزر (Malvern (nanozs)، بار سطحی، میانگین اندازه و توزیع اندازه نانوذرات طلا اندازه گیری شد.

آنالیز FTIR

جهت بررسی وجود عصاره اتانولی گل محمدی و برگ گردو در نانوذرات طلا از سنجش FTIR استفاده شد. برای این منظور، پودر خشک شده نانوذرات، پودر عصاره گیاه گل محمدی و عصاره برگ گردو با برمید پتاسیم KBr جهت آنالیز مخلوط شد و با استفاده از دستگاه (FTIR) شرکت سیما میکرو Lambda25 مورد بررسی قرار گرفت.

آنالیز میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM)

با استفاده از میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) می توان سایز نانوذرات و شکل آن ها را ارزیابی کرد. نانوذرات سنتز شده برای عکس برداری TEM، مورد استفاده قرار گرفت. ۲ تا ۳ قطره از نانوذرات طلا سنتز شده با عصاره اتانولی را روی توری مسی پوشش داده شده با کربن نشانده و پس از خشک شدن عکس آن با میکروسکوپ الکترونی عبوری تهیه شد.

بررسی میزان سمیت سلولی

به منظور بررسی اثر نانوذرات سنتز شده با عصاره اتانولی بر سلول های HEK-293 از روش رنگ سنجی MTT استفاده شد. این روش براساس شکستن نمک تترازولیوم توسط آنزیم سوکسینات دهیدروژناز میتوکندریایی سلول های زنده استوار است. در این روش میزان ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت حاوی ۱۰۰۰۰ سلول در هر خانه پلیت ۹۶ تایی قرار داده شد. پس از ۲۴

ساعت انکوباسیون غلظت های ۳۰ درصد (۰/۵۱ mg/ml)، ۳۵ درصد (۰/۵۹۵ mg/ml)، ۴۰ درصد (۰/۶۸ mg/ml)، از نانوذره به سلول ها اضافه شد و طی ۲۴ ساعت انکوبه شدند. پس از طی زمان مذکور به هر خانه پلیت ۱۰ میکرولیتر MTT با (غلظت ۰/۵ میلی گرم بر میلی لیتر) اضافه شد و به مدت ۴ ساعت دیگر آنکوبه گردید بعد از طی زمان لازم محیط کشت حاوی MTT به دقت خارج شد، سپس به هر خانه پلیت ۱۰۰ میکرولیتر DMSO صنعتی اضافه شد و با استفاده از دستگاه الیزا در طول موج ۵۷۰ نانومتر خوانده شد.

پروتکل حداقل غلظت مهاري (MIC) به روش میکروپلیت (میکرودیلیشن)

به منظور تعیین MIC نانوذرات طلا سنتز شده به روش سبزه، از روش Microdilution بر اساس استاندارد (Clinical and Laboratory Standards Institute) CLSI، استفاده شد. در هر چاهک از پلیت ۹۶ تایی، ۱۰۰ میکرولیتر از محیط کشت MHB به همراه باکتری و غلظت های مختلفی از نانوذرات سنتز شده با رقت ۱ به ۲ در بازه ۰ تا ۵۰ درصد استفاده شد. به دلیل عدم کشندگی نانوذرات در غلظت های کم تر از ۲۵ درصد و نیز کشندگی کامل در غلظت های بالاتر از ۵۰ درصد از غلظت های ۳۰، ۳۵، ۴۰ درصد به منظور تعیین دقیق مقدار MIC و MBC نیز استفاده شد. چاهک حاوی محلول نانوذرات و محیط کشت به عنوان کنترل منفی (بدون میکروارگانیسم) و چاهک حاوی محیط کشت و سوسپانسون میکروبی به عنوان کنترل مثبت (بدون محلول نانوذرات) در نظر گرفته شد. به منظور تعیین MBC، مقدار ۱۰ میکرولیتر از چاهک ها را بر روی محیط کشت MHA به مدت ۲۴ ساعت کشت داده شد.

پروتکل حداقل غلظت مهاري بیوفیلیم (MBIC)

در هر یک از چاهک های پلیت ۹۶ خانه، ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت حاوی TSB با ۱ درصد گلوکز



pH5

pH8

تصویر شماره ۱: تغییر رنگ نانوذرات سنتز شده با عصاره اتانولی گل محمدی در خاتمه واکنش در pH ۵ و ۸



pH5

pH8

تصویر شماره ۲: تغییر رنگ نانوذرات سنتز شده با عصاره اتانولی برگ گردو در خاتمه واکنش در pH ۵ و ۸

آنالیز نانوذرات طلا سنتز شده با عصاره اتانولی گل محمدی و برگ گردو در pH های مختلف با دستگاه طیف سنج مرئی-فرابنفش

با توجه به طیف های جذبی گرفته شده از محلول سنتز شده با pH های مختلف عصاره، مشاهده شد که در ناحیه ۵۰۰ تا ۵۵۰ نانومتر جذب قابل ملاحظه ای دارند که به دلیل وجود نانوذرات طلا در محلول می باشد. به بیان ساده تر وقتی پیک در این ناحیه دیده شود، نشان دهنده سنتز نانوذرات طلا می باشد زیرا این نانوذرات همواره در این ناحیه جذب دارند. گزارش های ثبت شده مبنی بر تاثیر pH بر روی روند تشکیل نانوذرات حاکی از آن است که pH بر روی

اضافه و ۱۰۰ میکرولیتر هم از سریال رقت های نانوذرات طلا سنتز شده با عصاره (مطابق با روش MIC) در چاهک ها ریخته و سپس ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون دارای 5×10^5 CFU/mL تعداد باکتری اضافه شد. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در ۳۷ درجه سانتی گراد، مراحل رنگ آمیزی طی شد. محیط داخل چاهک ها تخلیه شد و سه بار با سرم فیزیولوژی شستشو و خشک شد. پس از تثبیت بیوفیلم با ۲۰۰ میکرولیتر متانول، ۲۰۰ میکرولیتر کریستال ویوله ۱ درصد به چاهک ها اضافه و شستشو با سرم فیزیولوژی انجام شد. جهت رنگ بری ۲۰۰ میکرولیتر اتانول مطلق به مدت ۳۰ دقیقه به چاهک ها اضافه شد، و در نهایت جذب نوری چاهک ها در طول موج ۵۹۵ نانومتر اندازه گیری گردید. از محیط TSB حاوی باکتری و بدون نانوذره طلا سنتز شده با عصاره اتانولی به عنوان کنترل مثبت و محیط TSB خالی به عنوان کنترل منفی استفاده شد.

