

بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره متانولی و استونی اسپند و استوقدوس علیه برخی از میکروارگانیسم‌های بیماری‌زای انسانی در شرایط آزمایشگاهی

پانته آ زمانی‌فر^۱، معین صفری^{۲*}

تاریخ دریافت ۱۳۹۸/۰۵/۰۵ تاریخ پذیرش ۱۴۰۱/۰۳/۱۰

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: پیدایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی، تلاش برای دستیابی به ترکیبات دارویی جدید را مورد توجه قرار داده است. ترکیبات ضد میکروبی به دست آمده از گیاهان با مکانیسم‌هایی متفاوت از آنتی‌بیوتیک‌ها، باکتری‌ها را حذف می‌کنند. هدف از این مطالعه بررسی اثر ضد میکروبی گیاهان دارویی اسپند و استوقدوس علیه برخی از میکروارگانیسم‌های بیماری‌زای انسانی در شرایط آزمایشگاهی هست.

مواد و روش کار: میکروارگانیسم‌های مورد استفاده در این پژوهش از مرکز کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های ایران تهیه شد. برای تهیه عصاره از روش سوکسله استفاده شد. به منظور بررسی اثر ضد باکتریایی از روش انتشار دیسک و برای تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) از روش برات میکرودیولوشن استفاده گردید.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که عصاره متانولی هر دو گیاه اسپند و استوقدوس دارای فعالیت ضد باکتریایی می‌باشند در حالی که، از بین عصاره استونی تنها عصاره استونی اسپند اثر ضد باکتریایی داشت. بیشترین اثر ضد باکتریایی مربوط به عصاره متانولی اسپند بود، به این ترتیب که قطر هاله عدم رشد حاصل از تأثیر این عصاره بر روی باکتری‌های گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس به اندازه ۳۴/۳۳ میلی‌متر بود. نتایج نشان داد که هر دو عصاره متانولی دارای اثرات ضد قارچی نیز می‌باشند. حداقل غلظت کشندگی مؤثر بر روی تمامی باکتری‌ها ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر می‌باشد.

بحث و نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج تحقیق حاضر، مشخص شد که عصاره‌ی متانولی اسپند و استوقدوس دارای اثرات ضد باکتریایی و ضد قارچی قابل توجهی علیه باکتری‌های بیماری‌زا و قارچ بیماری‌زای کاندیدا آلبیکنز می‌باشند، لذا این عصاره‌ها می‌توانند به عنوان فرآورده‌های گیاهی طبیعی جهت کنترل عفونت‌های باکتریایی و قارچی مدنظر قرار گیرند.

کلیدواژه‌ها: ضد میکروبی، اسپند، استوقدوس، انتشار در دیسک، برات میکرودیولوشن

مجله مطالعات علوم پزشکی، دوره سی و دوم، شماره یازدهم، ص ۸۷۶-۸۶۴، بهمن ۱۴۰۰

آدرس مکاتبه: ایلام، دانشگاه ایلام، دانشکده علوم پایه، گروه زیست‌شناسی تلفن: ۰۹۳۶۷۲۶۳۲۴۵

Email: Safari_moein@yahoo.com

مقدمه

از دلایل مهم تمایل جوامع پزشکی به استفاده از ترکیبات گیاهی عوارض جانبی پایین آن‌ها نسبت به داروهای شیمیایی بوده که طی سال‌ها مصرف در طب سنتی به اثبات رسیده است (۳). از سوی دیگر مصرف بی‌رویه آنتی‌بیوتیک‌ها و پیدایش مقاومت تعدادی از عوامل عفونی به آنتی‌بیوتیک‌های رایج با ایجاد ژن مقاوم در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها، تلاش برای دستیابی به ترکیبات دارویی جدید را مورد توجه قرار داده است (۴). علاوه بر این تحقیقات نشان داده است که داروهای گیاهی سرشار از ترکیبات مختلف دارای فعالیت‌های

استفاده از ترکیبات دارویی با منشأ گیاهی از زمان‌های بسیار دور مورد توجه بشر بوده است. داروهای که امروز در دنیا به‌طور وسیعی برای درمان انواع بیماری‌ها اعم از عفونت‌های باکتریایی و ویروسی و قارچی تا انواع بیماری‌های متابولیک و حتی سرطان به کار می‌روند منشأ طبیعی داشته‌اند (۱). امروزه محققین به مزایای داروهای گیاهی پی بردند به طوری که ترکیبات گیاهی و مشتقات آن‌ها تقریباً یک‌سوم کل داروهای موجود را تشکیل می‌دهد (۲). یکی

^۱ دانش آموخته کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین-پیشوا، تهران، ایران

^۲ دانش آموخته کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه ایلام، ایران (نویسنده مسئول)

O157: H7، سالمونلا تیفی-موریوم و لیستریا مونوسیتوژنز دارای اثرات ضدباکتریایی مطلوبی بود (۱۱).

استوقدوس (اسطوخدوس) گیاهی است که از آن به عنوان ضد عفونی کننده طبیعی، آنتی بیوتیک، ضد افسردگی، سم زدا و مسکن استفاده می شود. امروزه نیز استوقدوس برای پیش گیری، درمان و از بین بردن لکه های ناخوشایند به کار برده می شود (۱۲). طبق مطالعات انجام شده اسانس استوقدوس دارای حدود ۴۰ درصد اسنات لینالیل است، همچنین در آن ترکیباتی نظیر اسید بوتیریک، اسید پروپیونیک و اسید والریک، لینالول آزاد و ژرانیول، اسانس روغنی، اسانس اسپیک، اثرهای لینالیل و ژیلانیل، ژرانیول، پینن، سینئول، تانن، فنکن، بورنئول وجود دارد که کاربردهای درمانی دارند (۱۳). مطالعات انجام شده بروی استوقدوس در ایران محدود است برای مثال، ربانی و همکاران (۱۳۹۳) در مطالعه ای اثر ضدباکتریایی اسانس اسطوخودوس را بر روی دو باکتری *Xanthomonas campestris* و *Escherichia coli* در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار دادند. آن ها دریافتند که بیشترین ترکیبات تشکیل دهنده اسانس اسطوخودوس شامل اینالول (۴۴/۹۴) و ۱-۸-سینئول (۲۱/۱۵) می باشد. نتایج مطالعه آن ها نشان داد که اسانس اسطوخودوس اثر ضدباکتریایی قابل توجهی علیه باکتری های *Escherichia coli* و *Xanthomonas campestris* دارد و می توان از آن به عنوان یک ترکیب ضدباکتریایی طبیعی به جای سموم شیمیایی و آنتی بیوتیک ها در مبارزه با باکتری های بیماری زای گیاهی یا انسانی استفاده کرد (۱۴). هدف از این مطالعه بررسی اثر ضد باکتریایی و ضد قارچی عصاره های متانولی و استونی دو گونه گیاه دارویی به نام های اسپند و استوقدوس علیه برخی از میکروارگانیسم های بیماری زای انسانی در شرایط آزمایشگاهی می باشد.

مواد و روش کار

جمع آوری و آماده سازی گیاهان:

در این مطالعه تجربی، برگ گیاه استوقدوس (*Lavandula angustifolia*) از پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی با کد هر بار یوم گیاهی ۱۰۹۲ و دانه های اسپند (*Peganum harmala*) به مقدار لازم از عطاری تهیه شد. پس از شناسایی و تفکیک گونه ها، سرشاخه های برگ گیاه استوقدوس و دانه های اسپند برای تهیه عصاره مورد استفاده قرار گرفت.

روش تهیه عصاره:

برای تهیه عصاره ها، ابتدا سرشاخه های برگ گیاه استوقدوس و دانه های اسپند چند بار با آب مقطر شستشو و سپس در سایه و

زیستی بوده به طوری که از تولید ترکیبات اکسیدان ناشی از واکنش های متابولیسمی نامطلوب داروهای صنعتی و ترکیبات شیمیایی جلوگیری می کنند (۵).

