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

پانتهآ زمانی‌فر[1]، معین صفری[2]*

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 موردتوجه قرار داده است. ترکیبات ضدمیکروبی به‌دست‌آمده 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 مورداستفاده در این پژوهش از مرکز کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های ایران تهیه شد. برای تهیه عصاره از روش سوکسله استفاده شد. به‌منظور بررسی اثر ضد باکتریایی از روش انتشار دیسک و برای تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) از روش براث میکرودیلوشن استفاده گردید.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که عصاره متانولی هر دو گیاه اسپند و استوقدوس دارای فعالیت ضد باکتریایی می‌باشند درحالی‌که، از بین عصاره استونی تنها عصاره استونی اسپند اثر ضدباکتریایی داشت. بیشترین اثر ضدباکتریایی 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. 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 ضدباکتریایی و ضدقارچی قابل‌توجهی علیه باکتری‌های بیماری‌زا و قارچ بیماری‌زای کاندیدا آلبیکنز می‌باشند، لذا این عصاره‌ها می‌توانند به‌عنوان فرآورده‌های گیاهی طبیعی جهت کنترل عفونت‌های باکتریایی و قارچی مدنظر قرار گیرند.

کلیدواژه‌ها: ضدمیکروبی، اسپند، استوقدوس، انتشار در دیسک، براث میکرودیلوشن

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

استفاده از ترکیبات دارویی با منشأ گیاهی از زمان‌های بسیار دور موردتوجه بشر بوده است. داروهای که امروز در دنیا به‌طور وسیعی برای درمان انواع بیماری‌ها اعم از عفونت‌های باکتریایی 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 به‌طوری‌که ترکیبات گیاهی و مشتقات آن‌ها تقریباً یک‌سوم کل داروهای موجود را تشکیل می‌دهد)۲). یکی 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 موردتوجه قرار داده است)۴). علاوه بر این تحقیقات نشان داده است که داروهای گیاهی سرشار از ترکیبات مختلف دارای فعالیت‌های

[1] دانش آموخته کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین-پیشوا، تهران، ایران

[2] دانش آموخته کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه ایلام، ایران (نویسنده مسئول)

زیستی بوده به‌طوری‌که از تولید ترکیبات اکسیدان ناشی از واکنش‌های متابولیسمی نامطلوب داروهای صنعتی و ترکیبات شیمیایی جلوگیری می‌کنند(۵).

