

Assessment of Antibacterial Effect of Alcoholic Extract of *Centaurea depressa* M.B., *Reseda lutea* L. and *Fumaria asepala* on Selected Standard Strains in Vitro

Abolfazl Jafari-Sales^{1*}, Hayedeh Mobaiyen², Behboud Jafari³, Javad Sayyahi⁴

1- Young Researchers and Elite Club, Ahar Branch, Islamic Azad University, Ahar, Iran.

2- Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Tabriz branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.

3- Department of Microbiology, Ahar Branch, Islamic Azad University, Ahar, Iran.

4- Young Researchers and Elite Club, Ahar Branch, Islamic Azad University, Ahar, Iran.

*Corresponding Author: Abolfazl Jafari-Sales, Tel: +98(0)914-7611841, Fax: +98 414-2274746, E-mail: a.jafari_1392@yahoo.com

Received: 21 Aug 2019

Accepted: 22 Oct 2019

Abstract

Background & Aim: The incidence of drug resistance against chemical antimicrobial drugs, has led in recent years to the use of medicinal plants in the treatment of infections is high. The aim of this study was to determine the antibacterial effect of plants *Centaurea depressa* M.B., *Reseda lutea* and *Fumaria asepala* is on some pathogenic bacteria.

Materials & Methods: plants of the city of Marand East Azerbaijan province of Iran in the spring were collected by botanists and Agriculture Organization, *C.depressa* M.B., *R.lutea* and *F.asepala* and medicinal plants were approved. After preparation of the plant extracts, concentration concentrations 50- 400 mg / ml, the extract from the agar well diffusion and disk diffusion method on bacteria were studied. The minimum bactericidal concentration and the minimum inhibitory concentration (MIC / MBC) were performed by dilution test.

Results: The results showed that the inhibitory effect of alcoholic extracts of *C.depressa* MB and *R.lutea* the Gram-positive bacteria, Gram-negative bacteria is more than alcoholic extract of *F.asepala* The inhibitory effect on gram-negative bacteria than bacteria Gram positive. Analysis of test MBC / MIC showed that extracts of medicinal plants most susceptible to *B.cereus* and *E. coli* was the least sensitive.

Conclusion: the plant extracts tested in vitro on the growth of pathogenic bacteria has significant inhibitory effects. In order to further clinical trials are necessary clinical application of these extracts.

Keywords: Medicinal Plants, Anti-Bacterial, Pathogenic Bacteria, Extract

How to cite this article:

Jafari-Sales A, Mobaiyen H, Jafari B, Sayyahi J. Assessment of Antibacterial Effect of Alcoholic Extract of *Centaurea depressa* M.B., *Reseda lutea* L. and *Fumaria asepala* on Selected Standard Strains in Vitro. *Scientific Journal of Nursing, Midwifery and Paramedical Faculty*. 2019; 5 (3): 63-73.

URL: <http://sjnmp.muk.ac.ir/article-1-276-fa.html>

بررسی اثر ضد باکتریایی عصاره الکلی گل گندم، اسپرک زرد و شاه تره در مقابل سویه‌های استاندارد منتخب در شرایط آزمایشگاهی

ابوالفضل جعفری ثالث*^۱، هایده مبین^۲، بهبود جعفری^۳، جواد سیاحی^۱

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اهر، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، اهر، ایران.

۲- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تبریز، گروه میکروبیولوژی دانشکده پزشکی، تبریز، ایران.

۳- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اهر، گروه میکروبیولوژی، اهر، ایران.

نویسنده مسئول: ابوالفضل جعفری ثالث، نمابر: +۹۸۴۱۴۲۲۷۴۷۴۶، تلفن: ۰۹۱۴۷۶۱۱۸۴۱، ایمیل: a.jafari_1392@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۷/۳۰

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۵/۳۰

چکیده

زمینه و هدف: بروز مقاومت‌های دارویی علیه داروهای ضد میکروبی شیمیایی، سبب شده است که در سال‌های اخیر به استفاده از گیاهان دارویی در درمان عفونت‌ها توجه زیادی شود. هدف از این پژوهش تعیین اثر ضد باکتریایی عصاره گیاهان گل گندم، اسپرک زرد و شاه تره بر روی برخی از باکتری‌های پاتوژن است.

مواد و روش‌ها: گیاهان مورد آزمایش از شهرستان مرند در استان آذربایجان شرقی ایران در فصل بهار جمع‌آوری شد و توسط گیاه‌شناسان سازمان جهاد کشاورزی، به‌عنوان گل گندم، اسپرک زرد و شاه تره مورد تأیید واقع شدند. پس از تهیه عصاره الکلی گیاهان مذکور، تأثیر غلظت‌های ۵۰ الی ۴۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، از این عصاره به روش انتشار از چاهک و انتشار از دیسک بر روی باکتری‌ها مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی رشد باکتری‌ها و حداقل غلظت کشندگی باکتری‌ها (MIC/MBC) به روش رقت در لوله انجام گرفت.

یافته‌ها: یافته‌ها نشان داد که اثر مهار عصاره‌های الکلی اسپرک زرد و گل گندم بر باکتری‌های گرم مثبت بیش از باکتری‌های گرم منفی است همچنین اثر مهار عصاره‌های الکلی شاه تره بر باکتری‌های گرم منفی بیش از باکتری‌های گرم مثبت است. آنالیز آزمون MBC/MIC نشان داد که عصاره گیاهان دارویی بیشترین حساسیت رو به باکتری باسیلوس سرئوس و کمترین حساسیت رو به اشیریشیا کلی داشت.