امروزه از گیاهان دارویی فراوانی به منظور کنترل بیماری های عفونی و از بین بردن باکتری های بیماری زا استفاده می شود (۶). گزارش های متعددی در مورد فعالیت های ضد میکروبی ترکیبات گیاهی منتشر شده است ترکیباتی نظیر پلی فنل ها، آلکالوئیدها، تریپن ها و کومارین ها نقش مهمی در تأثیر عصاره گیاهان بر رشد میکروارگانیسم ها دارند (۷). ترکیبات ضد میکروبی به دست آمده از گیاهان با مکانیسم هایی متفاوت از آنتی بیوتیک ها، باکتری ها را حذف می کنند که این مسئله در درمان عفونت های ناشی از سویه های مقاوم میکروبی از نظر بالینی حائز اهمیت است. با توجه به رویکرد دوباره برای مصرف داروها و فرآورده های گیاهی، بررسی خواص دارویی گیاهان اندمیک هر منطقه از اهمیت خاصی برخوردار می باشد (۸). از جمله گیاهان پر خواص دارویی ایران می تواند به اسپند و استوقدوس اشاره نمود که اثرات درمانی آن ها از دیرباز مورد توجه بوده است. اسپند (نام انگلیسی *harmala*) گیاهی چندساله متعلق به خانواده (*zygophyllaceae*) است و به عنوان یک گیاه دارویی دارای کاربردهای متنوعی می باشد. قسمت مورد استفاده این گیاه دانه ها هستند. گیاه اسپند در بسیاری از نقاط ایران از جمله اطراف تهران، قم، قزوین، کرج، تبریز، کرمان، نواحی مختلف فارس، سیستان و بلوچستان، نواحی مختلف خراسان، سمنان، دامغان و حواشی کویرهای ایران می روید و دارای خواص دارویی فراوانی می باشد (۹). گیاه اسپند دربردارنده مواد ضد میکروبی از نوع فلاونوئیدها و آلکالوئیدها می باشد، که این مواد در بخش های مختلف آن (دانه، کالوس و نهال) زیاد یافت می شود. از جمله آلکالوئیدهای مهم آن می توان به هارمین و هارمالین و هارمالول و پگانی و آلکالوئیدهای کینازولین اشاره کرد. اسفند در طب عامیانه جهت بهبود آسم، کولیک، دیسمنوره، تب، سنگ مثانه، هیستری، یرقان، لارنژیت، مالاریا، نورالژی، سرطان، پارکینسون و روماتیسم استفاده می شود. مطالعات دانشمندان مصری نشان داده که دانه ای اسفند دارای خاصیت قارچ و میکروب کش قوی است. مطالعات انجام شده بروی اسفند در ایران، توسط پژوهشگران دانشکده داروسازی تهران مشخص نمود که ترکیبات اصلی گیاه دارای خواص متعددی از جمله خواص ضدسرطانی است و این نتایج با نتایج منتشر شده در بعضی کشورها از جمله ترکیه کاملاً متفاوت است (۱۰). همچنین زنبلی و همکاران در سال ۱۳۹۴ پژوهشی درباره اثر ضد باکتریایی عصاره متانولی گیاه اسپند بر روی تعدادی از باکتری های مهم بیماری زای مواد غذایی انجام دادند. طبق نتایج آن ها عصاره متانولی گیاه اسپند بر روی باکتری های اشریشیا کلی

فقط حلال وجود داشته باشد) باید ادامه یابد. عصاره‌ها پس از تهیه شدن به‌وسیله‌ی سوکسله، جهت خشک و بخار شدن حلال آن در دمای ۴۰ تا ۴۵ درجه در آن قرار داده شدند (۱۵). مقدار عصاره به‌دست‌آمده از هر نمونه گیاهی برای انجام مراحل بعدی آزمایش کم بود و لذا تمام مراحل فوق جهت تهیه مقدار بیشتر از آن تکرار گردید. مقدار، زمان لازم برای عصاره‌گیری و خشک شدن عصاره‌ها در آن برای هر یک از گونه‌های گیاهی موردبررسی در جدول ۱ و ۲ آمده است (جدول ۱ و ۲).

تاریکی خشک گردیدند. پس از خشک شدن، هر یک از گیاهان به‌صورت تفکیک‌شده در هاون چینی خرد و از پودر حاصله جهت انجام مراحل بعدی آزمایش استفاده گردید. برای تهیه عصاره استونی و متانولی از روش سوکسله (Soxhlet) استفاده شد. به‌طور خلاصه ابتدا به‌طور یکسان به مقدار ۵۰ گرم از پودر خردشده‌ی هر یک از نمونه‌ها استفاده شد. به‌این‌ترتیب که برای هر ۵۰ گرم از پودر هر گیاه به مقدار ۱۰۰۰ میلی‌لیتر استون یا متانول اضافه گردید عصاره-گیری در سوکسله تا زمانی که داخل ستون آن بی‌رنگ شود (یعنی

جدول (۱): عصاره‌های متانولی اسپند و استوقدوس به ازای ۵۰ گرم پودر گیاه در ۱۰۰۰ میلی‌لیتر متانول

گونه‌های گیاهی موردبررسی	زمان لازم جهت عصاره‌گیری در سوکسله (ساعت)	زمان لازم جهت خشک شدن عصاره در آن (ساعت)	مقدار عصاره خشک (میلی‌گرم)
<i>Lavandula angustifolia</i>	۳۸	۲۵	۲۸۰۰
<i>Peganum harmala</i>	۲۰	۱۶	۲۶۰۰

جدول (۲): عصاره‌های استونی اسپند و استوقدوس به ازای ۵۰ گرم پودر در یک لیتر استون

گونه‌های گیاهی موردبررسی	زمان لازم جهت عصاره‌گیری در سوکسله (ساعت)	زمان لازم جهت خشک شدن عصاره در آن (ساعت)	مقدار عصاره خشک (میلی‌گرم)
<i>Lavandula angustifolia</i>	۳۶	۲۴	۶۰۰
<i>Peganum harmala</i>	۱۸	۹	۵۰۰

بیماری‌زای انسانی استافیلوکوکوس اورئوس (PTCC 1112) سودوموناس آئروژینوزا (PTCC 1074) و یک‌گونه قارچ بیماری‌زای کاندیدا آلبیکنز (PTCC 5027) موردبررسی قرار گرفت. جهت بررسی و مقایسه تأثیر عصاره‌ها سویه‌های بیماری‌زای عفونی باکتری‌ها و قارچ از مرکز کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های ایران با شماره PTCC^۱ مشخص، به‌صورت لیوفیلیزه^۲ شده خریداری گردید (جدول ۳).

عصاره‌های خشک‌شده در فالكون‌های استریل جمع‌آوری و تا انجام مراحل بعدی در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (۱۵).

آماده‌سازی سویه‌های باکتری و قارچ:

در این تحقیق اثرات ضد میکروبی عصاره استونی و متانولی هر یک از گونه‌های گیاهی جمع‌آوری‌شده بر روی دو گونه باکتری

جدول (۳): میکروارگانیسم‌های تهیه‌شده از مرکز کلکسیون قارچ و باکتری‌های ایران.