امروزه از گیاهان دارویی فراوانی به‌منظور کنترل بیماری‌های عفونی و از بین بردن باکتری‌های بیماری‌زا استفاده می‌شود (۶). گزارش‌های متعددی در مورد فعالیت‌های ضد میکروبی ترکیبات گیاهی منتشر شده است ترکیباتی نظیر پلی فنل‌ها، آلکالوئیدها، ترپن‌ها و کومارین‌ها نقش مهمی در تأثیر عصاره گیاهان بر رشد میکروارگانیسم‌ها دارند(۷). ترکیبات ضدمیکروبی به‌دست‌آمده از گیاهان با مکانیسم‌هایی متفاوت از آنتی‌بیوتیک‌ها، باکتری‌ها را حذف می‌کنند که این مسئله در درمان عفونت‌های ناشی از سویه-های مقاوم میکروبی ازنظر بالینی حائز اهمیت است. با توجه به رویکرد دوباره برای مصرف داروها و فرآورده‌های گیاهی، بررسی خواص دارویی گیاهان اندمیک هر منطقه از اهمیت خاصی برخوردار می‌باشد(۸). ازجمله گیاهان پر خواص دارویی ایران می‌تواند به اسپند و استوقدوس اشاره نمود که اثرات درمانی آن‌ها از دیرباز موردتوجه بوده است. اسپند (نام انگلیسی harmala) گیاهی چندساله متعلق به خانواده (zygophyllaceae) است و به‌عنوان یک گیاه دارویی دارای کاربردهای متنوعی می‌باشد. قسمت مورداستفاده این گیاه دانه‌ها هستند. گیاه اسپند در بسیاری از نقاط ایران ازجمله اطراف تهران، قم، قزوین، کرج، تبریز، کرمان، نواحی مختلف فارس، سیستان و بلوچستان، نواحی مختلف خراسان، سمنان، دامغان و حواشی کویرهای ایران می‌روید و دارای خواص دارویی فراوانی می‌باشد (۹). گیاه اسپند دربردارنده مواد ضد میکروبی از نوع فلاونوئیدها و آلکالوئیدها می‌باشد، که این مواد در بخش‌های مختلف آن (دانه، کالوس و نهال) زیاد یافت می‌شود. ازجمله آلکالوئیدهای مهم آن می‌توان به هارمین وهارمالین و هارمالول و پگانین 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 می‌شود. مطالعات دانشمندان مصری نشان داده که دانه‌ی اسفند دارای خاصیت قارچ و میکروب‌کش قوی است. مطالعات انجام‌شده بروی اسفند در ایران، توسط پژوهش گران دانشکده داروسازی تهران مشخص نمود که ترکیبات اصلی گیاه دارای خواص متعددی ازجمله خواص ضدسرطانی است و این نتایج با نتایج منتشر شده در بعضی کشورها ازجمله ترکیه کاملاً متفاوت است)۱۰). همچنین زینلی و همکاران در سال ۱۳۹۴ پژوهشی درباره اثر ضد باکتریایی عصاره متانولی گیاه اسپند بر روی تعدادی از باکتری‌های مهم بیماری‌زای مواد غذایی انجام دادند. طبق نتایج آن‌ها عصاره متانولی گیاه اسپند بر روی باکتری‌های اشریشیا کلی O157: H7، سالمونلا تیفی‌موریوم و لیستریا مونوسیتوژنز دارای اثرات ضدباکتریایی مطلوبی بود(۱۱).

استوقدوس (اسطوخدوس) گیاهی است که از آن به‌عنوان ضدعفونی‌کننده طبیعی، آنتی‌بیوتیک، ضدافسردگی، سم‌زدا و مسکن استفاده می‌شود. امروزه نیز استوقدوس برای پیش‌گیری، درمان و از بین بردن لکه‌های ناخوشایند به کار برده می‌شود (۱۲). طبق مطالعات انجام‌شده اسانس استوقدوس دارای حدود ۴۰ درصد استات لینالیل است، همچنین در آن ترکیباتی نظیر اسید بوتیریک، اسید پروپیونیک و اسید والریک، لینالول آزاد و ژرانبول، اسانس روغنی، اسانس اسپیک، اترهای لینالیل و ژیلانیل، ژرانیول، پینن، سینئول، تانن، فنکن، بورنئول وجود دارد که کابردهای درمانی دارند)۱۳). مطالعات انجام‌شده بروی استوقدوس در ایران محدود است برای مثال، ربانی و همکاران (۱۳۹۳) در مطالعه‌ای اثر ضدباکتریایی اسانس اسطوخودوس را بر روی دو باکتری *Xanthomonas campestris* و *Escherichia coli* در شرایط آزمایشگاهی موردبررسی قرار دادند. آن‌ها دریافتند که بیشترین ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس اسطوخودوس شامل اینالول (۴۴٪/۹۴) و ۱-۸- سینئول (۱۵٪/۲۱) می‌باشد. نتایج مطالعه آن‌ها نشان داد که اسانس اسطوخودوس اثر ضدباکتریایی قابل‌توجه ای علیه باکتری‌های *Escherichia coli* و *Xanthomonas campestris* دارد و می‌توان از آن به‌عنوان یک ترکیب ضدباکتریایی طبیعی به‌جای سموم شیمیایی و آنتی‌بیوتیک‌ها در مبارزه با باکتری‌های بیماری‌زای گیاهی یا انسانی استفاده کرد(۱۴). هدف از این مطالعه بررسی اثر ضد باکتریایی و ضد قارچی عصاره‌های متانولی و استونی دو گونه گیاه دارویی به نام‌های اسپند و استوقدوس علیه برخی از میکروارگانیسم‌های بیماری‌زای انسانی در شرایط آزمایشگاهی می‌باشد.