یافته ها

رنگ نانوذرات سنتز شده با عصاره اتانولی گل محمدی و برگ گردو در pH های مختلف

احیای یون های Au^{3+} به نانوذرات طلا به کمک عصاره گیاهی با تغییر رنگ واکنش همراه است. همان گونه که در تصویر شماره ۱ و تصویر شماره ۲ مشخص است رنگ نمونه به pH نمونه وابسته است. به طور محسوسی مشاهده می گردد در pH قلیایی رنگ نمونه به سمت قرمز و بنفش میل پیدا می کند. این رنگ مربوط به رزونانس پلاسمون سطحی نانوذرات طلا و دلیلی بر سنتز موفق این نانوذرات می باشد. سنتز نانوذرات طلا با ظاهر شدن این رنگ ها قابل تشخیص است ولی برای تایید سنتز کافی نیست. بنابراین نمونه ای که تغییر رنگ را نشان دادند در مرحله بعد با استفاده از آنالیز طیف سنج مرئی-فرابنفش مورد مطالعه قرار گرفتند.

موجب جلوگیری از ورود یون‌های مذکور به واکنش احیای زیستی شود. طیف جذبی در نانوذرات طلا سنتز شده با عصاره اتانولی برگ گردو پهن تر شده است که این پدیده احتمالاً مربوط به یکنواختی کم‌تر این نانوذرات است.

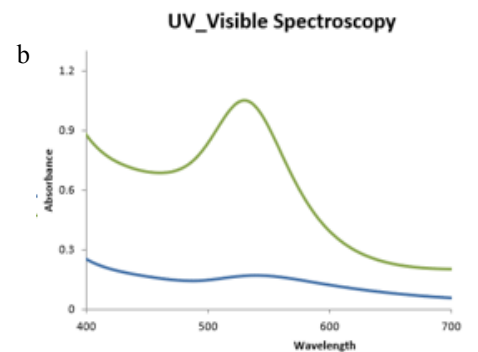
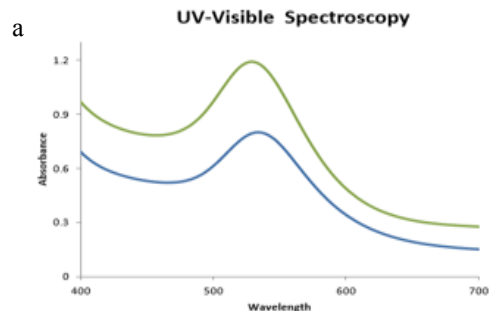
تعیین گروه‌های عاملی نانوذرات تهیه شده با عصاره اتانولی گل محمدی و برگ گردو در pH های با استفاده

از طیف سنجی FTIR

طیف FTIR حاصل از نانوذرات طلا سنتز شده با استفاده از عصاره گیاه گل محمدی و برگ گردو با pH برابر ۵ که کوچک‌ترین سایز سنتز شده است، در نمودار شماره ۲ نشان داده شده است. نوار IR در محدوده ۳۴۰۰ نوار پهن به همراه شدت جذب بالا نشان از گروه عاملی OH و NH دارد که می‌تواند مربوط به ترکیبات فنلی و پلی‌فنولی موجود در عصاره اتانولی گل محمدی و برگ گردو باشد. محدوده ۲۹۳۰، ۲۹۲۷ مربوط به نوسانات کششی آمین نوع دوم N-H آمیدها یا نوسانات کششی C-H زنجیره هیدروکربنی باشد. باند در محدوده ۱۴۰۷، ۱۴۰۳ مربوط به پیوند CH-CH موجود در قندها یا لیپیدهای عصاره است. باند ۱۰۵۶، ۱۰۶۱ مربوط به نوسانات کششی C-O در الکل‌های نوع اول و یا C-N در آمین‌های الیفاتیکی است. در محدوده ۱۶۳۴، ۱۶۲۷ به گروه C=O تعلق داشته و از ویژگی‌های آمید ۱ و ۲ (مربوط به پروتئین‌ها و آنزیم‌ها موجود در عصاره است) می‌باشد که نشان‌دهنده اتصال نانوذرات با این گروه‌هاست. هم‌چنین در این ناحیه وجود آلکن‌ها با گروه عاملی C=C و آمیدهایی با پیوند N-H انتظار می‌رود. بنابراین حضور پروتئین‌ها و متابولیت‌هایی با گروه‌های عاملی آمین، الکل، فنول و آلکن‌ها اثبات شده است. طیف‌های مادون قرمز تایید کردند که گروه کربونیل آمینواسیدها و گروه‌های فنولی موجود در عصاره اتانولی گل محمدی و برگ گردو توانایی ایجاد پیوند قوی با نانوذرات طلا را دارند. این گروه‌ها احتمالاً

شکل نانوذرات (کروی) تاثیر چشمگیری ندارد و تنها اندازه آن‌ها را تحت تاثیر قرار می‌دهند.

نمودار شماره ۱، طیف اسپکتروفتومتری فرابنفش- مرئی محلول حاوی نانوذرات طلا سنتز شده با عصاره گیاه گل محمدی و برگ گردو در pH ۵ و ۸ را نشان می‌دهد.