<i>Staphylococcus aureus</i> PTCC 1112	باکتری گرم مثبت
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> PTCC 1074	باکتری گرم منفی
<i>Candida albicans</i> PTCC 5027	قارچ

درب دار به مقدار ۱۰ میلی‌لیتر از آن ریخته، سپس شیشه‌هایی که میکروارگانیسم‌های لیوفیلیزه در آن قرار داشتند در شرایط استریل زیر هود، از قسمت بالای آن شکسته و با آنس سوزنی استریل

پس از انتقال میکروارگانیسم‌ها به‌صورت لیوفیلیزه شده به محیط نوترینت برات برای باکتری‌ها و محیط سابوردکستروز برات برای قارچ تهیه شد و در سه لوله‌ی استریل

^۲ lyophilize

^۱-Persian Type Culture Collection

روش بررسی فعالیت ضد میکروبی:

در این تحقیق به منظور بررسی اثر ضد میکروبی عصاره استونی و متانولی گیاهان مورد بررسی از روش انتشار دیسک^۳ و برای تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) از پلیتهای ۹۶ خانه‌ای استریل و روش برآث میکرودیپوشن استفاده گردید. ابتدا از تمام عصاره‌های متانولی و استونی به دست آمده به وسیله دی متیل سولفوکساید (DMSO) ۱۰ درصد، رقت‌های ۶۳، ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تهیه شد. به تعداد باکتری‌ها دیسک پیپر بلانک ۶ میلی‌متری تهیه شده و در داخل رقت‌های مختلف از هر عصاره ریخته شد. پس از ۱۰ دقیقه که دیسک‌ها از عصاره غنی شدند آن‌ها را از داخل عصاره‌ها بیرون کشیده و به طور جداگانه در پلیتهای شیشه‌ای داخل آون ۳۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا حلال آن بخار و دیسک‌ها خشک شود. دیسک‌ها قبل و بعد از ترکیب با عصاره‌ها وزن شد و اختلاف آن دو، مقدار عصاره‌ای بود که دیسک‌ها در رقت‌های مختلف هر عصاره جذب کرده بودند که مقدار عصاره جذب شده توسط هر دیسک در رقت‌های مختلف در جدول ۴ آمده است. به این ترتیب دیسک‌ها برای بررسی خواص ضد میکروبی آماده شد. از سوسپانسیون نیم مک‌فارلندی باکتری‌ها و قارچ مورد بررسی با سوآپ استریل برداشته و به ترتیب در محیط کشت مولر هینتون آگار (مرک آلمان) و سابوردکستروز آگار به صورت چمنی کشت داده شدند. با روش استاندارد انتشار دیسک (کربی-بائر) دیسک‌های آغشته به عصاره در فاصله استاندارد (۱/۵ سانتی‌متری) از یکدیگر در محیط کشت‌ها قرار داده شدند. محیط کشت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد برای باکتری‌ها و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد برای قارچ در انکوباتور قرار داده و بعد از ۲۴ تا ۴۸ ساعت قطر هاله‌ها قرائت گردید. تمام آزمایش‌ها سه بار تکرار شد (۱۷).

مقداری از میکروارگانیسم‌ها در محیط‌های تهیه شده تلقیح صورت گرفت. این محیط حاوی میکروارگانیسم‌های استاندارد به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد برای باکتری‌ها و به مدت ۴۸ ساعت در ۲۵ درجه سانتی‌گراد برای قارچ گرمخانه گذاری شدند. پس از این مدت میکروارگانیسم‌ها توسط سوآپ استریل به صورت چمنی روی محیط کشت نوترینت آگار برای باکتری‌ها و سابوردکستروز آگار برای قارچ کشت داده شد و سپس دور پلیت‌ها به وسیله پارافیلیم بسته شد. پس پایان زمان گرمخانه گذاری، میکروارگانیسم‌ها برای تهیه سوسپانسیون نیم مک فارلندی به صورت خطی روی محیط آگار دار مناسب کشت داده شدند.

تهیه سوسپانسیون نیم مک‌فارلندی:

برای تهیه سوسپانسیون نیم مک فارلند از باکتری‌ها و قارچ (1×10^8 cfu/ml) و قارچ (1×10^6 cfu/ml) ابتدا باکتری‌ها و قارچ مورد نظر را به طور جداگانه، به ترتیب روی محیط کشت‌های نوترینت آگار و سابوردکستروز آگار کشت داده و به مدت ۲۴ ساعت (برای باکتری‌ها) و ۴۸ ساعت (برای قارچ) گرمخانه گذاری شد و سپس برای تهیه سوسپانسیون نیم مک‌فارلندی از آن استفاده گردید. به این ترتیب که به اندازه تعداد میکروارگانیسم‌ها لوله استریل تهیه گردید و داخل هر لوله به مقدار ۱۰ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی ریخته شد. سپس به وسیله‌ی آنس حلقوی از کلنی‌های باکتری‌ها و قارچ مورد بررسی برداشته و داخل آن‌ها انتقال داده شد. سپس به مدت ۱۰ دقیقه ورتکس گردید. برای به دست آوردن غلظت نیم مک فارلندی از آن‌ها از دستگاه اسپکتروفتومتر^۱ استفاده شد. از سوسپانسیون ورتکس شده باکتری‌ها در کوئیت‌های شیشه‌ای مخصوص دستگاه ریخته و جذب نوری (OD^{2}) آن‌ها تعیین شد. به منظور تهیه کدورت نیم مک فارلندی باید OD در طول موج ۶۲۰ نانومتر برابر ۰/۱-۰/۸ شود. در نهایت از تمام باکتری‌ها و قارچ مورد بررسی غلظت نیم مک فارلندی تهیه شد (۱۶).

جدول (۴): مقدار عصاره جذب شده توسط دیسک‌ها در غلظت‌های مختلف از عصاره متانولی اسپند و استوقدوس.

عصاره استونی استوقدوس	عصاره استونی اسپند	عصاره متانولی استوقدوس	عصاره متانولی اسپند	غلظت عصاره‌ها
۲۷/۳	۲۵/۷	۳۶/۲	۳۷	۱۰۰۰*
۷/۸	۷/۳	۱۵	۱۵/۷	۵۰۰
۳	۲/۶	۶/۵	۶/۸	۲۵۰
۰/۵	۰/۳	۲/۵	۲/۵	۱۲۵
۰	۰	۰/۸	۰/۹	۶۳

* تمام اعداد در جدول برحسب میلی‌گرم بر میلی‌لیتر ذکر شده است.

³ Disk diffusion

¹- Spectrophotometer

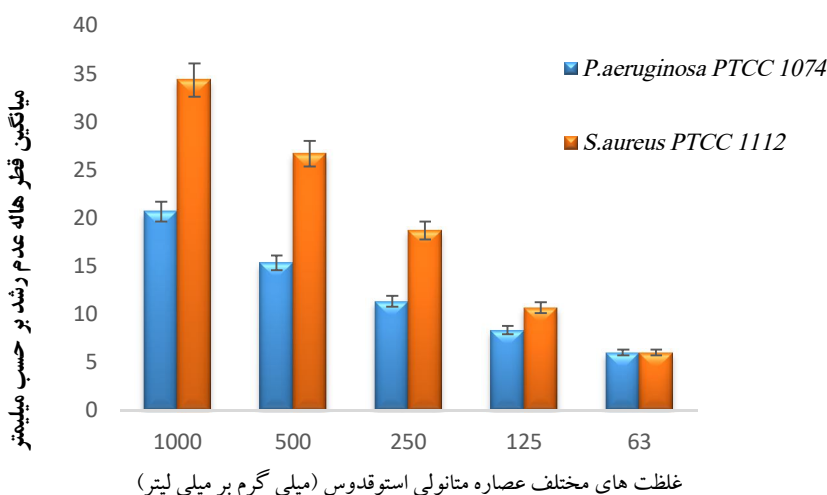
²-Optical density

محیط کشت نوترینت آگار کشت داده و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شدند. پس از ۲۴ ساعت کمترین غلظتی از عصاره که باکتری‌ها در آن رشد نکرده بودند به‌عنوان مقادیر MBC گزارش شدند (۱۶).

برای آنالیز آماری داده‌ها از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ استفاده شد، همچنین برای توصیف متغیرهای تحقیق از آمار توصیفی چون میانگین و انحراف معیار استفاده شد. نمودارها نیز با کمک نرم‌افزار Microsoft Excel 2013 رسم شدند.