مواد و روش کار

جمع‌آوری و آماده‌سازی گیاهان:

در این مطالعه تجربی، برگ گیاه استوقدوس (*Lavandula angustifolia*) از پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی با کد هرباریوم گیاهی ۱۰۹۲ و دانه‌های اسپند (*Peganum harmala*) به مقدار لازم از عطاری تهیه شد. پس از شناسایی و تفکیک گونه‌ها، سرشاخه‌های برگ گیاه استوقدوس و دانه‌های اسپند برای تهیه عصاره مورداستفاده قرار گرفت.

روش تهیه عصاره:

برای تهیه عصاره‌ها، ابتدا سرشاخه‌های برگ گیاه استوقدوس و دانه‌های اسپند چند بار با آب مقطر شستشو و سپس در سایه و

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 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 آون 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 آون برای هر یک از گونه‌های گیاهی موردبررسی در جدول ۱ و ۲ آمده است (جدول ۲ و ۱).

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

مقدار عصاره خشک (میلی‌گرم)	زمان لازم جهت خشک شدن عصاره در آون (ساعت)	زمان لازم جهت عصاره گیری در سوکسله (ساعت)	گونه‌های گیاهی موردبررسی
۲۸۰۰	۲۵	۳۸	*Lavandula angustifolia*
۲۶۰۰	۱۶	۲۰	*Peganum harmala*

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

مقدار عصاره خشک (میلی‌گرم)	زمان لازم جهت خشک شدن عصاره در آون (ساعت)	زمان لازم جهت عصاره گیری در سوکسله (ساعت)	گونه‌های گیاهی موردبررسی
۶۰۰	۲۴	۳۶	*Lavandula angustifolia*
۵۰۰	۹	۱۸	*Peganum harmala*

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

آماده‌سازی سویه‌های باکتری و قارچ:

در این تحقیق اثرات ضدمیکروبی عصاره استونی و متانولی هر یک از گونه‌های گیاهی جمع‌آوری‌شده بر روی دو گونه باکتری 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[1] مشخص، به‌صورت لیوفیلیزه[2] شده خریداری گردید (جدول ۳).

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

باکتری گرم مثبت	*Staphylococcus aureus* PTCC 1112
باکتری گرم منفی	*Pseudomonas aeruginosa* PTCC 1074
قارچ	*Candida albicans* PTCC 5027

پس از انتقال میکروارگانیسم‌ها به‌صورت لیوفیلیزه شده به آزمایشگاه، محیط نوترینت براث برای باکتری‌ها و محیط سابرودکستروز براث برای قارچ تهیه شد و در سه لوله‌ی استریل درب دار به مقدار ۱۰ میلی‌لیتر از آن ریخته، سپس شیشه‌هایی که میکروارگانیسم‌های لیوفلیزه در آن قرار داشتند در شرایط استریل زیر هود، از قسمت بالای آن شکسته و با آنس سوزنی استریل

[1]-Persian Type Culture Collection

[2] lyophilize

مقداری از میکروارگانیسم‌ها در محیط‌های تهیه‌شده 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. پس‌ازاین مدت میکروارگانیسم‌ها توسط سوآپ استریل به‌صورت چمنی روی محیط کشت نوترینت آگار برای باکتری‌ها و سابرودکستروز آگار برای قارچ کشت داده شد و سپس دور پلیت ها به‌وسیله پارافیلم بسته شد. پس پایان زمان گرمخانه گذاری، میکروارگانیسم‌ها برای تهیه سوسپانسیون نیم مک فارلندی به‌صورت خطی روی محیط آگار دار مناسب کشت داده شدند.