نمودار شماره ۱: طیف سنجی UV-Vis نانوذرات طلا سنتز شده با: a: عصاره اتانولی گل محمدی در pH ۵ و ۸؛ b: عصاره اتانولی برگ گردو در pH ۵ و ۸

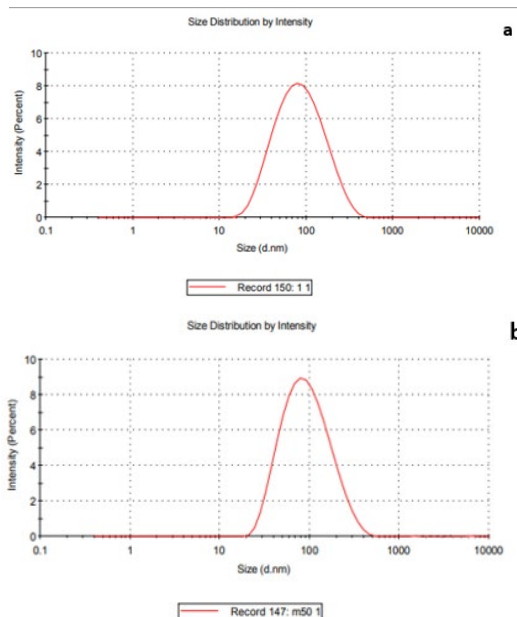
در این مطالعه استفاده از هر دو حالت اسیدی و بازی عصاره مورد آزمایش قرار گرفت. پیک‌های جذبی با تغییرات رخ داده از pH تغییر کرد. نانوذرات با pH مختلف جابه‌جایی در قله پیک دارند که احتمالاً در اثر تغییر اندازه نانوذرات است. همان‌گونه که مشاهده می‌شود با افزایش pH به ۸ جذب محلول در طول موج ۵۳۰ نانومتر به صورت چشمگیری افزایش یافته است که مربوط به افزایش در مقدار سنتز نانوذرات طلا است. میزان جذب برای pH برابر ۵ کم‌تر است. دلیل آن را می‌توان به هیدرولیز گسترده یون طلا دانست به طوری که نهایتاً

دارای pH برابر ۵ و ۸ در جدول شماره ۱ نشان می‌دهد، میانگین قطر نانوذرات طلای سنتز شده با هر دو عصاره گیاهی گل محمدی و برگ گردو، کم‌تر از ۱۰۰ نانومتر می‌باشد. نانوذرات تهیه شده با عصاره گیاهی گل محمدی اندازه کوچک‌تری نسبت به نانوذرات سنتز شده با عصاره برگ گردو داشته و شاخص پراکندگی آن نیز کم‌تر می‌باشد. اندازه نانوذرات طلا سنتز شده در تمام نمونه‌های مورد آزمایش در این بررسی مقاداری بزرگ‌تر از اندازه نانوذرات مشاهده شده در عکس‌های الکترونی عبوری محاسبه گردید. تفاوت قابل ملاحظه در اندازه نانوذرات توسط دو تکنیک DLS و TEM می‌تواند مربوط به جذب ماکرومولکول‌ها (پروتئین‌ها، پلی‌ساکاریدها) و ترکیبات آب دوست بر سطح نانوذرات باشد که منجر به حجم آب پوشی بالا در سطح نانوذرات شده و لذا باعث افزایش شعاع هیدرودینامیک می‌شود (نمودار شماره ۳).

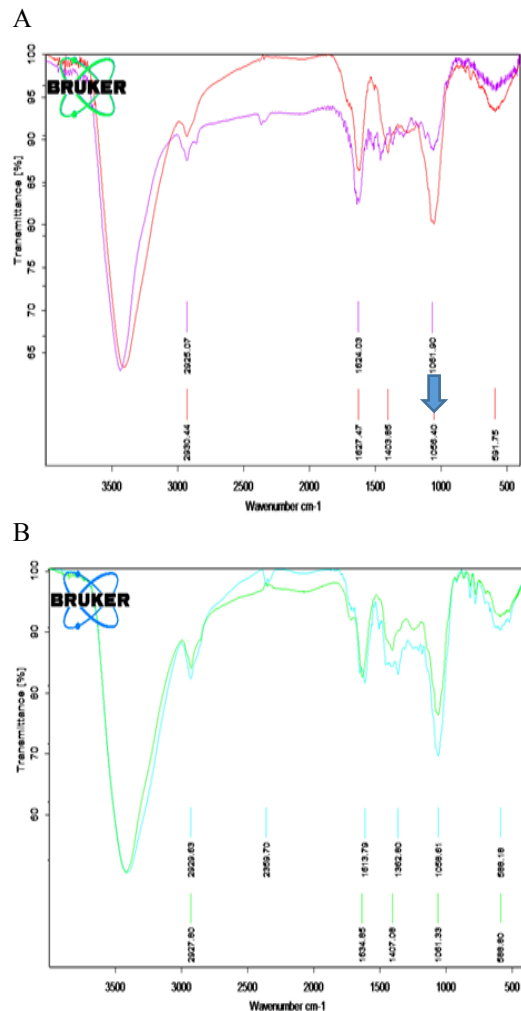
جدول شماره ۱: میانگین توزیع اندازه و شاخص عدم تجانس نانوذرات سنتز شده با عصاره اتانولی گل محمدی و برگ گردو در

pH های ۵ و ۸

شاخص PDI	Z Average	عصاره گیاهی
۰/۲۱۳	۵۵/۷۰	گل محمدی pH۵
۰/۲۵۸	۶۹	گل محمدی pH۸
۰/۴۰۵	۸۳	برگ گردو pH۵
۰/۴۰۷	۸۵	برگ گردو pH۸



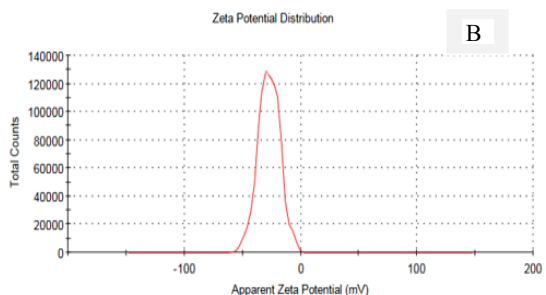
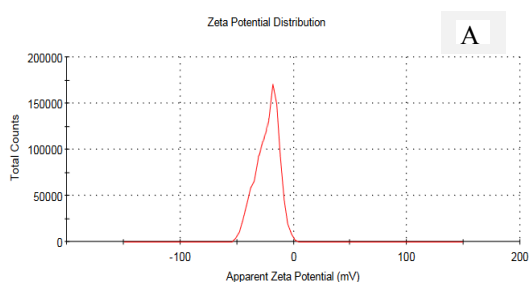
موجب پوشش دار کردن نانوذرات شده و مانع از تراکم آن‌ها و سبب افزایش پایداری ذرات شده و از تجمع و الگومره شدن آن‌ها ممانعت می‌کند.