یافته‌ها

نتایج حاصل از اندازه‌گیری میانگین قطر هاله‌های عدم رشد حاصل از تأثیر غلظت‌های ۶۳ تا ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر نشان داد که عصاره متانولی هر دو گونه اسپند و استوقدوس دارای فعالیت ضد باکتریایی بر روی این باکتری‌ها می‌باشند درحالی‌که، از بین عصاره استونی این دو گونه گیاهی موردبررسی تنها عصاره استونی اسپند (*Peganum harmala*) بر روی دو باکتری سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس اورئوس تا حدودی اثر داشت. تجزیه و تحلیل داده‌ها در سطح یک درصد نشان داد که خطای محاسبه‌شده تقریباً برابر صفر است ($p\text{-value} \leq 0/01$).



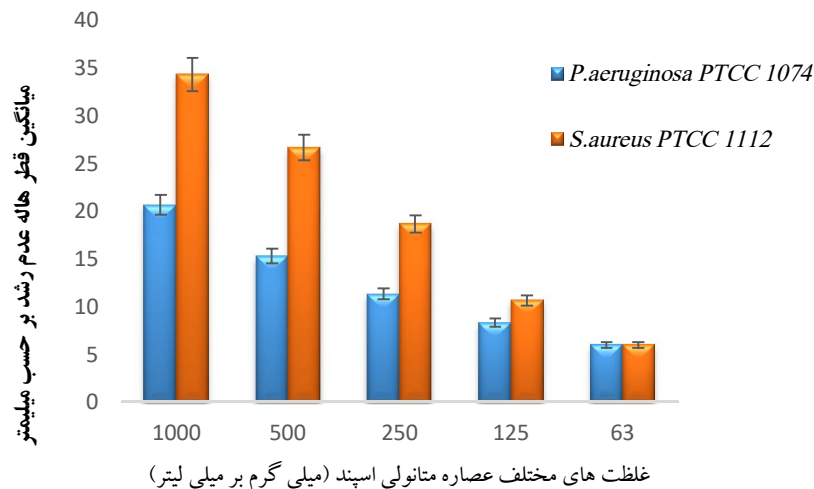
نمودار (۱): میانگین قطر هاله‌های عدم رشد حاصل از تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره متانولی استوقدوس بر روی باکتری‌های سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس اورئوس بر حسب میلی‌متر

جهت مقایسه قدرت ضد میکروبی عصاره‌ها از دیسک آنتی‌بیوتیک‌های رایج مصرفی علیه باکتری‌ها و قارچ مورد مطالعه به‌عنوان شاهد مثبت و از دی‌متیل‌سولفوکساید ۱۰ درصد به‌عنوان شاهد منفی استفاده شد.

برای عصاره‌های حاصل از گونه‌های گیاهی‌ای که دارای اثر ضدباکتریایی بودند، مقدار MIC و MBC تعیین گردید. تعیین حداقل غلظت مهارکننده (MIC)، با استفاده از پلیت‌های ۹۶ خانه-ای استریل و روش برات میکرودیولوشن^۱ طبق دستورالعمل CLSI^۲ انجام شد. به هر یک از چاهک‌ها ۵۰ میکرولیتر محیط نوترینت برات به‌اضافه ۵۰ میکرولیتر از رقت‌های تهیه‌شده عصاره (۶۳ تا ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) اضافه گردید، سپس مقدار ۵۰ میکرولیتر از سوسپانسیون تهیه‌شده باکتری به چاهک‌ها اضافه شد. پلیت‌های به مدت ۱۸-۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند، سپس با مقایسه‌ی کدورت چاهک‌های تحت تیمار با چاهک-های شاهد میزان MIC مشخص گردید، لذا اولین چاهک بدون کدورت به‌عنوان حداقل غلظت بازدارنده (MIC) به‌صورت میلی‌گرم بر میلی‌لیتر گزارش شد. حداقل غلظت کشندگی (MBC) عصاره‌ها با توجه به نتایج MIC تعیین شد. از چاهک‌هایی که رشد باکتری در آن‌ها کاملاً متوقف شده بود با سوآپ استریل نمونه‌برداری و روی

^۲-Clinical and Laboratory Standards Institute.

^۱-broth microdilution



نمودار (۲): میانگین قطر هاله‌های عدم رشد حاصل از تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره متانولی اسپند بر روی باکتری‌های سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس اورئوس بر حسب میلی‌متر

این باکتری‌ها به غلظت‌های ۱۰۰۰، ۵۰۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره حساسیت غیر قابل‌توجهی نشان دادند (جدول ۵). همچنین عصاره استونی استوقدوس (*Lavandula angustifolia*) نیز بر روی باکتری‌های موردبررسی اثر قابل‌توجهی نداشت. نتایج حاصل از بررسی غلظت‌های مختلف عصاره علیه هر یک از باکتری‌ها نشان داد که با افزایش غلظت عصاره میزان اثرات بازدارندگی از رشد به‌طور معنی‌داری افزایش می‌یابد. تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌ها در سطح یک درصد، خطای محاسبه‌شده را برابر صفر نشان داد، بنابراین عصاره متانولی اسپند و استوقدوس بر روی باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی دارای اثرات ضدباکتریایی است و تأثیر این عصاره‌ها بر روی باکتری گرم مثبت به‌طور معنی‌داری بیشتر از باکتری گرم منفی است.

با توجه به نتایج به‌دست‌آمده، تأثیر عصاره متانولی اسپند و استوقدوس بر روی باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس بیشتر از باکتری گرم منفی سودوموناس آئروژینوزا است (نمودار ۱ و نمودار ۲). بیشترین قطر هاله عدم رشد حاصل از تأثیر عصاره‌های متانولی اسپند و استوقدوس مربوط به عصاره متانولی اسپند بود، به‌این‌ترتیب که قطر هاله عدم رشد حاصل از تأثیر این عصاره بر روی باکتری‌های گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس به‌اندازه ۳۴/۳۳ میلی‌متر بود در صورتی‌که بیشترین قطر هاله عدم رشد بر روی باکتری گرم منفی سودوموناس آئروژینوزا به قطر هاله ۲۰/۶۶ میلی‌متر بوده می‌باشد. نتایج همچنین نشان داد که تأثیر عصاره استونی اسپند بر این دو باکتری تقریباً یکسان می‌باشد، به‌طوری‌که

جدول (۵): تأثیر عصاره استونی اسپند (*Peganum harmala*) بر روی دو باکتری سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس اورئوس

	۱۰۰۰	۵۰۰	۲۵۰	۱۲۵	۶۳
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> PTCC 1074	۱۵/۳۳±۰/۵۷	۱۲/۶۷±۰/۶	۹/۵±۰/۱/۱۵	۷/۳۳±۰/۵۷	۰
<i>Staphylococcus aureus</i> PTCC 1112	۱۶±۰/۵۷	۱۳±۰/۵۷	۱۰/۶۷±۰/۵۷	۸/۳۳±۰/۵۷	۰

a: میانگین قطر هاله عدم رشد حاصل از تأثیر عصاره استونی اسپند بر حسب میلی‌متر.

کنترل منفی هیچ‌گونه تأثیری بر روی رشد باکتری‌ها نداشت. تمامی ۱۱ آنتی‌بیوتیک رایج مصرفی بر روی باکتری‌های مورد مطالعه مؤثر بودند. با اندازه‌گیری قطر هاله‌های عدم رشد حاصل از تأثیر آنتی‌بیوتیک‌ها بر روی باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس، مشخص شد که عصاره متانولی اسپند و استوقدوس بیشتر از برخی

نتایج حاصل از بررسی اثرات ضد میکروبی دیسک آنتی‌بیوتیک‌های رایج مصرفی علیه باکتری‌ها و قارچ مورد مطالعه به‌عنوان شاهد مثبت و از دی متیل سولفوکساید ۱۰ درصد به‌عنوان شاهد منفی در جدول ۶ نشان داده شده است (جدول ۶). بر اساس نتایج به‌دست‌آمده دیسک آغشته به دی متیل سولفوکساید به‌عنوان

آنتی‌بیوتیک‌های مورد بررسی تأثیر داشتند. مقایسه قطر هاله‌های عدم رشد حاصل از تأثیر عصاره‌های متانولی و استونی اسپند و استوقدوس بر روی تمام سویه‌های مورد آزمایش نشان داد که اثر آنها با سیپروفلوکساسین تقریباً برابر می‌باشد.