تهیه سوسپانسیون نیم مک‌فارلندی:

برای تهیه سوسپانسیون نیم مک فارلند از باکتری‌ها ($۱/۵ \times ۱۰^{۸}$cfu/ml) و قارچ (۱×۱۰^{۶}cfu/ml) ابتدا باکتری‌ها و قارچ موردنظر را به‌طور 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. به‌این‌ترتیب که به‌اندازه تعداد میکروارگانیسم‌ها لوله استریل تهیه گردید و داخل هر لوله به مقدار ۱۰ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی ریخته شد. سپس به‌وسیله‌ی آنس حلقوی از کلنی‌های باکتری‌ها و قارچ موردبررسی 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[1] استفاده شد. از سوسپانسیون ورتکس شده باکتری‌ها در کوئیت‌های شیشه‌ای مخصوص دستگاه ریخته و جذب نوری ($OD^{۲}$) آن‌ها تعیین شد. به‌منظور تهیه کدورت نیم مک فارلندی باید OD در طول‌موج ۶۲۰ نانومتر برابر ۰/۱-۰/۰۸ شود. درنهایت از تمام باکتری‌ها و قارچ موردبررسی غلظت نیم مک فارلندی تهیه شد)۱۶).

روش بررسی فعالیت ضدمیکروبی:

در این تحقیق به‌منظور بررسی اثر ضد میکروبی عصاره استونی و متانولی گیاهان موردبررسی از روش انتشار دیسک[3] و برای تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) از پلیت‌های ۹۶ خانه‌ای استریل و روش براث میکرودیلوشن استفاده گردید. ابتدا از تمام عصاره‌های متانولی و استونی به‌دست‌آمده به‌وسیله 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 تهیه‌شده 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 به‌طور 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 جذب‌شده توسط هر دیسک در رقت‌های مختلف در جدول ۴ آمده است. به‌این‌ترتیب دیسک‌ها برای بررسی خواص ضد میکروبی آماده شد. از سوسپانسیون نیم مک‌فارلندی باکتری‌ها و قارچ موردبررسی با سوآپ استریل برداشته و به ترتیب در محیط کشت مولر هینتون آگار (مرک آلمان) و سابورودکستروزآگار به‌صورت 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).

جدول (۴): مقدار عصاره جذب‌شده 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.

[1]- Spectrophotometer
[2] -Optical density
[3] Disk diffusion

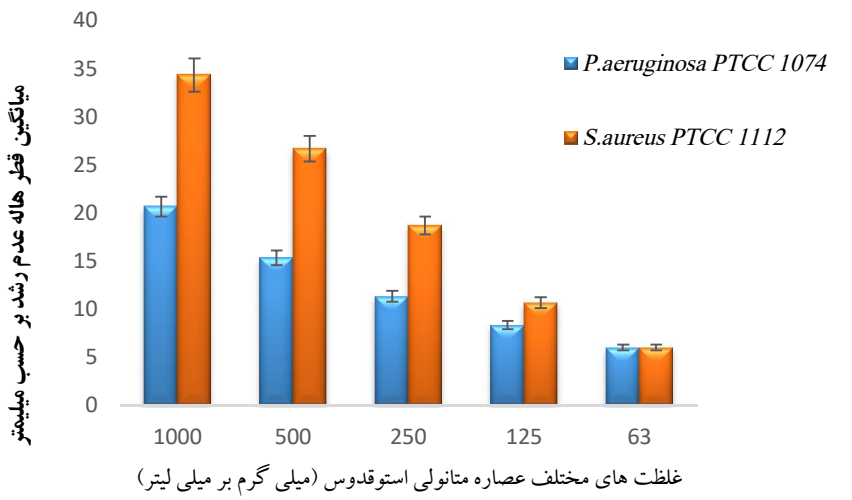
جهت مقایسه قدرت ضدمیکروبی عصاره‌ها از دیسک آنتی‌بیوتیک‌های رایج مصرفی علیه باکتری‌ها و قارچ موردمطالعه به‌عنوان شاهد مثبت و از دی‌متیل‌سولفوکساید ۱۰ درصد به‌عنوان شاهد منفی استفاده شد.