نتیجه‌گیری: عصاره الکلی گیاهان مورد بررسی در شرایط آزمایشگاهی بر رشد باکتری‌های بیماری‌زا اثرات مهارکنندگی فراوانی دارد. به منظور کاربرد بالینی این عصاره‌ها انجام تحقیقات بالینی ضروری است.

واژه‌های کلیدی: گیاهان دارویی، اثرات آنتی‌باکتریال، باکتری‌های پاتوژن، عصاره

مقدمه

بی‌شک توسل به گیاهان دارویی، کهن‌ترین رهیافت بشر برای درمان بیماری‌ها بوده است و در خلال توسعه تمامی تمدن‌های بشری همواره ارتباطی تنگاتنگ و نزدیک میان آدمی و گیاه وجود داشته است. با این حال هنوز بیش‌تر گونه‌های گیاهی بررسی نشده و ناشناخته مانده‌اند و هنوز زمان زیادی مانده است تا منابع جدید

و با ارزش گیاهی کشف شوند (۱-۳). به این ترتیب گیاهان را می‌توان به عنوان منبعی از مواد شیمیایی بالقوه مفید دانست که تنها بخشی از آن مورد بهره‌برداری قرار گرفته است. این مواد شیمیایی بالقوه مفید را می‌توان نه تنها به عنوان دارو بلکه به عنوان الگویی بی‌نظیر به صورت نقطه شروعی برای ساخت آنالوگ‌های دارویی به کار برد و همچنین به عنوان ابزاری جالب به منظور فهم و درک بیشتر و بهتر

آسیاست. شاه‌تره اکثراً در کنار جاده‌ها و یا به‌عنوان علف هرز مزارع می‌روید و بیشتر توسط کشورهای شرقی اروپا صادر می‌شود. شاه‌تره حاوی حدود ۱٪ آلکالوئید است که بیش از ۳ مورد آن‌ها تعیین فرمول شده‌اند و در نتیجه مشخص شده است که اکثراً از مشتقات بنزیل اینتروکینولین هستند. مهم‌ترین این آلکالوئیدها شامل فومارین (پروتوین) فوماری لین و سیناکسین هستند. از دیگر ترکیبات مهم آن می‌توان فلاونوئیدها و اسیدهای گیاهی به ویژه اسید فوماریک و مویسلاژ را نام برد (۱۳). مبین و همکاران (۱۴) در سال ۲۰۱۷، جعفری ثالث و همکاران (۱۵) در سال ۲۰۱۷ اثرات میکروب‌کشی اسانس گیاه گل‌گندم و اسپرک زرد را گزارش کردند. طالعی و همکاران در سال ۱۳۸۷ اثرات ضد اشیریشیاکلی عصاره شاه‌تره را گزارش نمودند (۱۶). با توجه به قرن‌ها استفاده عمومی از این گیاهان و اطمینان از سلامتی مصرف آن‌ها یافتن اثرات ضد باکتریایی در آن‌ها با روش‌های علمی هدف این پژوهش بود، لذا این مطالعه به بررسی خواص ضد باکتریایی گیاهان گل‌گندم، اسپرک زرد و شاه‌تره بر روی برخی از باکتری‌های استاندارد پاتوژن در شرایط آزمایشگاهی پرداخته است.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری و عصاره‌گیری گیاهان: در این مطالعه توصیفی آزمایشگاهی گیاهان مورد نظر از عرصه‌های طبیعی اطراف شهرستان مرند در استان آذربایجان شرقی، روستای عیش‌آباد با مشخصات جغرافیایی ۴۵ درجه و ۱۵ دقیقه تا ۴۵ درجه و ۵۰ دقیقه طول شرقی و ۳۸ درجه و ۷ دقیقه تا ۳۸ درجه و ۵۶ دقیقه عرض شمالی و ارتفاع از سطح دریا ۱۳۳۴ متر، طی دو مرحله در پایان اردیبهشت و اوایل خردادماه جمع‌آوری گردیدند و سپس نمونه‌های جمع‌آوری‌شده توسط گیاه