نمودار شماره ۲: A: طیف FTIR نانوذرات طلا و عصاره اتانولی برگ گردو، خط قرمز: نانوذره سنتز شده با عصاره گیاه برگ گردو، خط بنفش: عصاره گیاهی برگ گردو قبل احیاء نمک طلا، B: طیف FTIR نانوذرات طلا و عصاره اتانولی گل محمدی، خط آبی: نانوذره سنتز شده با عصاره گیاه گل محمدی، خط سبز: عصاره گیاهی گل محمدی قبل احیاء نمک طلا

تعیین اندازه و مورفولوژی نانو ذرات سنتز شده با عصاره اتانولی گل محمدی و برگ گردو در pH های ۵ و ۸ جهت بررسی اندازه نانوذرات سنتز شده در حالت سوپانسیون و محلول از روش DLS استفاده شد. همان‌طور که نتایج DLS برای دو نانوذره سنتز شده با عصاره

نتایج حاصل از پتانسیل الکتریکی (پتانسیل زتا) طیف حاصل از اندازه گیری پتانسیل الکتریکی موجود در سطح نانوذرات طلا سنتز شده با عصاره اتانولی گل محمدی و برگ گردو نشان می دهد که این ذرات به ترتیب دارای بار الکتریکی منفی ۲/۲۷ میلی ولت و منفی ۲/۲۳ میلی ولت می باشند. وجود این میزان بار در سطح نانوذرات دلیلی بر وجود دافعه میان آن ها و عدم آگلومره شدن نانوذرات می باشد که در نهایت پایداری نانوذرات را به دنبال خواهد داشت (نمودار شماره ۴).

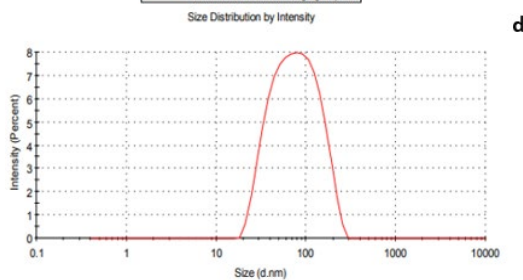
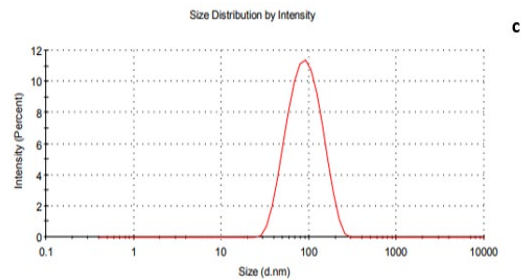


نمودار شماره ۴: A: طیف حاصل از اندازه گیری پتانسیل الکتریکی موجود در سطح نانوذرات طلا سنتز شده با عصاره اتانولی برگ گیاه گردو، B: طیف حاصل از اندازه گیری پتانسیل الکتریکی موجود در سطح نانوذرات طلا سنتز شده با عصاره اتانولی گل محمدی

میزان سمیت نانوذرات طلای سنتز شده با عصاره های

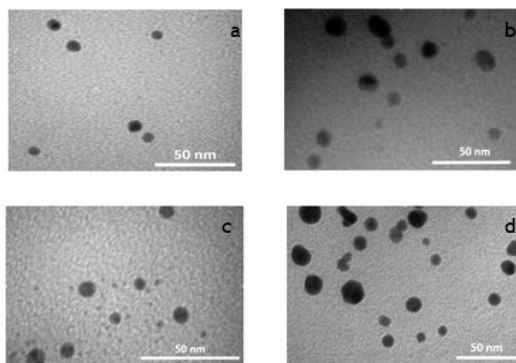
گیاهی گل محمدی و برگ گردو در pH برابر ۵

سلول های نرمال کلیه جنینی (HEK-293) پس از ۲۴ ساعت، تحت اثر غلظت های مختلف نانوذرات طلای سنتز شده (۳۰، ۳۵ و ۴۰ درصد) با روش ارزیابی MTT ارزیابی شد. همان طور که در نمودار شماره ۵ مشاهده می شود، در مقایسه با سلول های گروه کنترل یا تیمار نشده (زنده مانی ۱۰۰ درصد)، زنده مانی سلول های HEK-293 در



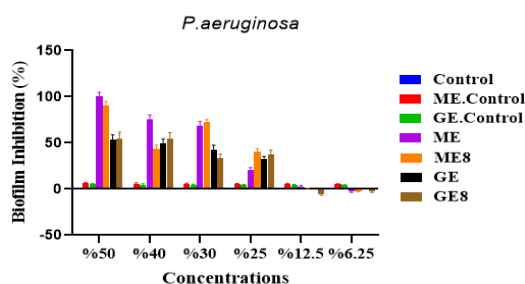
نمودار شماره ۳: نمودار توزیع اندازه نانو ذرات ساخته شده با عصاره های گل محمدی (a:pH۵) و (b:pH۸) نانو ذرات سنتز شده با عصاره اتانولی برگ گردو در (c: pH ۵) و (d:pH۸)

به منظور بررسی شکل و اندازه نانوذرات در حالت مایع از میکروسکوپ الکترونی عبوری استفاده شد. همان طور که در تصویر شماره ۳ مشاهده می شود، نانوذرات حاصله کروی شکل هستند و قطری در بازه ۵ تا ۲۵ نانومتر دارند. میانگین اندازه نانوذرات برای هر دو عصاره در pH برابر ۵ معادل ۷/۵ و در pH برابر ۸ معادل ۱۱/۵ نانومتر بودند.