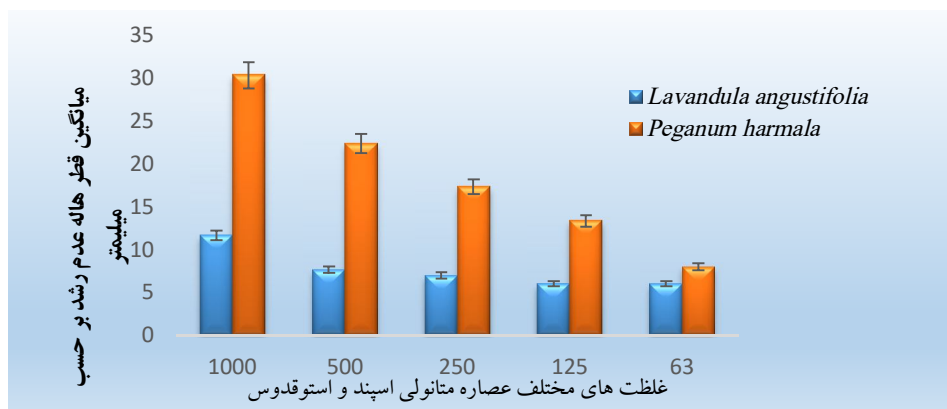
جدول (۶): میانگین قطر هاله‌های عدم رشد حاصل از تأثیر آنتی‌بیوتیک‌ها و دی متیل سولفوکساید ۱۰ درصد

آنتی‌بیوتیک‌ها	<i>P. aeruginosa</i> PTCC 1074	<i>S. aureus</i> PTCC 1112
Gentamycin	۲۴ ^b	۲۴
Clindamycin	N	۲۲/۶۷
Sterptomycin	۱۰/۳۳	۱۲/۳۳
Tetracycline	۱۸/۶۷	۳۰/۶۷
Ciprofloxacin	۳۴/۶۷	۳۴/۳۳
Imipeneme	۳۴	۲۰
Ampicillin	N	۲۹/۳۳
Cefepime	۲۸/۳۳	۳۳/۳۳
Chloramphenicol	N	۱۲/۳۳
Nalidixic acid	۱۱/۶۷	۳۰/۶۷
Penicillin	۱۰	۱۲/۳۳
DMSO	N	N

b- میانگین قطر هاله عدم رشد حاصل از تأثیر آنتی‌بیوتیک‌ها بر حسب میلی‌متر
N- عدم تأثیر

با توجه به نتایج، میانگین قطر هاله‌های عدم رشد اندازه‌گیری شده نشان داد که تنها عصاره متانولی اسپند و استوقدوس دارای اثرات ضد قارچی می‌باشد و عصاره استونی این دو گونه گیاهی مورد بررسی هیچ‌کدام فعالیت ضد قارچی قابل توجهی نشان ندادند. میانگین قطر هاله عدم رشد حاصل از تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره متانولی اسپند (*Peganum harmala*) و استوقدوس (*Lavandula angustifolia*) علیه قارچ کاندیدا آلبیکنز (*Candida albicans* PTCC 5027) نشان داد که هر دو عصاره دارای اثرات ضد قارچی می‌باشند. به طوری که غلظت ۱۰۰۰ می‌گرم بر لیتر عصاره متانولی اسپند مؤثرترین و غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره متانولی استوقدوس کم اثرترین غلظت‌های مؤثر بر روی قارچ کاندیدا آلبیکنز بودند (نمودار ۳).

با توجه به نتایج، میانگین قطر هاله‌های عدم رشد اندازه‌گیری شده نشان داد که تنها عصاره متانولی اسپند و استوقدوس دارای اثرات ضد قارچی می‌باشد و عصاره استونی این دو گونه گیاهی مورد بررسی هیچ‌کدام فعالیت ضد قارچی قابل توجهی نشان ندادند. میانگین قطر هاله عدم رشد حاصل از تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره متانولی اسپند (*Peganum harmala*) و استوقدوس (*Lavandula angustifolia*) علیه قارچ کاندیدا آلبیکنز (*Candida albicans* PTCC 5027) نشان داد که هر دو عصاره دارای اثرات ضد قارچی می‌باشند. به طوری که غلظت ۱۰۰۰ می‌گرم بر لیتر عصاره متانولی اسپند مؤثرترین و غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره متانولی استوقدوس کم اثرترین غلظت‌های مؤثر بر روی قارچ کاندیدا آلبیکنز بودند (نمودار ۳).



نمودار (۳): میانگین قطر هاله عدم رشد حاصل از تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره متانولی اسپند (*Peganum harmala*) و استوقدوس (*Lavandula angustifolia*) علیه قارچ کاندیدا آلبیکنز (*Candida albicans* PTCC 5027)

میلی متر می‌باشد و دیسک‌های آغشته به دی‌متیل سولفوکساید ۱۰ درصد بر روی قارچ کاندیدا آلبیکنز تأثیر نداشت. نتایج حاصل از تأثیر ضدقارچی آنتی‌بیوتیک نیستاتین در مقایسه با اثرات ضدقارچی عصاره متانولی و استونی اسپند و استوقدوس بر روی کاندیدا آلبیکنز نشان داد که، عصاره متانولی اسپند (*Peganum harmala*) بر روی کاندیدا آلبیکنز مؤثرتر از نیستاتین می‌باشد (جدول ۷) ($p \leq 0/01$).

با توجه به میانگین قطر هاله‌های عدم رشد اندازه‌گیری شده و نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها می‌توان نتیجه گرفت که عصاره متانولی اسپند دارای بیشترین تأثیر علیه قارچ کاندیدا آلبیکنز می‌باشد. نتایج همچنین نشان داد که میانگین قطر هاله‌های عدم رشد حاصل از تأثیر نیستاتین^۱ بر روی قارچ کاندیدا آلبیکنز برابر ۱۷

جدول (۷): میانگین قطر هاله‌های عدم رشد حاصل از تأثیر عصاره متانولی و استونی اسپند و استوقدوس و نیستاتین بر روی قارچ کاندیدا آلبیکنز

قارچ	Nystatin	اسپند (<i>Peganum harmala</i>)					استوقدوس (<i>Lavandula angustifolia</i>)				
		۱۰۰۰ ^a	۵۰۰	۲۵۰	۱۲۵	۶۳	۱۰۰۰ ^a	۵۰۰	۲۵۰	۱۲۵	۶۳
<i>Candida albicans</i> PTCC 5027	۱۷ ^b	۳۰/۳۳	۲۲/۳۳	۱۷/۳۳	۱۳/۳۳	۸	۱۱/۶۷	۷/۶۷	۷	۶	۶

a- غلظت‌های مختلف عصاره (برحسب میلی‌گرم بر میلی‌لیتر).

b- میانگین قطر هاله عدم رشد حاصل از تأثیر عصاره برحسب میلی‌متر

متانولی اسپند بر رو استافیلوکوکوس اورئوس ۵۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر می‌باشد. نتایج همچنین نشان داد که حداقل غلظت کشندگی هر دو عصاره گیاهی مؤثر بر روی سوبه‌های مورد آزمون ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر می‌باشد (جدول ۸).