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 خانه‌ای استریل و روش براث میکرودیلوشن[1] طبق دستورالعمل CLSI[2] انجام شد. به هر یک از چاهک‌ها ۵۰ میکرولیتر محیط نوترینت براث 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 ۲۴-۱۸ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند، سپس با مقایسه‌ی کدورت چاهک‌های تحت تیمار با چاهک‌های 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 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

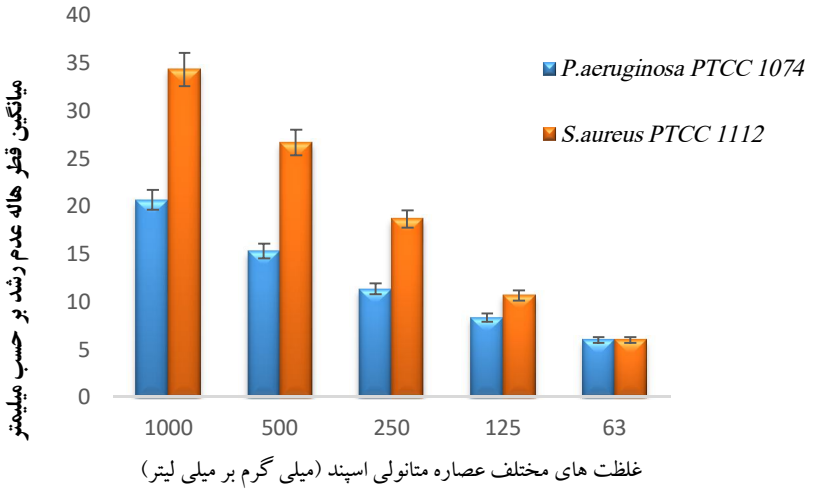
نتایج حاصل از اندازه‌گیری میانگین قطر هاله‌های عدم رشد حاصل از تأثیر غلظت‌های ۶۳ تا ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر نشان داد که عصاره متانولی هر دو گونه اسپند و استوقدوس دارای فعالیت ضد باکتریایی بر روی این باکتری‌ها می‌باشند درحالی‌که، از بین عصاره استونی این دو گونه گیاهی موردبررسی تنها عصاره استونی اسپند (*Peganum harmala*) بر روی دو باکتری سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس اورئوس تا حدودی اثر داشت. تجزیه‌وتحلیل داده‌ها در سطح یک درصد نشان داد که خطای محاسبه‌شده تقریباً برابر صفر است ($p\text{-value} \leq ۰/۰۱$).



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

[1] -broth microdilution

[2] -Clinical and Laboratory Standards Institute.



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

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 درصورتی‌که 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 این باکتری‌ها به غلظت‌های ۱۰۰۰، ۵۰۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم بر میلی-لیتر 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.

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

	۱۰۰۰	۵۰۰	۲۵۰	۱۲۵	۶۳
Pseudomonas aeruginosa PTCC 1074	۱۵/۳۳±۰/۵۷	۱۲/۶۷±۰/۶	۹/۵±۰/۱/۱۵	۷/۳۳±۰/۵۷	۰
Staphylococcus aureus 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 برحسب میلی‌متر.

نتایج حاصل از بررسی اثرات ضدمیکروبی دیسک آنتی‌بیوتیک‌های رایج مصرفی علیه باکتری‌ها و قارچ موردمطالعه 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 کنترل منفی هیچ‌گونه تأثیری بر روی رشد باکتری‌ها نداشت. تمامی ۱۱ آنتی‌بیوتیک رایج مصرفی بر روی باکتری‌های موردمطالعه مؤثر بودند. با اندازی گیری 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

آنتی‌بیوتیک‌های موردبررسی 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 عصاره متانولی اسپند در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از تمام آنتی‌بیوتیک‌های مؤثر بر روی سویه‌های مورد آزمایش بیشتر است و تنها با سیپروفلوکساسین تقریباً برابر می‌باشد.