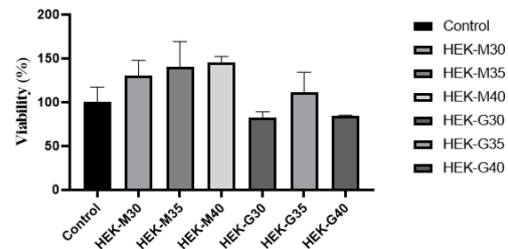
تصویر شماره ۳: تصاویر TEM از نانوذرات طلا سنتز شده با عصاره اتانولی گل محمدی (a:pH۵) و (b:pH۸)، نانو ذرات سنتز شده با عصاره اتانولی برگ گردو در (c: pH ۵) و (d:pH۸)

همان‌طور که در نمودار شماره ۶ مشاهده می‌گردد، نمودار حاصل از اثرات نانوذرات طلا سنتز شده با عصاره اتانولی گیاه گل محمدی و برگ گردو (pH۵) و (pH۸) بر مهار رشد بیوفیلم در مقایسه با کنترل در تمام غلظت‌های مورد مطالعه تفاوت معنی‌دار مشاهده شد ($P < 0/0001$). بیش‌ترین اثر ضد بیوفیلمی در غلظت ۵۰ درصد دیده شد که کاهش غلظت نانوذره ارتباط مستقیمی با کاهش اثر آن بر بیوفیلم داشته است. از غلظت (۲۵-۵۰ درصد) اثر نانوذرات بر مهار بیوفیلم/استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین به‌طور معنی‌داری افزایش یافت به‌طوری که در غلظت ۵۰ درصد نانوذره ساخته شده با عصاره دارای pH برابر ۵ به‌طور کامل (۱۰۰ درصد) و نانوذره ساخته شده با عصاره دارای pH ۸، ۸۵/۷۲ درصد باعث مهار رشد بیوفیلم گردید. در تیمار باکتری مورد نظر با غلظت‌های مختلف نانوذرات GE، GE8 (۶/۲۵، ۱۲/۵، ۲۵، ۳۰، ۴۰، ۵۰ درصد) مشخص گردید که با افزایش غلظت نانوذره GE از ۴۰-۶/۲۵ درصد اثر مهار بیوفیلم نیز به‌طور معنی‌داری ($P < 0/0001$) افزایش یافت به‌طوری که بیش‌ترین اثر مهاری (۹۱/۷۶ درصد) مربوط به غلظت ۴۰ درصد می‌باشد. نانوذره GE8 نشان داد با افزایش غلظت نانوذره از ۵۰-۶/۲۵ درصد مهار رشد بیوفیلم نیز به‌طور معنی‌داری ($P < 0/0001$) افزایش یافت، اما به اندازه نانوذره سنتز شده با عصاره گل محمدی نبود. تعیین میزان درصد کاهش بیوفیلم باکتری سودوموناس آئروژینوزا در مواجهه با نانوذرات طلا سنتز شده با عصاره اتانولی گل محمدی و برگ گردو در نمودار شماره ۷ نشان داده شده است.



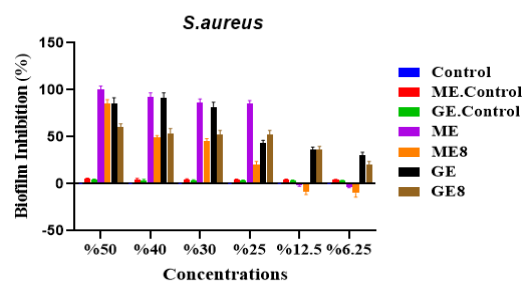
نمودار شماره ۷: تعیین میزان درصد کاهش بیوفیلم باکتری سودوموناس آئروژینوزا در تیمار با نانوذرات طلا (نانوذرات طلا

حضور غلظت‌های ۴۰، ۳۵ و ۳۰ درصد از نانوذرات طلا سنتز شده با عصاره اتانولی گل محمدی و گردو تفاوت معنی‌داری وجود ندارد.



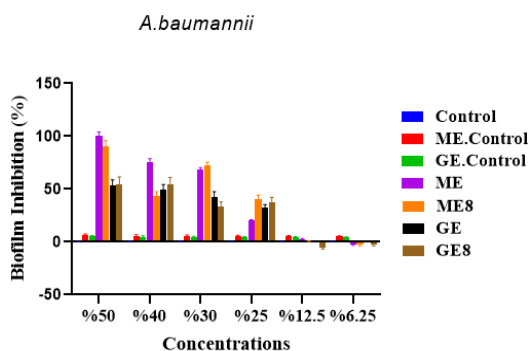
نمودار شماره ۵: میزان سمیت نانوذرات طلای سنتز شده با عصاره‌های گیاهی گل محمدی و برگ گردو در pH ۵

بررسی فعالیت ضد میکروبی نانوذرات سنتز شده با عصاره اتانولی گل محمدی و برگ گردو کاهش بیوفیلم باکتری استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین، سودوموناس آئروژینوزا، استیتوباکتر بومانی تحت اثر غلظت‌های مختلف نانوذرات (۶/۲۵، ۱۲/۵، ۲۵، ۳۰، ۴۰، ۵۰) ارزیابی شد. نتایج بررسی اثرات ضد باکتریایی نشان داد نانوذرات با اندازه زیر ۱۰ نانومتر اثر مهارکنندگی قابل توجهی بر روی همه باکتری‌ها دارد که با افزایش غلظت نانوذرات طلا این اثر نیز بیش‌تر می‌شود. میزان درصد کاهش بیوفیلم باکتری استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین در مواجهه با نانوذرات طلا سنتز شده با عصاره اتانولی گل محمدی و برگ گردو در نمودار شماره ۶ نشان داده شده است.



نمودار شماره ۶: تعیین میزان درصد کاهش بیوفیلم باکتری استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین در تیمار با نانوذرات طلا (نانوذرات طلا سنتز شده با عصاره اتانولی گل محمدی (ME) (pH۵=ME) و نانوذرات طلا سنتز شده با عصاره اتانولی برگ گردو (pH۵=GE) و (pH۸=GE8)

درصد را بر مهار رشد بیوفیلم دارا هستند. در غلظت ۴۰ درصد بیشترین اثر مهاری مربوط به نانوذره ME و GE8 به ترتیب ۷۵/۹ و ۵۴/۲ درصد می‌باشد. همچنین مهار بیوفیلم برای نانوذره ME در بالاترین غلظت (۵۰ درصد) به‌طور کامل (۱۰۰ درصد) و برای ME8 ۹۰/۱ درصد است. با توجه به نتایج به‌دست آمده از نمودار شماره ۸ می‌توان نتیجه گرفت که با افزایش غلظت این نانوذرات (ME، ME8، GE) اثر آن‌ها بر مهار بیوفیلم نیز افزایش پیدا می‌کند.