پدیده‌های زیست‌شناختی به کمک گرفت (۴-۶). امروزه کاربرد وسیع آنتی‌بیوتیک‌ها و استفاده بی‌رویه از داروهای ضد میکروبی منجر به افزایش مقاومت‌های دارویی علیه آنتی‌بیوتیک‌های متفاوت در اکثر باکتری‌ها گردید از طرف دیگر با توجه بروز مقاومت‌های دارویی علیه داروهای ضد میکروبی شیمیایی، سبب شده است که استفاده از گیاهان دارویی در درمان عفونت‌ها توجه زیادی شود در شرایط کنونی نیاز به به‌کارگیری روش‌های جدید کنترل عفونت‌های میکروبی احساس می‌شود (۷، ۸). گل‌گندم با نام علمی *Centaurea depressa* در محصولات زراعتی تابستانه، گیاهی یک‌ساله و در بین محصولات زراعی زمستانه، گیاهی دوساله است. گل‌گندم را می‌توان در مزارع غلات به خصوص غلات زمستانه، مراتع شخم‌خورده مشاهده کرد. علاوه بر این علف هرز فوق‌قادر است حاشیه‌ی جاده‌ها و دیگر مناطق کشت نشده را نیز آلوده سازد (۹). این گیاه قرن‌ها پیش برای بیماری‌هایی که در بیشتر موارد مربوط به چشم می‌شد قابل استفاده بوده است. ساقه‌ی گل‌گندم درد ناشی از پارگی‌ها و بریدگی‌ها را التیام می‌دهد. جوشانده‌ی این گیاه برای ماساژ صورت و درمان جوش‌ها و آکنه نیز مفید است. گل‌گندم خواص درمانی زیادی دارد، از جمله این که دارای ویتامین‌های A و B و E است (۹-۱۱). اسپرک زرد با نام علمی *Reseda lutea L* گیاهی است یک‌ساله‌ی زمستانه و یا چندساله که توسط بذر تکثیر می‌یابد. این گونه انتشار وسیعی در آسیا و اروپا دارد و به یکی از عنوان علف هرز مهم در مزارع یافت می‌شود (۱۲). شاه‌تره گیاهی است با نام علمی *Fumaria officinalis* و یا گونه‌های دیگری از جمله *F. Asepala* و *F. Vaillantii* که از خانواده شاه‌تره است و نام عمومی آن در جهان *Fumitory* است. گونه اول که گیاه اصلی دارویی آن است بومی اروپا و

شناسان آزمایشگاه گیاه‌شناسی و هرباریوم سازمان جهاد کشاورزی و منابع طبیعی استان آذربایجان شرقی در حد جنس و گونه شناسایی و مورد تأیید قرار گرفت. در جمع‌آوری نمونه‌ها دقت کافی به عمل آمد که نمونه‌ها از یک محدوده‌ی جغرافیایی تهیه شوند. پس از اتمام کار جمع‌آوری، در فضایی بزرگ و مناسب و در شرایط دور از نور آفتاب خشک شدند پس از خشک شدن کامل نمونه‌ها و جدا کردن اندام‌های هوایی ساقه و برگ از ریشه‌ها، آن‌ها (ساقه و برگ) برای آسیاب شدن آماده شد. به این ترتیب که به منظور افزایش سطح تماس قطعات گیاه با آب مقطر، آن‌ها با آسیاب برقی پودر شدند. بهتر است این کار دقایقی قبل از عمل عصاره‌گیری انجام گیرد و از بالا رفتن دمای آسیاب

جلوگیری شود زیرا دمای بالای آسیاب بر کیفیت عصاره اثر می‌گذارد.

جهت عصاره‌گیری از روش سوکسوله استفاده شد به طوری که ۳۰۰ گرم از پودر گیاهی (ساقه و برگ) همراه با ۳۰۰ میلی‌لیتر به عنوان حلال به مدت ۸ ساعت در دستگاه عصاره‌گیر سوکسوله قرار داده شد این حلال در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد و با استفاده از دستگاه روتاری به آرامی تبخیر و عصاره تغلیظ شده از آن به دست آمد (شکل ۱). سپس با استفاده از حلال ۵٪ DMSO غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر جهت استفاده در آزمون انتشار از چاهک انتشار از دیسک و تعیین MIC/MBC تهیه گردید (طبق پروتکل (17) CLSI).

شکل ۱. عصاره‌گیری با روش سوکسوله و خالص‌سازی عصاره با استفاده از روتاری



شکل ۱. عصاره‌گیری با روش سوکسوله و خالص‌سازی عصاره با استفاده از روتاری

محیط کشت مولر هیتون آگار پخش شد. بلافاصله در روی محیط کشت فوق، چاهک‌هایی به قطر ۵ میلی‌متر و به فاصله ۲ سانتی‌متر از هم ایجاد شد و ۱۰۰ میکرو لیتر از رقت‌های عصاره که ابتدا به آن اشاره شد در داخل چاهک تلقیح شد. شاهد منفی با استفاده از محلولی که برای حل کردن عصاره‌ها به کار گرفته شد (5% DMSO) به دست آمد و از آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین نیز به منزله شاهد مثبت استفاده گردید. بعد از اتمام کار، تمامی محیط کشت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار

تعیین اثر ضد باکتریایی عصاره‌ها: به منظور تعیین اثر ضد میکروبی عصاره‌ها از سویه‌های لیوفیلیزه *Staphylococcus aureus* (ATCC: 25923), *Bacillus cereus* (PTCC: 1052) *Escherichia coli* (ATCC: 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC: 27853) که از انستیتوپاستور ایران خریداری گردید استفاده شد. در این روش، ابتدا از باکتری‌های مورد آزمایش سوسپانسیونی معادل کدورت استاندارد نیم مک فارلند تهیه شد و توسط سوآپ استریل از هر یک از نمونه باکتری برای سطح

۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون میکروبی تهیه شده اضافه گردید. به عنوان شاهد مثبت لوله‌ای با محتویات (محیط کشت حاوی باکتری، بدون عصاره) و به عنوان شاهد منفی لوله‌ای با محتویات (محیط کشت بدون باکتری) نیز تهیه شدند. بعد از اتمام کار، تمام لوله‌ها به انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۴۸-۲۴ انتقال داده شدند. پس از طی زمان انکوباسیون، لوله‌ها از نظر کدورت ناشی از رشد باکتری تلقیح شده بررسی گردیدند. کمترین رقت از عصاره که در آن کدورتی مشاهده نگردید (عدم رشد) به عنوان MIC در نظر گرفته شد. برای تعیین حداقل غلظت کشندگی عصاره‌ها (MBC) از تمامی لوله‌هایی که در آن‌ها عدم رشد مشاهده شده بود. در سطح محیط کشت مولر هینتون اگر کشت داده شد. محیط کشت تلقیح شده به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند، پس از طی زمان انکوباسیون، لوله‌ها از نظر کدورت ناشی از رشد باکتری تلقیح شده بررسی شده و آخرین رقتی که در آن هیچ‌گونه کدورتی مشاهده نگردید (عدم رشد) به عنوان MIC در نظر گرفته شد. پس از آن از تمامی لوله‌هایی که در آن‌ها عدم رشد باکتری مشاهده شده بود نمونه برداری صورت گرفت و از طریق کشت در پلیت حداقل غلظت کشنده (MBC) تعیین گردید (۲۱). نتایج آزمایش‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS 16 مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند و نمودارهای موردنیاز، توسط نرم‌افزار Excel رسم گردید. برای گروه‌بندی و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه و انجام تست تعقیبی LSD انجام گردید. در این مطالعه p کمتر از ۰/۰۱ معنی‌دار تلقی شد.

داده شد و در نهایت هاله‌های عدم رشد باکتری بر حسب میلی‌متر توسط کولیس اندازه‌گیری شد (۱۸)، قطر هاله‌ها عکس‌العملی از غلظت عصاره مورد آزمایش می‌باشد. این پدیده یک ارتباط خطی بین هاله و لگاریتم غلظت عصاره مورد آزمایش است که با اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد و مقایسه آن با استاندارد مشخص، قدرت ضد میکروبی عصاره مورد آزمایش تعیین می‌شود. روش انتشار از دیسک مشابه روش انتشار چاهک است با این تفاوت که بجای ایجاد چاهک در سطح آگار از دیسک‌های آغشته به غلظت‌های مختلف عصاره الکلی استفاده می‌شود. روش کار بدین صورت است که ابتدا غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از عصاره تهیه کرده و دیسک‌های بلانک استریل را به آن‌ها آغشته نموده و زمان دادیم تا خشک شود. بعد از فروردن سواب استریل را به آن‌ها آغشته نموده و زمان دادیم تا خشک شود. بعد از فروردن سواب استریل در سوسپانسیون میکروبی، اضافه محلول با فشار دادن سواب به کناره لوله گرفته شده و سپس در تمام سطح پلیت کشیده گردید. به عنوان شاهد مثبت آزمایش از آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین و به عنوان شاهد منفی از ۵% DMSO استفاده شد. پلیت‌ها به مدت ۱۶ تا ۱۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد، سپس با استفاده از کولیس قطر هاله عدم رشد بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری شد (۲۰). آزمون تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی رشد باکتری (MIC) و حداقل کشندگی باکتری (MBC) به صورت رقت لوله‌ای صورت گرفت. جهت تعیین MIC، از عصاره الکلی تهیه شده، سری‌های رقت ۰/۷۸ و ۱/۵۶، ۳/۱۲۵، ۶/۲۵، ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر در محیط کشت مولر هینتون برات تهیه شد. سپس به هر کدام از رقت‌ها

یافته‌ها

در این پژوهش با استفاده از روش انتشار از چاهک و انتشار از دیسک و تأثیر عصاره‌های الکلی گیاهان گل‌گندم، اسپرک زرد و شاه‌تره بر روی باکتری‌های مورد آزمایش مشخص شد که این عصاره‌ها اثر بازدارندگی فراوان بر روی باکتری‌های مورد آزمایش داشت و هرچقدر میزان غلظت عصاره‌های الکلی افزایش می‌یافت اثر بازدارندگی هم به صورت افزایش هاله‌های عدم رشد بیشتر و چشمگیرتر می‌شد. این مطالعه نشان داد که اثر مهارتی عصاره‌های الکلی گل‌گندم با روش انتشار از دیسک و انتشار از چاهک بر باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سرئوس بیشتر از باکتری‌های سودوموناس آئروژینوزا و اشیریشیا کلی است همچنین اثر مهارتی عصاره‌های الکلی اسپرک زرد بر باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سرئوس بیشتر از باکتری‌های سودوموناس آئروژینوزا و

اشیریشیا کلی است اما اثر مهارتی عصاره‌های الکلی شاه‌تره بر باکتری‌های اشیریشیا کلی و آئروژینوزا بیش از باکتری‌های باسیلوس سرئوس و استافیلوکوکوس اورئوس است نتایج حاصل از تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره‌های الکلی با روش انتشار از چاهک و انتشار از دیسک در جدول ۱ تا ۲ آمده است در این دو روش اندازه قطر هاله عدم رشد باکتری‌های مذکور دارای تفاوت‌هایی بود.

آنالیز آزمون MBC/MIC نشان داد که عصاره گیاهان دارویی بیشترین حساسیت رو به باکتری باسیلوس سرئوس و کمترین حساسیت رو به اشیریشیا کلی داشت. نتایج آزمون MBC /MIC عصاره‌های الکلی علیه باکتری‌های منتخب به روش لوله‌ای در جدول ۳ آمده است.