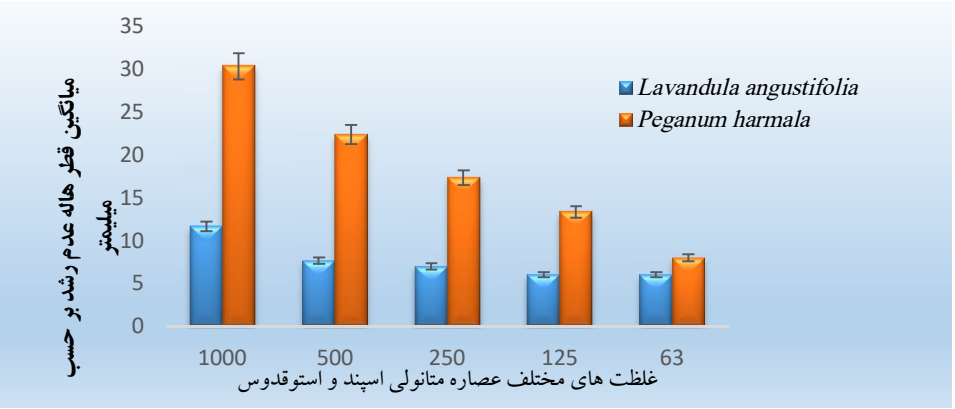
جدول (۶): میانگین قطر هاله‌های عدم رشد حاصل از تأثیر آنتی‌بیوتیک‌ها و دی متیل سولفوکساید ۱۰ درصد

آنتی‌بیوتیک‌ها	*P. aeruginosa* PTCC 1074	*S. aureus* 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
Ampicilln	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 برحسب 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 دوگونه گیاهی موردبررسی هیچ‌کدام فعالیت ضد قارچی قابل‌توجهی نشان ندادند. میانگین قطر هاله عدم رشد حاصل از تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره متانولی اسپند (*Peganum harmala*) و استوقدوس (*Lavandula angustifolia*) علیه قارچ مخمری کاندیدا آلبیکنز (*Candida albicans PTCC 5027*) نشان داد که هر دو عصاره دارای اثرات ضد قارچی می‌باشند. به‌طوری‌که غلظت ۱۰۰۰ می گرم 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 مخمری کاندیدا آلبیکنز (*Candida albicans* PTCC 5027)

با توجه به میانگین قطر هاله‌های عدم رشد اندازه‌گیری شده و نتایج حاصل از تجزیه‌وتحلیل 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[1] بر روی قارچ کاندیدا آلبیکنز برابر ۱۷ میلی‌متر 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) ($p \leq ۰/۰۱$).

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 (*Peganum harmala*)					استوقدوس (*Lavandula angustifolia*)				
		۱۰۰۰[a]	۵۰۰	۲۵۰	۱۲۵	۶۳	۱۰۰۰[a]	۵۰۰	۲۵۰	۱۲۵	۶۳
Candida albicans 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

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 سویه‌های مورد آزمون به‌استثناء اثر مهارکنندگی عصاره 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 سویه‌های مورد آزمون ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر می‌باشد (جدول ۸).

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

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

بحث و نتیجه‌گیری

ترکیبات طبیعی منبع مهمی از داروهای جدید و ترکیبات دارویی مؤثر می‌باشند (۱۸). گیاهان داروئی ازجمله ترکیبات طبیعی 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 مشخص‌شده گیاهان دارویی موادی با فعالیت