نمودار شماره ۸: تعیین میزان درصد کاهش بیوفیلم باکتری *اسنتیوباکتر بومانی* در تیمار با نانوذرات طلا (نانوذرات طلا سنتز شده با عصاره اتانولی گیاه گل محمدی ME (PH5) و ME8 (PH8) و نانوذرات طلا سنتز شده با عصاره اتانولی برگ گردو GE (PH5) و GE8 (PH8)).

تعیین حداقل غلظت ممانعت‌کنندگی از رشد (*MIC*) و حداقل غلظت کشندگی باکتری (*MBC*)

تعیین حداقل غلظت ممانعت از رشد (*MIC*) با استفاده از نانوذرات طلا سنتز شده به روش سبزی نشان داد باکتری‌های مورد مطالعه تولیدکننده بیوفیلم متوسط جهت بررسی *MIC* نانوذره طلای سنتز شده با عصاره اتانولی گل محمدی و برگ گردو مورد سنجش قرار گرفتند.

نتایج حداقل غلظت ممانعت از رشد (*MIC*) برای نانوذرات طلا سنتز شده با عصاره اتانولی گل محمدی

نتایج *MIC*/استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین با نانوذرات طلا سنتز شده با غلظت ۳۰ درصد عصاره ۰/۰۷۵ mg/ml، نمک طلا ۰/۵۱ mg/ml، برای

سنتز شده با عصاره اتانولی گیاه گل محمدی ME (PH5) و ME8 (PH8) و نانوذرات طلا سنتز شده با عصاره اتانولی برگ گردو GE (PH5) و GE8 (PH8)

با توجه به نمودار شماره ۷ در غلظت ۶/۲۵ درصد نانوذره ME و ME8 و GE8 اثری بر مهار رشد بیوفیلم از خود نشان نداد. برای غلظت ۱۲/۵ درصد GE8 اثر مهاری از خود نشان نداد اما ME اثر مهاری کم‌تری (۲/۷ درصد) نسبت به کنترل نشان داد. همان‌طور که در نمودار مشاهده می‌گردد تیمار سودوموناس با نانوذرات طلا در غلظت ۳۰ درصد، باعث افزایش معنی‌دار ($P < 0/0001$) مهار بیوفیلم نسبت به کنترل گردید به طوری که در این غلظت بیشترین اثر مهاری مربوط به نانوذرات ME8 (۷۲/۲ درصد) و ME (۶۸/۵ درصد) می‌باشد. برای غلظت ۴۰ درصد، نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌دار ($P < 0/0001$) در مهار بیوفیلم، مشاهده گردید به طوری که در این غلظت نانوذرات ME دارای بالاترین درصد (۷۵/۹ درصد) مهاری بود. در غلظت ۵۰ درصد، افزایش معنی‌داری ($P < 0/0001$) نسبت به گروه کنترل مشاهده گردید و نانوذره ME در این غلظت به‌طور کامل (۱۰۰ درصد) اثر مهارکنندگی داشت.

تعیین میزان درصد کاهش بیوفیلم باکتری *اسنتیوباکتر بومانی* در مواجهه با نانوذرات طلا سنتز شده با عصاره اتانولی گل محمدی و برگ گردو

با مقایسه اثرات نانوذرات طلا سنتز شده با عصاره اتانولی گیاه گل محمدی (ME، ME8) و برگ گردو (GE، GE8) نسبت به گروه کنترل، اختلاف معنی‌داری در گروه‌های مورد نظر وجود داشت ($P < 0/0001$). در مهار رشد بیوفیلم *اسنتیوباکتر بومانی*، در همه گروه‌ها ملاحظه می‌شود که در غلظت ۶/۲۵ درصد فاقد اثر مهاری بوده و با افزایش غلظت به ۱۲/۵ درصد، نانوذره ME اثر مهاری کمی (۲/۷ درصد) از خود نشان داد. در بین نانوذرات با غلظت ۳۰ درصد، ME8 بیشترین اثر، معادل ۷۲/۲ درصد و پس از آن ME اثری معادل ۶۸/۵

(نمک طلا ۱/۳۶mg/ml)، سودوموناس آئروژینوزا (۱/۷ mg/ml نمک طلا)، باکتری اشریشیا کلی (نمک طلا ۱/۳۶mg/ml) و اسیتوباکتر بومانی (نمک طلا ۱/۳۶mg/ml) بود.

بحث

مطالعه حاضر بیان می کند که نانوذرات طلا ساخته شده با عصاره، دارای pH برابر ۵ و سایز زیر ۱۰ نانومتر دارای خواص آنتی باکتریال خوبی هستند. نانوذرات فلزی و متابولیت های ثانویه موجود در عصاره گیاه به صورت هم افزایی می تواند خاصیت ضد میکروبی بسیار موثری باشند. در تیمار با نانوذرات طلا سنتز شده با عصاره اتانولی گل محمدی و نانوذرات طلا سنتز شده با عصاره اتانولی برگ گردو در بین باکتری های تست شده، اختلاف عملکردی وجود داشت. با توجه به نتایج این مطالعه، نانوذرات طلا سنتز شده با عصاره اتانولی گل محمدی دارای اثرات چشمگیری بر مهار رشد بیوفیلم باکتری استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متیسلین، سودوموناس و اسیتوباکتر است، که این اثرات بر روی استافیلوکوکوس اورئوس موثرتر است.