جدول ۱. قطر هاله عدم رشد باکتری‌ها بر حسب میلی‌متر در غلظت‌های مختلف عصاره‌های الکلی به روش انتشار از چاهک

		عصاره الکلی گل‌گندم (<i>Centaurea depressa</i> M.B.) و قطر هاله عدم رشد				
		۴۰۰	۲۰۰	۱۰۰	۵۰	غلظت (mg/ml)
کنترل مثبت	کنترل منفی	باکتری				
۱۸	-	۲۴/۴±۰/۸	۱۸/۶±۰/۸	۱۳/۲±۰/۸	۹±۰/۷	استافیلوکوکوس اورئوس
۱۷/۷۰	-	۱۹/۲±۱/۳	۱۵/۸±۰/۸	۱۱/۸±۰/۸	۷/۸±۰/۸	باسیلوس سرئوس
۱۳/۸۰	-	۱۴/۴±۰/۸	۱۲/۴±۰/۸	۹/۴±۰/۸	۶/۸±۰/۸	سودوموناس آئروژینوزا
۱۵	-	۱۰/۶±۰/۸	۷/۴±۰/۵	--	--	اشیریشیا کلی
عصاره الکلی اسپرک زرد (<i>Reseda lutea</i> L.) و قطر هاله عدم رشد						
۱۷	-	۱۹/۴±۰/۸	۱۶/۲±۱/۳	۱۱±۰/۷	۸/۶±۰/۸	استافیلوکوکوس اورئوس
۱۷/۲۰	-	۱۵/۸±۰/۸	۱۰/۶±۰/۸	۸/۲±۰/۴	--	باسیلوس سرئوس
۱۴/۱۰	-	--	--	--	--	سودوموناس آئروژینوزا
۱۴/۲۶	-	۱۳/۸±۰/۸	--	--	--	اشیریشیا کلی
عصاره الکلی شاه‌تره (<i>Fumaria asepalae</i>) و قطر هاله عدم رشد						
۱۸/۲۴	-	۱۲/۶±۰/۸	۱۰±۰/۷	۹/۸±۰/۸	۶/۴±۰/۵	استافیلوکوکوس اورئوس
۱۸/۷۰	-	۱۳/۶±۱/۳	۱۱/۲±۰/۴	۱۰/۸±۰/۸	۷/۸±۰/۴	باسیلوس سرئوس
۱۲/۹۰	-	۲۱/۲±۰/۴	۱۶±۰/۷	۱۲±۰/۷	۹/۸±۰/۸	سودوموناس آئروژینوزا
۱۶/۵۶	-	۲۲±۰/۷	۱۷/۴±۰/۸	۱۳/۴±۰/۸	۱۰/۶±۰/۸	اشیریشیا کلی

جدول ۲. قطر هاله عدم رشد باکتری‌ها بر حسب میلی‌متر در غلظت‌های مختلف عصاره‌های الکلی به روش انتشار از دیسک

		عصاره الکلی گل گندم (<i>Centaurea depressa</i> M.B.) و قطر هاله عدم رشد					غلظت (mg/ml)	باکتری
شاهد مثبت	شاهد منفی	۴۰۰	۲۰۰	۱۰۰	۵۰			
۱۷/۲۶	-	۲۱/۷±۰/۸	۱۶±۰/۷	۱۲/۴±۰/۸	۸±۱/۲	استافیلوکوکوس اورئوس		
۱۶/۱۷	-	۱۵/۸±۰/۸	۱۳±۰/۷	۱۰/۲±۰/۴	۶/۸±۰/۸	باسیلوس سرئوس		
۱۴/۶۵	-	۱۴±۰/۷	۱۱/۶±۱/۳	۸±۰/۷	--	سودوموناس آئروژینوزا		
۱۴/۷۳	-	۸/۸±۱/۶	۶/۸±۰/۴	--	--	اشریشیاکلی		
عصاره‌های، اسپرک زرد (<i>Reseda lutea</i> L.) و قطر هاله عدم رشد								
۱۸/۲۳	-	۱۸±۱	۱۵/۸±۰/۸	۱۰/۴±۰/۸	۷/۴±۰/۸	استافیلوکوکوس اورئوس		
۱۶/۲۴	-	۱۳/۸±۰/۴	۹/۴±۰/۸	۷/۶±۰/۸	--	باسیلوس سرئوس		
۱۵/۴۰	-	--	--	--	--	سودوموناس آئروژینوزا		
۱۵/۸۶	-	۱۲/۷±۰/۸	۸±۰/۷	--	--	اشریشیاکلی		
عصاره الکلی شاه‌تره (<i>Fumaria asepal</i>) و قطر هاله عدم رشد								
۱۷/۲۴	-	۱۱±۱	۹/۸±۰/۸	۶/۸±۰/۴	--	استافیلوکوکوس اورئوس		
۱۷/۵۷	-	۱۲/۲±۰/۴	۱۱/۸±۰/۴	۸/۴±۰/۵	--	باسیلوس سرئوس		
۱۳	-	۲۰±۱	۱۵±۰/۷	۱۱/۶±۱/۳	۹±۰/۷	سودوموناس آئروژینوزا		
۱۴/۴۱	-	۱۲/۲±۰/۴	۱۰/۸±۰/۴	۸/۸±۰/۸	۶/۸±۰/۸	اشریشیاکلی		

جدول ۳. حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی رشد عصاره‌های الکلی گیاه گل گندم، اسپرک زرد و شاه‌تره بر روی سویه‌های استاندارد