[1] -Nystatin

ضد میکربی 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 آلبیکنز موردبررسی قرار گرفتند. نتایج حاصل از تأثیر عصاره‌های متانولی و استونی اسپند و استوقدوس نشان داد که از بین دو حلال موردبررسی تنها عصاره متانولی این دو گونه گیاهی می‌توانند فعالیت ضدمیکروبی نشان دهند بنابراین به نظر می‌رسد که متانول بهترین حلال برای استخراج متابولیت‌های ثانویه ضدمیکروبی از این گیاهان می‌باشد. صفری و همکاران ۲۰۱۵ ساکتیول[1] و همکاران ۲۰۱۲ نیز در مطالعات خود نشان دادند که متانول بهترین حلال برای استخراج متابولیت‌های ثانویه ضدمیکروبی از می‌باشد (۱۶ و ۲۰). از بین عصاره‌های متانولی دو گونه گیاهی موردبررسی عصاره متانولی اسپند فعالیت ضدباکتریایی و ضدقارچی معنی‌داری از خود نشان داد. همچنین عصاره متانولی استوقدوس اثرات ضدباکتریایی معنی‌داری نیز از خود نشان داد درحالی‌که اثرات ضدقارچی این‌گونه معنی‌دار و قابل‌توجه نبود. عصاره‌های استونی هر دو گونه گیاهی اسپند و استوقدوس فاقد اثر ضدمیکروبی معنی‌داری بود. نتایج حاصل از اثرات ضدباکتریایی عصاره متانولی هر دو گونه گیاهی نشان داد که در مورد هر دو گونه گیاهی موردبررسی 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 درحالی‌که باکتری‌های گرم منفی دارای غشای خارجی و فضای پری پلاژمی 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، به‌این‌ترتیب که قطر هاله عدم رشد حاصل از تأثیر این عصاره بر روی باکتری‌های گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس به‌اندازه ۳۴/۳۳ میلی‌متر بود درصورتی‌که 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 قابل‌توجهی علیه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی می‌باشد (۲۳). دانه گیاه اسپند باوجود ترکیبات مؤثری چون آلکالوئیدهای هارمالین، هارمین و هارمالول به‌عنوان یک گیاه با خواص درمانی از قدیم تاکنون موردتوجه قرار گرفته است. ترکیبات استخراج‌شده از این گیاه خواص درمانی مختلفی را نشان داده‌اند. در تحقیقات مشابه ای مشخص‌شده که عصاره گیاه اسپند دارای آلکالوئیدهای مختلفی می‌باشد که دارای اثرات ضدمیکروبی 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). ازاین‌رو اثرات ضدمیکروبی 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 قابل‌توجهی بر روی باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی می‌باشد، به‌طوری‌که بیشترین اثر را بر روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس (PTCC 1112) داشت که قطر هاله مهاری اطراف آن ۲۳ میلی‌متر بود. احمدی اسبچین و همکاران نیز در سال ۲۰۱۲ نشان دادند که عصاره استوقدوس دارای اثرات ضدباکتریایی می‌باشد به‌طوری اثرات ضدباکتریایی این گیاه علیه باکتری‌های گرم مثبت بیشتر از باکتری‌های گرم منفی می‌باشد)۲۶).. طبق بررسی‌های صورت گرفته فلاوونوئیدها ازجمله ترکیباتی که وجود آن به فراوانی در گیاه استوقدوس توسط محققین به اثبات رسیده است)۲۷). این ترکیبات در تمام سلول‌های فتوسنتزی و ازاین‌رو 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 فلاوونوئیدهای 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). ازاین‌رو به نظر می‌رسد فعالیت ضدباکتریایی استوقدوس می‌تواند به دلیل وجود ترکیبات فلاونوئیدی موجود در این گیاهان باشد.

[1] Sakthivel

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 اسبچین (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 موردبررسی 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 موردبررسی 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 موردبررسی 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، ازاین‌رو با توجه به محدودیت‌های استفاده از داروهای 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 قابل‌توجه 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 ضدمیکروبی 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 مورداستفاده قرار داد.

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 phitochemicals on antibiotic resistant bacteria. Braz J Microbiol 2000; 31(4): 247-56.
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 Nabarawy 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 Espand (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. Anti-bacterial 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 Tolooebehdasht 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.

Original Article

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

***Pantea Zamanifar*[1], *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 acetonic 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 acetonic extracts, only acetonic 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*