در مطالعه Shahzadi و همکاران در سال ۲۰۱۶ که بر روی اثر ضد میکروبی نانوذرات طلا مطالعه انجام دادند، مکانیسم عمل نانوذرات طلای سنتز شده وابسته به سایز و دوز نانوذره داشت و مشخص شد که نانوذرات طلا می تواند به عنوان یک عامل ضد میکروبی ایمن و غیرسمی در پزشکی به عنوان عامل مهارکننده رشد بیوفیلم مورد استفاده قرار گیرد که همسو با مطالعه انجام شده بود (۱۵). Aruguete و همکاران واکنش میان نانوذرات و باکتری ها و نقش آنها را بر روی محیط مورد بررسی قرار دادند. واکنش میان نانوذرات و باکتری ها به خصوصیات فیزیکوشیمیایی نانوذرات و شرایط فیزیولوژیکی باکتری ها بستگی دارد، در طی این پژوهش مشخص شد که خصوصیات مانند اندازه، شکل، لایه ها، شرایط آگلومره شدن ترکیبات شیمیایی معین و خواص

سودوموناس آئروژینوزا با غلظت ۴۰ درصد (عصاره ۰/۱ mg/ml نمک طلا ۰/۶۸ mg/ml)، برای باکتری اشریشیا کلی با غلظت ۲۵ درصد (عصاره ۰/۰۶۲۵ mg/ml نمک طلا ۰/۴۲ mg/ml) و برای اسیتوباکتر بومانی غلظت ۲۵ درصد (عصاره ۰/۰۶۲۵mg/ml نمک طلا ۰/۴۲mg/ml)، حاصل شد.

نتایج حداقل غلظت ممانعت از رشد (MIC) برای نانوذرات طلا سنتز شده با عصاره اتانولی برگ گردو نتایج MIC برای استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سلین با نانوذرات طلا سنتز شده با عصاره اتانولی برگ گردو با غلظت ۴۰ درصد (عصاره ۰/۱ mg/ml نمک طلا ۰/۶۸ mg/ml)، برای سودوموناس آئروژینوزا با غلظت ۵۰ درصد (عصاره ۰/۱۲۵ mg/ml نمک طلا ۰/۸۴mg/ml) برای باکتری اشریشیا کلی با غلظت ۴۰ درصد (عصاره ۰/۱mg/ml نمک طلا ۰/۶۸mg/ml) و برای اسیتوباکتر بومانی غلظت ۴۰ درصد (عصاره ۰/۱ mg/ml نمک طلا ۰/۶۸ mg/ml) حاصل شد.

نتایج حاصل از تعیین حداقل غلظت کشندگی (MBC) با استفاده از نانوذره طلا سنتز شده با عصاره اتانولی گل محمدی

حداقل غلظت کشندگی (MBC) طبق بررسی انجام شده برای باکتری استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سلین ۴۰ درصد (۰/۶۸ mg/ml نمک طلا)، سودوموناس آئروژینوزا ۵۰ درصد (۰/۸۴ mg/ml نمک طلا)، باکتری اشریشیا کلاهی ۳۰ درصد (۰/۵۱mg/ml نمک طلا) و ۳۰ درصد اسیتوباکتر بومانی (۰/۵۱mg/ml نمک طلا) حاصل شد.

نتایج حاصل از تعیین حداقل غلظت کشندگی (MBC) با استفاده از نانوذره طلا سنتز شده با عصاره اتانولی برگ گردو

حداقل غلظت کشندگی (MBC) باکتری استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سلین

فوتوکاتالستی نانوذرات می تواند تاثیرات مستقیمی بر خواص ضد باکتریایی این نانوذرات داشته باشد.

مطالعات Aruguete و همکاران نشان از تأیید خواص ضد باکتریایی نانوذرات داشته و با نتایج حاصل از مطالعه حاضر نیز همخوانی دارند (۱۶). در مطالعه حاضر نیز مشخص شد سایز و غلظت نانوذرات و همچنین نوع عصاره به کار رفته می تواند تاثیر مستقیمی بر MIC و ممانعت از تشکیل بیوفیلم داشته باشد. بیشترین اثر MIC مربوط به نانوذرات طلا سنتز شده با عصاره اتانولی گل محمدی غلظت ۴۰ درصد (۰/۶۸ mg/ml) و باکتری (سودوموناس آئروژینوزا) و برای نانوذرات سنتز شده با عصاره اتانولی برگ گردو سودوموناس آئروژینوزا با غلظت ۵۰ درصد (۰/۸۵ mg/ml)، بیشترین اثر نانوذره طلا سنتز شده با عصاره اتانولی گل محمدی بر روی بیوفیلم باکتری (استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین) با غلظت ۵۰ درصد (۰/۸۵ mg/ml) است که صد درصد باعث مهار بیوفیلم این باکتری شد.

در مطالعه Anbu و همکاران در سال ۲۰۲۰ که بر روی سنتز نانوذرات طلا با استفاده از عصاره گیاه *Platycodon grandiflorum* و عملکرد ضد بیماری زایی آن مطالعه انجام دادند، نتایج نشان داد که نانو ذرات طلا سنتز شده فعالیت ضد باکتریایی کارآمدی در برابر اشریشیاکلی دارد که می تواند به عنوان یک عامل کاهش دهنده عفونت باکتریایی و بهبود بیماری مورد استفاده قرار گیرد (۱۷).

گریس و همکاران در سال ۲۰۰۷ نشان دادند که افزایش اثرات ضد میکروبی بر علیه باکتری هایی مانند استافیلوکوکوس اورئوس، سودوموناس آئروژینوزا و اشریشیاکلی در شرایط آزمایشگاهی در نانو ذرات طلا به خوبی مشهود است و در این راستا محققان عنوان کرده اند که نانو ذرات طلا علیه باکتری های گرم مثبت از جمله استافیلوکوکوس اورئوس فعال هستند که دلیل فعال بودن آن ها را مربوط به لیگاندهای فسفین تری پودال موجود در این نانو ذره دانسته و معتقدند که این