عصاره الکلی گل گندم (<i>Centaurea depressa</i> M.B.)		غلظت	باکتری
MBC mg/ml	MIC mg/ml		
۵۰	۱۲/۵		استافیلوکوکوس اورئوس
۲۵	۱۲/۵		باسیلوس سرئوس
۵۰	۲۵		سودوموناس آئروژینوزا
۱۰۰	۵۰		اشریشیاکلی
عصاره الکلی، اسپرک زرد (<i>Reseda lutea</i> L.)			
۵۰	۶/۲۵		استافیلوکوکوس اورئوس
۵۰	۲۵		باسیلوس سرئوس
۱۰۰	۵۰		سودوموناس آئروژینوزا
۲۰۰	۵۰		اشریشیاکلی
عصاره الکلی شاه‌تره (<i>Fumaria asepal</i>)			
۵۰	۱۲/۵		استافیلوکوکوس اورئوس
۶/۲۵	۳/۱۲۵		باسیلوس سرئوس
۵۰	۲۵		سودوموناس آئروژینوزا
۱۰۰	۵۰		اشریشیاکلی

بحث و نتیجه گیری

مقاومت اکتسابی باکتری‌ها یکی از اصلی‌ترین موانع در برابر شیمی‌درمانی ضد میکروبی است و باعث شده که بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌های با ارزش گذشته کمتر مورد استفاده قرار گیرند. کسب مقاومت به چندین داروی آنتی‌باکتریایی به شدت رو به افزایش است. از طرف دیگر آنتی‌بیوتیک‌ها معمولاً عوارض جانبی بسیاری دارند که گاه سبب محدودیت کاربرد این داروها می‌شود (۳). استفاده از گیاهان دارویی برای درمان بیماری‌ها قرن‌ها سابقه دارد. امروزه با اینکه بخش عظیمی از داروهای مصرفی، شیمیایی هستند اما تخمین زده می‌شود که دست کم یک سوم کلیه فراورده‌های دارویی یا منشأ گیاهی دارند و یا پس از استخراج از گیاه تغییر شکل یافته‌اند (۲). پژوهش‌های زیادی نشان داده‌اند که بسیاری از گیاهان دارویی با وجود دارا بودن ویژگی‌های ضد باکتریایی، اثرات جانبی کم‌تری ایجاد می‌کنند. گیاه گل گندم قرن‌ها پیش برای بیماری‌هایی که در بیشتر موارد مربوط به چشم می‌شد قابل استفاده بوده است. معجزه‌ای که این گیاه در درمان ورم ملتحمه‌ی چشم و پف کردن آن و هم‌چنین درد چشم می‌کند توسط متخصصان گیاه‌شناسی به خوبی شناخته شده است. ساقه‌ی گل گندم درد ناشی از پارگی‌ها و بریدگی‌ها را التیام می‌دهد. جوشانده‌ی این گیاه برای ماساژ صورت و درمان جوش‌ها و آکنه نیز مفید است (۲۲). در سال ۲۰۰۳، چلیبان و همکاران بر روی فعالیت ضد میکروبی اسانس هفت گونه گیاهی از تیره‌های مختلف از جمله گل گندم، بر روی برخی از باکتری‌های بیماری‌زا مطالعه انجام دادند و مشخص شد که اسانس گیاه گل گندم اثر ضد باکتریایی بر روی استافیلوکوکوس اورئوس، اش‌ریشیاکلی دارد. این مطالعه با روش انتشار چاهکی در آگار انجام گرفت و قطر هاله‌های عدم رشد به دست آمده با نتایج یافته‌های

مطالعه حاضر مطابقت دارد (۲۳). در سال ۲۰۱۱، عسکری و همکاران مطالعه‌ای تحت عنوان بررسی ترکیب‌های شیمیایی اسانس اندام‌های مختلف گونه گل گندم را انجام دادند که برای جداسازی و شناسایی ترکیب‌های اسانس از دستگاه‌های گاز کروماتوگرافی (GC) متصل به طیف‌سنج جرمی (GC/MS) استفاده کردند (۲۴). در سال ۲۰۱۲، چوبینه مطالعه‌ای تحت عنوان بررسی ترکیبات دو گونه علف هرز گل گندم و اسپرک زرد انجام داد که مشخص شد بیشترین ترکیبات حاصل از دو گیاه Decane، Dodecane و Undecane است (۲۳). کلوندی و همکارانش در سال ۲۰۰۷، مشخص کردند که گیاهان گل گندم و گل گندم آبی (*Centaurea cyanus L*) جزو گیاهان دارویی با بیشترین پراکنش در این استان (همدان) می‌باشند (۲۵). Susu GH در سال ۲۰۰۹ مشخص کرد که گیاه گل گندم آبی دارای خاصیت آنتی‌باکتریال و جزو گیاهان دارویی با مصارف پزشکی می‌باشد (۲۶). مبین و همکاران طی مطالعه‌ای در سال ۱۳۹۴ نشان دادند که اسانس هر دو گیاه گل گندم و گل گندم اثر میکروب‌کشی دارد. در این بین بیشترین اثر روی سویه‌ی اش‌ریشیاکلی بود و نتایج حاصل از GC/MS از اسانس گل گندم ۲۸ ترکیب و از اسانس گل گندم آبی ۳۲ ترکیب شناسایی شد (۱۴). در طب گیاهی از ریشه و سرشاخه‌های گیاه اسپرک به عنوان هضم‌کننده‌ی غذا، اشتهاآور، ضد انگل، ضد تشنج، ضد عفونی‌کننده و در درمان اسهال خونی، ورم معده، سوزش ادرار مفید و استفاده می‌شد (۹). Kumarasamy و همکاران طی مطالعه‌ای در سال ۲۰۰۲، مشخص کردند که گیاه اسپرک زرد دارای فعالیت ضد میکروبی روی استافیلوکوکوس اورئوس، استافیلوکوکوس هومینیس و سریشیا مارسنس است (۲۷).