نتایج حاصل از تعیین مقادیر مربوط به حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) نشان داد که، مقدار حداقل غلظت مهارکنندگی هر دو عصاره گیاهی مؤثر بر روی سوبه‌های مورد آزمون به‌استثناء اثر مهارکنندگی عصاره

جدول (۸): مقدار MIC و MBC (برحسب میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) عصاره متانولی هر دو گونه اسپند و استوقدوس بر روی این باکتری‌های سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس اورئوس و قارچ کاندیدا آلبیکنز

	<i>Peganum harmala</i>		<i>Lavandula angustifolia</i>	
	MIC	MBC	MIC	MBC
<i>P. aeruginosa</i> PTCC 1074	500	1000	500	1000
<i>S. aureus</i> PTCC 1112	250	1000	500	1000
<i>Candida albicans</i> PTCC 5027	250	1000	1000	1000

هستند که در طب سنتی و مصارف صنعتی و خوراکی کاربردهای گسترده دارند. امروزه توجه خاصی به این گیاهان و مشتقات آن‌ها به‌منظور استفاده‌های درمانی و مکمل‌های درمانی در بیماری‌های مختلف شده است زیرا مشخص شده گیاهان دارویی موادی با فعالیت

بحث و نتیجه‌گیری

ترکیبات طبیعی منبع مهمی از داروهای جدید و ترکیبات دارویی مؤثر می‌باشند (۱۸). گیاهان دارویی از جمله ترکیبات طبیعی

¹ -Nystatin

ضد میکروبی تولید می‌کنند و می‌توانند جایگزین مناسبی برای آنتی‌بیوتیک‌ها باشند (۱۹).

در این پژوهش اثرات ضد میکروبی دو گونه گیاهی اسپند و استوقدوس علیه پاتوژن‌های استافیلوکوکوس اورئوس، سودوموناس آئروژینوزا و قارچ مخمری کاندیدا آلیکنز مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج حاصل از تأثیر عصاره‌های متانولی و استونی اسپند و استوقدوس نشان داد که از بین دو حلال مورد بررسی تنها عصاره متانولی این دو گونه گیاهی می‌تواند فعالیت ضد میکروبی نشان دهند بنابراین به نظر می‌رسد که متانول بهترین حلال برای استخراج متابولیت‌های ثانویه ضد میکروبی از این گیاهان می‌باشد. صفری و همکاران ۲۰۱۵ ساکتیول^۱ و همکاران ۲۰۱۲ نیز در مطالعات خود نشان دادند که متانول بهترین حلال برای استخراج متابولیت‌های ثانویه ضد میکروبی از می‌باشد (۱۶ و ۲۰). از بین عصاره‌های متانولی دو گونه گیاهی مورد بررسی عصاره متانولی اسپند فعالیت ضدباکتریایی و ضدقارچی معنی‌داری از خود نشان داد. همچنین عصاره متانولی استوقدوس اثرات ضدباکتریایی معنی‌داری نیز از خود نشان داد در حالی که اثرات ضدقارچی این گونه معنی‌دار و قابل توجه نبود. عصاره‌های استونی هر دو گونه گیاهی اسپند و استوقدوس فاقد اثر ضد میکروبی معنی‌داری بود. نتایج حاصل از اثرات ضدباکتریایی عصاره متانولی هر دو گونه گیاهی نشان داد که در مورد هر دو گونه گیاهی مورد بررسی اثر عصاره بر روی باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس بیشتر از باکتری گرم منفی سودوموناس آئروژینوزا است. تحقیقات زیادی نشان دادند که اثرات عصاره‌های به‌دست‌آمده بر روی باکتری‌های گرم مثبت بیشتر از باکتری‌های گرم منفی است (۱۵ و ۲۱). یک توضیح احتمالی برای حساسیت بیشتر باکتری‌های گرم مثبت نسبت به گرم منفی احتمالاً مربوط به اختلاف در ساختار دیواره سلولی و اجزای غشای سلولی می‌باشد. باکتری‌های گرم مثبت دارای یک لایه پپتیدوگلیکان هستند که یک مانع نفوذپذیری غیر مؤثر می‌باشد در حالی که باکتری‌های گرم منفی دارای غشای خارجی و فضای پری پلازمی هستند که یک مانع برای نفوذ مولکول‌های متعددی از آنتی‌بیوتیک‌ها و ترکیبات ضدباکتریایی می‌باشد (۲۲).

بر اساس نتایج به‌دست‌آمده بیشترین قطر هاله عدم رشد حاصل از تأثیر عصاره‌های متانولی اسپند و استوقدوس مربوط به عصاره متانولی اسپند بود، به این ترتیب که قطر هاله عدم رشد حاصل از تأثیر این عصاره بر روی باکتری‌های گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس به اندازه ۳۴/۳۳ میلی‌متر بود در صورتی که بیشترین قطر هاله عدم رشد بر روی باکتری گرم منفی سودوموناس آئروژینوزا به قطر

هاله ۲۰/۶۶ میلی‌متر بوده می‌باشد. داراب پور و همکاران نیز در سال ۲۰۱۱ در مطالعه به بررسی اثرات ضدباکتریایی عصاره اسپند علیه چند باکتری مقاوم به آنتی‌بیوتیک پرداختند و دریافتند که عصاره متانولی اسپند دارای اثرات ضدباکتریایی قابل توجهی علیه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی می‌باشد (۲۳). دانه گیاه اسپند با وجود ترکیبات مؤثری چون آلکالوئیدهای هارمالین، هارمین و هارمالول به‌عنوان یک گیاه با خواص درمانی از قدیم تاکنون مورد توجه قرار گرفته است. ترکیبات استخراج‌شده از این گیاه خواص درمانی مختلفی را نشان داده‌اند. در تحقیقات مشابه ای مشخص شده که عصاره گیاه اسپند دارای آلکالوئیدهای مختلفی می‌باشد که دارای اثرات ضد میکروبی است (۲۴ و ۲۵). نناه در سال ۲۰۱۰ در مطالعه‌ای به بررسی اثرات ضدباکتریایی و ضدقارچی آلکالوئیدهای بتا-کاربولین گیاه اسپند پرداخت و دریافت که هارمان موجود در اسپند دارای بیشترین فعالیت ضدباکتریایی می‌باشد (۲۵). از این رو اثرات ضد میکروبی اسپند را می‌تواند تا حدود زیادی به ترکیبات آلکالوئیدی موجود در آن نسبت داد. نتایج حاصل از بررسی خواص ضدباکتریایی عصاره متانولی استوقدوس نشان داد که این عصاره دارای اثرات ضدباکتریایی قابل توجهی بر روی باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی می‌باشد، به طوری که بیشترین اثر را بر روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس (PTCC 1112) داشت که قطر هاله مهارى اطراف آن ۲۳ میلی‌متر بود. احمدی اسپچین و همکاران نیز در سال ۲۰۱۲ نشان دادند که عصاره استوقدوس دارای اثرات ضدباکتریایی می‌باشد به طوری اثرات ضدباکتریایی این گیاه علیه باکتری‌های گرم مثبت بیشتر از باکتری‌های گرم منفی می‌باشد (۲۶). طبق بررسی‌های صورت گرفته فلاونوئیدها از جمله ترکیباتی که وجود آن به فراوانی در گیاه استوقدوس توسط محققین به اثبات رسیده است (۲۷). این ترکیبات در تمام سلول‌های فتوسنتزی و از این رو در تمام گیاهان وجود دارند و به‌طور گسترده‌ای در میوه، ساقه، گل و برگ گیاهان موجودند (۲۸). مطالعات فراوانی نشان داده که ترکیبات فلاونوئیدی موجود در عصاره برگ گیاهان دارویی دارای خاصیت ضدباکتریایی علیه باکتری‌های بیماری‌زا می‌باشد (۲۹، ۳۰). برای مثال میتانی و همکاران (۲۰۱۸) نشان داده که ترکیبات فنولی و فلاونوئیدهای موجود در عصاره زردآلوی چینی دارای اثرات ضدباکتریایی علیه باکتری‌های سیتروباکتر فرئوندی، انتروباکتر آئروژنز، انتروباکتر کلاسه، اشرشیا کلی، کلبسیلا اوکسیتوکا، پروتئوس میرابلیس و سالمونلا انتریکا می‌باشد (۳۱). از این رو به نظر می‌رسد فعالیت ضدباکتریایی استوقدوس می‌تواند به دلیل وجود ترکیبات فلاونوئیدی موجود در این گیاهان باشد.