لیگاندها می تواند باعث افزایش خاصیت آنتی باکتریایی نانوذرات طلا گردد (۱۸). در این مطالعه نانو ذرات طلا سنتز شده بیشترین اثر بر روی بیوفیلم باکتری (استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین) و غلظت ۵۰ درصد (۰/۸۵ mg/ml) دارد. براساس آنالیزهای انجام شده، نانو ذرات طلا حاصل از عصاره اتانولی گیاه گل محمدی یکنواختی بیش تر و از نظر شکل و اندازه بسیار بهتر از نانوذرات طلا حاصل از برگ گیاه گردو بود که این می تواند به دلیل وجود عوامل کاهنده، تثبیت کننده و پوشش گذار قوی تر موجود در عصاره اتانولی گیاه گل محمدی باشد که باعث احیاء سریع تر یون های طلا شده و با عوامل پروتئینی موجود، سطح را به خوبی پوشانده و از چسبندگی ذرات به هم و بزرگ تر شدن اندازه ذرات و عدم یکنواختی در شکل جلوگیری نماید. در این مطالعه نشان داده شد که عصاره اتانولی گل محمدی در زمان کوتاه تری قادر به احیاء یون های طلا به صورت نانوذرات طلا می باشد و به کمک شاخص pH می توان تا حدی این واکنش را در جهت حصول بیشترین و همگن ترین نانو ذرات با اندازه مورد نظر کنترل نمود به طوری که در pH اسیدی سایز نانوذرات کوچک تر و با قلیایی شدن عصاره به سمت بزرگ تر شدن پیش می رود. نانوذرات طلا ساخته شده با عصاره اتانولی گل محمدی و اندازه ۷/۵ نانومتر دارای خواص ضد باکتریایی قوی تری نسبت به سایر نانوذرات طلا ساخته شده بود. مزیت کاربرد نانوذرات طلا نسبت به آنتی بیوتیک ها، عدم مقاومت باکتری ها به این نانوذرات است. از کاربردهای بالینی این نانوذرات می توان به اثرات هم افزایی با آنتی بیوتیک ها، تهیه خمیر دندان، دهان شویه ها، پوشش زخم و همچنین پوشش پروتزها در داخل بدن اشاره کرد.

سپاسگزاری

این مطالعه حاصل پایان نامه ی کارشناسی ارشد خانم بتول غوابش با کد اخلاق

علوم پزشکی همدان تأمین شده است که بدین وسیله تشکر و قدردانی می‌شود.

IR.UMSHA.REC.1400.798 و کد طرح ۱۴۰۱۰۱۱۶۸۰ می‌باشد و منابع مالی آن توسط دانشگاه

References

- Lister JL, Horswill AR. Staphylococcus aureus biofilms: recent developments in biofilm dispersal. *Front Cell Infect Microbiol* 2014; 4: 178.
- Tafti A, Zandi H, Vakli M, Mousavi SM, Zarei M. Frequency of β -lactamase and metallo- β -lactamase in *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from burn wounds in Yazd burn hospital during 2011-2012. *FEYZ* 2014; 18(2): 167-174.
- Hashemizadeh Z, Emami A, Rahimi M. Acinetobacter antibiotic resistance and frequency of ESBL-producing strains in ICU patients of Namazi Hospital (2008-2009). *Journal of Inflammatory Diseases* 2010; 14(2): 47-53.
- Heidari-soureshjani E, Heidari M, Doosti A. Epidemiology of urinary tract infection and antibiotic resistance pattern of *E. coli* in patients referred to Imam Ali hospital in Farokhshahr, Chaharmahal va Bakhtiari, Iran. *J Shahrekord Uuniv Med Sci* 2013; 15(2): 9-15 (Persian).
- Emami A, Shams-Ardekani M, Nekoei-naeini N. *Valnet J Tehran: Rahe-kamal Pub*; 2002.
- Su C, Huang K, Li H-H, Lu Y-G, Zheng D-L. Antibacterial properties of functionalized gold nanoparticles and their application in oral biology. *Journal of Nanomaterials* 2020; 2020 :13.
- King RB, McMahon SJ, Hyland WB, Jain S, Butterworth KT, Prise KM, et al. An overview of current practice in external beam radiation oncology with consideration to potential benefits and challenges for nanotechnology. *Cancer Nanotechnol* 2017; 8(1): 1-12.
- Singh N. Nano-Particulate Technology: A Promising Technology In The Field Of Cancer Treatment Therapies In Recent Scenario. *Int J Recent Sci Res* 2018; 9(3): 25078-25082.
- Rodríguez-León E, Rodríguez-Vázquez BE, Martínez-Higuera A, Rodríguez-Beas C, Larios-Rodríguez E, Navarro RE, et al. Synthesis of gold nanoparticles using *Mimosa tenuiflora* extract, assessments of cytotoxicity, cellular uptake, and catalysis. *Nanoscale Res Lett* 2019; 14(1): 334.
- Salomoni R, Léo P, Montemor A, Rinaldi B, Rodrigues M. Antibacterial effect of silver nanoparticles in *Pseudomonas aeruginosa*. *Nanotechnol Sci Appl* 2017; 10: 115-121.
- Demgne OMF, Tchinda CF, Mbaveng AT, Beng VP, Kuete V. Antibacterial and antibiotic-potentiating activities of nine Cameroonian medicinal plants against multidrug-resistant bacteria expressing active efflux pumps. *Invest Med Chem Pharmacol* 2022; 5(1): 58.
- Ali SG, Jalal M, Ahmad H, Umar K, Ahmad A, Alshammari MB, et al. Biosynthesis of Gold Nanoparticles and Its Effect against *Pseudomonas aeruginosa*. *Molecules* 2022; 27(24): 8685.
- Geissman T. Flavonoid compounds, tannins, lignins and related compounds. *Comp Biochem* 1963; 9: 213-250.
- Urs NRR, Dunleavy J. Enhancement of the bactericidal activity of a peroxidase system

- by phenolic compounds[Xanthomonas phaseoli sojensis, soybeans, bacterial diseases]. *Phytopathology* 1975; 65: 686-690.
15. Shamaila S, Zafar N, Riaz S, Sharif R, Nazir J, Naseem S. Gold nanoparticles: an efficient antimicrobial agent against enteric bacterial human pathogen. *Nanomaterials* 2016; 6(4): 71.
16. Aruguete DM, Hochella MF. Bacteria–nanoparticle interactions and their environmental implications. *Envr Environ* 2010; 7(1): 3-9.
17. Anbu P, Gopinath SC, Jayanthi S. Synthesis of gold nanoparticles using *Platycodon grandiflorum* extract and its antipathogenic activity under optimal conditions. *Nanomater Nanotechnol* 2020; 10: 229468635.
18. Grace AN, Pandian K. Quinolone antibiotic-capped gold nanoparticles and their antibacterial efficacy against gram positive and gram negative organisms. *J Bionanosci* 2007; 1(2): 96-105.