آیروژینوزا گزارش کردند (۳۱). طالعی و همکارانش بیشترین اثر ضد باکتریایی شاه‌تره را در اشیریشیاکلی گزارش دادند که با یافته‌های مطالعه حاضر مطابقت دارد (۱۶). در کل، نتایج بررسی‌ها در شرایط آزمایشگاهی نشان دادند که عصاره استخراج‌شده از گیاهان دارویی دارای فعالیت ضد میکروبی علیه استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سرئوس، سودوموناس آئروژینوزا و اشیریشیاکلی می‌باشند که می‌توان به عنوان یک پیشنهادی مناسب در تولید داروهای گیاهی جدید پس از بررسی‌های بیشتر روی حیوانات آزمایشگاهی با کمترین عوارض جانبی به دلیل غیر شیمیایی بودن، علیه باکتری‌های فوق بکار برده شوند. همچنین به نظر می‌رسد که با بررسی‌های بیشتر روی ترکیب‌های مؤثره در اجزا بتوان ساختار این ترکیب‌ها را مشخص نمود که در مراحل بعد با آگاهی از ساختار آن‌ها به طور دقیق‌تر روی مکانیسم احتمالی این ترکیب‌ها در ایجاد اثرهای هم‌افزایی با آنتی‌بیوتیک‌ها بحث کرد.

سپاسگزاری

این طرح با کد ۹۳۳۸۲ و با حمایت‌های مالی باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان واحد اهر انجام گرفته است. لذا نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از زحمات مسئولین محترم باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان واحد اهر کمال تشکر و قدردانی را داشته باشند.

تضاد منافع

بدین وسیله نویسندگان تصریح می‌نمایند که هیچ‌گونه تضاد منافی در خصوص پژوهش حاضر وجود ندارد.

کاظمی طی مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۳، با آنالیز بخش‌های هوایی گیاه اسپرک زرد، ۴۲ ترکیب شامل ۹۵/۶٪ کل ترکیبات را شناسایی کرد که در این بین *benzoinitrile*, *palmitic acid*, *hexahydrofarnesyl acetone*, *n-heptacosane*, *ionone* and *(Z)-phytol* بیشترین ترکیبات را به خود اختصاص دادند (۲۸). Niko و همکاران طی مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۴، مشخص کردند که گیاه اسپرک زرد دارای خواص سیتوتوکسیک بوده و دارای ترکیبات *Benzyl isothiocyanate* و α -1-2 *rhamnosyloxy*-*benzyl isothiocyanate* است (۲۹). جعفری ثالث و همکاران طی مطالعه‌ای در سال ۹۶ مشخص کردند که اسانس گیاه اسپرک زرد بیشترین اثر ضد باکتریایی را بر روی اشیریشیاکلی و کمترین اثر را بر روی استافیلوکوکوس اورئوس دارد (۱۵). گیاه شاه‌تره دارای خواصی نظیر اشتهاآور، تصفیه خون، تب بر، برطرف‌کننده بیماری‌های پوستی، ضد جوش و حساسیت می‌باشد. شاه‌تره طبع سردی دارد و در طب سنتی برای درمان بیماری‌های پوستی از آن بسیار استفاده می‌شود از گیاه شاه‌تره اثر ضد تب و ضد باکتریایی لیستریامنوسیتوژنز گزارش شده است (۳۰)؛ که می‌تواند با اثرات ضد باکتریایی یافت شده در این پژوهش هماهنگ باشد. عطایی و همکارش در سال ۱۳۹۶ حداقل غلظت بازدارندگی رشد عصاره هیدروالکلی شاه‌تره را ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و حداقل غلظت کشندگی عصاره شاه‌تره را ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، علیه باکتری سودوموناس