¹ Sakthivel

شیمیایی همچون تعداد کم داروهای ضدقارچی مؤثر بر گونه‌های کاندیدا، سمی بودن آن‌ها برای سلول‌های بدن انسان و کاهش حساسیت یکسری از گونه‌های کاندیدا به این داروها، عصاره متانولی گیاه اسپند اثرات بهتری را نشان می‌دهد.

نتیجه‌گیری

در سال‌های اخیر، رویکرد پژوهش‌های جدید به سمت مسائل زیست‌محیطی و استفاده از فرآورده‌های طبیعی در صنعت داروسازی و پزشکی بوده است. فرآورده‌های طبیعی منبع مهمی از داروهای جدید و ترکیبات دارویی مؤثر می‌باشند. بروز اثرات ناخواسته و سمی باقی‌مانده‌های دارویی در مواد غذایی، شیوع مقاومت آنتی‌بیوتیکی در پاتوژن‌های رایج و همچنین عفونت‌های ناشی از قارچ‌های فرصت‌طلبی نظیر مخمر کاندیدا آلبیکنز در دهه‌های اخیر توجه پژوهشگران را به استفاده از گیاهان دارویی معطوف کرده است. با توجه به تحقیق حاضر مشخص شد که عصاره‌ی متانولی اسپند و استوقدوس دارای اثر ضدباکتریایی و ضدقارچی قابل توجه ای علیه باکتری‌های بیماری‌زا و قارچ بیماری‌زای کاندیدا آلبیکنز می‌باشد، لذا این عصاره می‌تواند به‌عنوان یک فرآورده گیاهی طبیعی جهت کنترل عفونت‌های باکتریایی و قارچی مدنظر قرار گیرد. بنابراین استفاده از اسپند و استوقدوس به‌عنوان یک ترکیب ضد میکروبی در شرایط آزمایشگاهی مستلزم تحقیقات بیشتری در زمینه مکانیسم عمل مواد مؤثر این گیاهان بر روی میکروارگانیسم‌ها و مطالعات فارماکولوژیکی می‌باشد. به نظر می‌رسد که انجام این‌گونه مطالعات بر روی آن‌ها ضروری بوده و این مواد را بتوان پس از انجام مطالعات تکمیلی در کنترل برخی بیماری‌های عفونی و حفظ سلامتی انسان به‌خوبی مورد استفاده قرار داد.

همچنین بر اساس نتایج این مطالعه رابطه مستقیمی بین افزایش غلظت عصاره و میزان اثرات بازدارندگی از رشد آن وجود دارد، این نتایج با یافته‌های صفری و احمدی اسپین (۲۰۱۹) و همچنین زندی و همکاران (۲۰۱۵) مطابقت دارد که افزایش غلظت‌های مختلف عصاره منجر به افزایش فعالیت ضدباکتریایی و افزایش قطر هاله عدم رشد می‌شود (۲۱، ۳۲).

با تأثیر ۱۶ نوع آنتی‌بیوتیک بر روی باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی مورد بررسی مشخص شد که، مؤثرترین آنتی‌بیوتیک علیه این باکتری‌ها سیپروفلوکساسین، سفپیم، ایمی پنم و تتراسایکلین و کم اثرترین آنتی‌بیوتیک علیه این باکتری‌ها پنی‌سیلین و کلرامفنیکل بود، که این نتایج با نتایج مطالعات مندز و همکاران (۲۰۰۵) در برزیل و چن و وانگ (۲۰۰۲) در چین در ایالت متحده همخوانی دارد (۳۳، ۳۴).

در بررسی خواص ضدقارچی عصاره متانولی اسپند و استوقدوس علیه قارچ مخمری کاندیدا آلبیکنز مشخص شد که، عصاره متانولی اسپند بیشترین اثر ضدقارچی را بر روی قارچ کاندیدا آلبیکنز مورد بررسی داشته است، به‌طوری‌که بیشترین تأثیر این عصاره با قطر هاله مهاری ۳۰/۳۳ بود. کمترین اثر را عصاره متانولی استوقدوس کمترین اثر ضدقارچی علیه قارچ مخمری کاندیدا آلبیکنز را نشان داد. این نتایج با یافته‌های نائینی و همکاران ۲۰۱۱ مطابقت دارد (۳۵). در این تحقیق مشخص گردید که حساسیت قارچ مورد بررسی به عصاره متانولی بیشتر از عصاره استونی می‌باشد، بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که متانول بهترین حلال برای استخراج ترکیبات ضدقارچی از گیاهان اسپند و استوقدوس می‌باشد. نتایج حاصل از این مطالعه همچنین نشان داد که اثر عصاره متانولی اسپند علیه کاندیدا آلبیکنز در مقایسه با آنتی‌بیوتیک نیستاتین بیشتر است، از این‌رو با توجه به محدودیت‌های استفاده از داروهای

phitochemicals on antibiotic resistant bacteria. Braz J Microbiol 2000; 31(4): 247-56.

References:

1. Mercy R, David Udo E. Natural products as lead bases for drug discovery and development. Res Rep Med Sci 2018;2(1): 1-2.
2. Al-Rifai A, Aqel A, Al-Warhi T, et al. Antibacterial, antioxidant activity of ethanolic plant extracts of some Convolvulus species and their DART-ToF-MS profiling. Evid Based Complementary Altern Med 2017;2017: 1-9.
3. Nascimento GGF, Locatitelli J, Freitas PC, Silva GL. Antibacterial activity of plant extracts and
4. Bhullar K, Waglechner N, Pawlowski A, Koteva K, Banks ED, et al. Antibiotic Resistance Is Prevalent in an Isolated Cave Microbiome. PLoS One 2012; 7(4): 34-53.
5. Abdel-Hady AA, EL-Nashas HA, EL Nabrawy SK, Abdel Raouf HA. Evaluation of the Antioxidant Activity and the Acute Oral Toxicity of the Antioxidant Activity and the Acute Oral Toxicity of Three Plant Extracts on Albino Mice. Middle East J App Sci 2014; 4(2): 207-16.