References

1. Haghgoo R, Mehran M, Afshari E, Zadeh HF, Ahmadvand M. Antibacterial Effects of Different Concentrations of *Althaea officinalis* Root Extract versus 0.2% Chlorhexidine and Penicillin on *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus* (In vitro). *J Int Soc Prev Community Dent*. 2017;7(4):180-185.
2. Skaltsa HD, Demetzos C, Lazari D, Sokovic M. Essential oil analysis and antimicrobial activity of eight *Stachys* species from Greece. *Phytochemistry*. 2003;64(3):743-52.
3. Skaltsa HD, Lazari DM, Chinou IB, Loukis AE. Composition and antibacterial activity of the essential oils of *Stachys candida* and *S. chrysantha* from southern Greece. *Planta Medica*. 1999;65(03):255-6.
4. Elisha IL, Botha FS, McGaw LJ, Eloff JN. The antibacterial activity of extracts of nine plant species with good activity against *Escherichia coli* against five other bacteria and cytotoxicity of extracts. *BMC Complementary Altern Med*. 2017;17(1):133.
5. Theuretzbacher U, Mouton J. Update on antibacterial and antifungal drugs—can we master the resistance crisis? *Curr. Opin. Pharmacol*. 2011;11(5):429-32.
6. Walsh TR, Toleman MA. The emergence of pan-resistant Gram-negative pathogens merits a rapid global political response. *J. Antimicrob. Chemother*. 2011;67(1):1-3.
7. Awouafack MD, McGaw LJ, Gottfried S, Mbouanguere R, Tane P, Spiteller M, et al. Antimicrobial activity and cytotoxicity of the ethanol extract, fractions and eight compounds isolated from *Eriosema robustum* (Fabaceae). *BMC Complementary Altern Med*. 2013;13(1):289.
8. Srivastava J, Chandra H, Nautiyal AR, Kalra SJ. Antimicrobial resistance (AMR) and plant-derived antimicrobials (PDA m s) as an alternative drug line to control infections. *Biotech*. 2014;4(5):451-60.
9. Davis PH. *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Edinburgh University Press. 1970;3.
10. Grime JP. *Plant strategies, vegetation processes, and ecosystem properties*: John Wiley & Sons; 2006.
11. Strategy WTM. *Strategy 2002–2005*. World Health Organization. 2002.
12. Zimdahl RL. *Fundamentals of weed science*: Academic Press; 2018.
13. Chlebek J, Novák Z, Kassemová D, Šafratová M, Kostelník J, Malý L, et al. Isoquinoline Alkaloids from *Fumaria officinalis* L. and Their Biological Activities Related to Alzheimer's Disease. *Chem. Biodiversity*. 2016;13(1):91-9.
14. Mobaiyen H, Jafari Sales A, Sayyahi J. Evaluating antimicrobial effects of centaurea plant's essential oil on pathogenic bacteria: staphylococcus aureus, staphylococcus epidermidis, and escherichia coli isolated from clinical specimens. *J. Fasa Univ. Med. Sci*. 2016;5(4):479-87.
15. Sales A, Bagherizadeh Y, Malekzadeh P. Evaluation of the Antimicrobial Effects of Essential Oil of *Reseda Lutea* L. on Pathogenic Bacteria: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, and *Escherichia coli*. *Arch Clin Microbiol*. 2017;8(3).
16. Talei GR, Meshkatsadat MH, Mosavi SZ. Antibacterial activity native medicinal plants extracts in Lorestan, Iran. *J. Gorgan Univ. Med. Sci*. 2008;10(1):31-5.
17. Stojanović G, Radulović N, Hashimoto T, Palić R. In vitro antimicrobial activity of extracts of four *Achillea* species: The composition of *Achillea clavennae* L.(Asteraceae) extract. *Journal of ethnopharmacology*. 2005;101(1-3):185-90.
18. Kim JS, Kuk E, Yu KN, Kim J-H, Park SJ, Lee HJ, et al. Antimicrobial effects of silver nanoparticles. *Nanomedicine: NBM*. 2007;3(1):95-101.
19. Sattari M, Shahbazi N, Najar Peeryeh S. An assessment of antibacterial effect of alcoholic and aquatic extracts of *Eucalyptus* leaves on *Pseudomonas aeruginosa*. *Pathobiology Research*. 2006;8(1):19-23.

20. Sheriff Z. Modern Herbal Therapy for Common Ailments. Nature Pharmacy Series Vol. 1. Spectrum Book Limited, Ibadan, Nigeria in Association with Safari Books (Export) Limited, United Kingdom. 2001.
21. Alizadeh H, Jafari B, Babai T. The study of antibacterial effect of *Capsella bursa-pastoris* on some of gram positive and gram negative bacteria. *JBASR*. 2012;2(7):6940-5.
22. Zargari A. Medicinal Plants. Tehran: Tehran University Publication. 1995.
23. Chalabian F, Norouzi Arasi H, Moosavi S. A study of growth inhibitory effect of essential oils of seven species from different families on some kinds of microbes. *J. Med. Plants*. 2003;3(7):37-42.
24. Askari F, Mirza M. Chemical compositions of essential oils from different parts of *Centaurea depressa* M. Bieb. Iran. *J. Med. Arom. Plant*. 2013;29(2).
25. Kalvandi R, Safi KK, Najafi G, Babakhanlou P. Identification of medicinal plants of Hamedan province. 2007.
26. Şuşu G, Chiru T. *Centaurea cyanus* L. a weed with medical features. 2009.
27. Kumarasamy Y, Cox PJ, Jaspars M, Nahar L, Sarker SD. Screening seeds of Scottish plants for antibacterial activity. *J. Ethnopharmacol*. 2002;83(1-2):73-7.
28. Kazemi M. Essential oil composition of *Reseda lutea* from Iran. *Chem. Nat. Compd*. 2013;49(3):551-2.
29. Radulović NS, Zlatković DB, Ilić-Tomić T, Senerović L, Nikodinovic-Runic J. Cytotoxic effect of *Reseda lutea* L.: A case of forgotten remedy.. *J. Ethnopharmacol*. 2014;153(1):125-32.
30. Khattak SG, Gilani SN, Ikram M. Antipyretic studies on some indigenous Pakistani medicinal plants. *J. Ethnopharmacol*. 1985;14(1):45-51.
31. Ataii jalise s, didevari m. Antimicrobial effects of *Syzygium aromaticum* and *Fumaria parviflora* extract on *Pseudomonas aeruginosa*. International Conference on Agricultural Sciences, Medicinal Plants and Traditional: Payam Nour University of Khorasan Razavi; 2017