6. Johnson OO, Ayoola GA. Antioxidant activity among selected medicinal plants combinations (multi-component herbal preparation). *Int J Res Health Sci* 2015; 3(1): 526–32.
7. Savoia D. Plant-derived antimicrobial compounds: alternatives to antibiotics. *Future Microbiol* 2012;7(8): 979-90
8. Mohammadi-Sichani M, Amjad L, Mohammadi-Kamalabadi M. Antibacterial activity of methanol extract and essential oil of *Achillea wilhelmsii* against pathogenic bacteria. *Zahedan J Res Med Sci* 2011;13(3): 9-14.
9. Sharaf M., el- Ansari A., Matlin SA., Saleh NA. Four flavonoid glycosides from *Peganum harmala*. *Phytochemistry* 1997;44(3): 533- 6.
10. Mohsenipour Z, Hassanshahian M. Antibacterial activity of *Espanol* (*Peganum harmala*) alcoholic extracts against six pathogenic bacteria in planktonic and biofilm forms. *Bio J Microorg* 2016;16(4): 109-20.
11. Zeinali T, Mohsenzadeh M, Rezaeian-Doloei R, Nabipour R. In vitro assessment of antimicrobial effect of methanolic extract of *Peganum harmala* against some important foodborne bacterial pathogens. *Food Hyg* 2016;5(1): 27-36.
12. Ahmady-Asbchin S. and Mostafapour M.J. Antibacterial interactions Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) and essential oils of lavender (*Lavandula stoechas*) on two Grampositive and three Gram-negative bacteria in vitro. *J Mol Cell Res* 2018;2: 177-87.
13. Nouri F, Raoofi A, Dadfar S. Antifungal Activity of *Lavandula Angustifolia* and *Quergues Infectoria* Extracts in Comparison with Nystatin on *Candida Albicans*. *Sci J of Hamadan Univ Med Sci* 2016;23(2): 172-78.
14. Rabani M, Rezaeian-Doloei R, Jabari-Noghabi M. Antibacterial effect of lavender essential oils on *Xanthomonas campestris* and *Escherichia coli*. *J Sustain Agric* 2014; 2(2): 33-42.
15. Ahmady-Asbchin S, Safari M, Moradi H, Sayadi V. Antibacterial effects of methanolic and ethanolic leaf extract of Medlar (*Mespilus germanica*) against bacteria isolated from hospital environment. *Arak Med Univ J* 2013;16(75): 1-13.
16. Safari M, Ahmady-Asbchin S, Soltani N. In Vitro Assessment of Antimicrobial Activity from Aqueous and Methanolic Extracts of Some Species of Cyanobacteria. *Biol J of Microorg* 2015; 4(14): 111-30.
17. Ahmady-Asbchin S, Safari M, Soltani N, Kamali M. In vitro Antibacterial Activity of Methanol, Ether and Aqueous Extracts in Some Species of Cyanobacteria. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2014; 24(117): 39-54.
18. Cragg G.M, Newman, D.J. Natural products: A continuing source of novel drug leads. *Biochim Biophys Acta* 2013: 1830;3670–95.
19. Tasdelen-Fisgin N, Tanriverdi-Cayci Y, Yilmaz-Coban A, Ozatli D, Tanyel E, Durupinar B, Tulek N. Antimicrobial activity of plant extract Ankaferd Blood Stopper. *Fitoterapia* 2009;80: 48–50.
20. Sakthivel K, Kathiresan K. Antimicrobial activities of marine cyanobacteria isolated from mangrove environment of south east coast of India. *J Nat Prod* 2012;5: 147-56.
21. Safari M & Ahmady-Asbchin S. Evaluation of antioxidant and antibacterial activities of methanolic extract of medlar (*Mespilus-germanica* L.) leaves. *Biotechnol Biotechnol Equip* 2019;33(1): 372-8.
22. Shan L, He P, Sheen J. Intercepting host MAPK signaling cascades by bacterial type III effectors. *Cell Host Microbe* 2007; 1(3): 167–74.
23. Darabpour E, Poshtkouhian A, Motamedi H, Seyyed-Nejad S.M. Antibacterial Activity of Different Parts of *Peganum Harmala* L. Growing In Iran against Multi-Drug Resistant Bacteria. *EXCLI Journal* 2011;10: 252-63.
24. Hayet E, Maha M, Mata M, Mighri Z, Laurent G, Mahjoub A. Biological activities of *Peganum harmala* leaves. *Afr J Biotechnol* 2010; 9(48): 8199-205.

25. Nenaah G. Antibacterial and antifungal activities of (beta)-carboline alkaloids of *Peganum harmala* (L) seeds and their combination effects. *Fitoterapia* 2010; 81: 779-782.
26. Ahmady-Abchin S, Nasrolahi-Omran A, Jafari N, Mostafapour M.J. Antibacterial effects of *Lavandula Stoechas* Essential Oil, on Gram Positive and Negative Bacteria in Vitro. *Med Lab J* 2012;6(2): 34-41.
27. Kim HM, Cho SH. Lavender oil inhibits immediate type allergic reaction in mice and rats. *J Pharmacy Pharmacol* 1999;51(2): 221-26.
28. Cushnie TPT, Lamb AJ. Antimicrobial activity of flavonoids. *Int J Antimicrob Ag* 2005; 26: 343-356.
29. Xie Y, Yang W, Tang F, Chen X, Ren L. Antibacterial Activities of Flavonoids: Structure-Activity Relationship and Mechanism. *Curr Med Chem*. 2015;22(1): 132-49.
30. Mandal S.M, Dias R.O, Franco O.L. Phenolic Compounds in Antimicrobial Therapy. *J Med Food* 2017;20(10): 1031-8.
31. Mitani T, Ota K, Inaba N, Kishida K, Koyama H.A. Antimicrobial Activity of the Phenolic Compounds of *Prunus mume* against Enterobacteria. *Biol Pharm Bull* 2018;41(2): 208-12.
32. Zandi H, Hajimohammadi B, Amiri A, Ranjbar A.M, Mozaffari khosravi H, Fallah-zadeh H, Vahidi AR, Dehghan A. Antibacterial Effects of (*Mentha X Piperita* L.) Hydroalcoholic Extract on the Six Food-Borne Pathogenic Bacteria. *J Toloobehdasht Sci* 2015;15(4): 22-33.
33. Mendes C, Oplustil C, Sakagami E, Turner P, Kiffer C. Antimicrobial susceptibility in intensive care units: Mystic Program Brazil 2002. *Braz J Infect Dis* 2005; 9: 44-53.
34. Chen MJ, Wang H. Continuous surveillance of antimicrobial resistance among nosocomial gram-negative bacilli from intensive care units in China. *J Chin Med Assoc* 2002;83(5): 375-81.
35. Naini A, Naseri M, Kamal-nejad M, Khosh-Zaban F, Rajabian T, namy HI-z, et al. Effects of essential oils and extracts of medicinal plants on 50 standard strains of *Candida Albicans* in vitro. *J Med Plants* 2011;10(38): 163-72.

IN VITRO EVALUATION OF ANTIMICROBIAL EFFECTS OF METHANOLIC AND ACETONIC EXTRACTS OF *PEGANUM HARMALA* AND *LAVANDULA ANGUSTIFOLIA* AGAINST SOME OF HUMAN PATHOGENIC MICROORGANISMS

Pantea Zamanifar¹, Moein Safari^{2*}

Received: 27 July, 2019; Accepted: 31 May, 2022

Abstract

Background & Aims: Emergence of antibiotic resistance has been led to consideration and efforts to achieve new drug combinations. Antimicrobial compounds derived from plants, eliminated bacteria by mechanisms different from antibiotics. The aim of this study was to evaluate the antimicrobial effects of methanolic and acetonc extracts of *Peganum harmala* and *Lavandula angustifolia* against some of human pathogenic microorganisms.

Materials & Methods: The microorganisms used in this study were prepared from Persian Type Culture Collection, Iran. Soxhlet extraction method was used for extraction. Disk diffusion method was used to study the antimicrobial effect, and broth microdilution method was used to determine the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) as well as Minimum Bactericidal Concentration (MBC) in the extraction.

Results: The results showed that methanolic extracts of both *P. harmala* and *L. angustifolia* had antibacterial effect, while between acetonc extracts, only acetonc extract of *P. harmala* had antibacterial activity. The highest antibacterial effect was related to methanolic extract of *P. harmala*, as inhibition zone diameter of this extract against Gram positive *S. aureus* was 34.33 millimeters. The results showed that both methanolic extracts had antifungal activity also. Minimum bactericidal concentration for bacteria and fungi was 1000 mg/ml.

Conclusion: According to the results of this study, methanolic extract of both *P. harmala* and *L. angustifolia* had significant antibacterial and antifungal activity against pathogenic bacteria as well as fungi *C. albicans*, Therefore, these extracts can be considered as natural herbal products for managing bacterial and fungal infections.

Keywords: Antimicrobial, *P. harmala*, *L. angustifolia*, Disk Diffusion, Broth Microdilution

Address: Department of Biology, Faculty of Basic Science, Ilam University, Ilam, Iran

Tel: +989367263245

Email: Safari_moein@yahoo.com

SOURCE: STUD MED SCI 2022: 32(11): 876 ISSN: 2717-008X

Copyright © 2022 Studies in Medical Sciences

This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-noncommercial 4.0 International License which permits copy and redistribute the material just in noncommercial usages, provided the original work is properly cited.

¹ Department of biology, Faculty of Basic Science, Islamic Azad University, Varamin-Pishva branch, Tehran, Iran

² Department of Biology, Faculty of Basic Science, Ilam University, Ilam, Iran