Pejouhesh dar Pezeshki *(i.e., Research in Medicine)* *Original Article*

The Quarterly Journal of School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences 2022; Vol. 46; No. 3

Comparison of Antimicrobial Effects of Ethanolic and Methanolic Extracts of Lavender (Lavandula Stoechas L.) with Antibiotics on some Common Nosocomial Bacteria

Seyedeh Zeinab Sadaty[1], Mansour Ghorbanpour[1*], Hossein Salehiarjmand[1], Yousef Niknejad Naeij Abad[2]

1. Department of Medicinal Plants, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Arak University, Arak, Iran.
2. Department of Agricultural Engineering, Islamic Azad University-(IAU) Ayatollah Amoli, Amol, Iran.

Received: July 13, 2021; Accepted: February 08, 2022

Abstract

Background and Aim: The use of herbal products with antimicrobial properties has widely been considered by researchers in recent years. Plant extracts such as lavender extract have a specific importance and role in terms of its application in pharmaceutical and medical industries due to its specific phenolic acids and terpenoid compounds. The aim of the present study was to evaluate the antibacterial properties of lavender extracts on some common nosocomial pathogenic bacteria in comparison with antibiotics *in vitro*.

Methods: In the present empirical study, top flowering part of lavender plant was used to prepare the ethanolic and methanolic extracts at different concentrations (500, 250, 125, 62.5, 31.25, 15.62, 7.81 mg/dl) using maceration method. The high performance liquid chromatography (HPLC) apparatus was used to determine the value of phenolic acids including rosmarinic acid and caffeic acid in the obtained extracts. To determine the diameter of growth inhibition zone and minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) from agar dilution method and microdilution procedure were used against four strains of common pathogenic bacteria including *Salmonella typhimurium*, *Shigella dysenteriae*, *Staphylococcus aureus*, and *Streptococcus pyogenes* using well diffusion and microdilution techniques. Data were analyzed using One-way ANOVA in three replications at the probability level of $p < 0.01$.

Results: The amount of both compounds, rosmarinic acid (4.6±0.5 g/100 g DW), and caffeic acid (2.7±0.2 g/100 g DW) were higher in methanolic extract compared with those of ethanolic. Among the different concentrations of lavender ethanolic extract, only 500 and 250 mg/dl of the extract were efficient by creating 12±0.1 and 10±0.2 mm in diameter of growth inhibition zone, respectively. The MBC of all antibiotics and pathogenic bacteria was obtained at a concentration of 125 mg/dl of methanolic extract. However, the MIC for *Staphylococcus aureus* and *Shigella dysenteriae* was 250 mg/dl of the extracts.

Conclusion: The methanolic extract of lavender had a better inhibitory effect compared with the ethanolic extract against the tested bacteria mainly due to the higher content of phenolic acids.

Keywords: Lavender, Antibiotic; Methanolic and Ethanolic extract; Phenolic acids; Antibacterial

Please cite this article as: Sadaty SZ, Ghorbanpour M, Salehiarjmand H, Niknejad Naeij Abad Y. Comparison of Antimicrobial Effects of Ethanolic and Methanolic Extracts of Lavender (Lavandula stoechas L.) with Antibiotics on some Common Nosocomial Bacteria. Pejouhesh dar Pezeshki. 2022;46(3):25-40.

[*]**Corresponding Author:** Mansour Ghorbanpour; Email: m-ghorbanpour@araku.ac.ir

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2025-11-04]

فصلنامه علمی-پژوهشی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی-درمانی شهید بهشتی
دوره ۴۶، شماره ۳، سال ۱۴۰۱ شمسی، صفحات ۲۵ تا ۴۰

مقایسه اثرات ضد میکروبی عصاره‌های اتانولی و متانولی گیاه اسطوخودوس (*Lavandula Stoechas* L.) با آنتی بیوتیک‌ها بر برخی باکتری‌های شایع بیمارستانی

سیده زینب ساداتی[۱]، منصور قربانپور*[۱]، حسین صالحی ارجمند[۱]، یوسف نیک نژاد نائیج آباد[۲]

۱- گروه گیاهان دارویی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه اراک، ایران.
۲- گروه مهندسی کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد آیت الله آملی، آمل، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۴/۲۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۱/۱۹

خلاصه

سابقه و هدف: استفاده از فرآورده‌های گیاهی دارای خواص ضدمیکروبی در سال‌های اخیر بسیار مورد توجه محققان قرار گرفته است. عصاره‌های گیاهی به ویژه عصاره اسطوخودوس به دلیل دارا بودن اسیدهای فنولی و ترکیبات ترپنوئیدی موثر از نظر کاربرد آن در صنایع دارویی و پزشکی از اهمیت و جایگاه ویژه‌ای برخوردارند. این مطالعه با هدف بررسی خواص ضد باکتریایی عصاره‌های اسطوخودوس بر برخی باکتری‌های شایع بیماری‌زای بیمارستانی در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌ها در شرایط آزمایشگاهی اجرا شد.

روش کار: در این مطالعه که یک تحقیق تجربی و از نوع مطالعات آزمایشگاهی است، از سرشاخه‌های گیاه اسطوخودوس برای تهیه عصاره‌های اتانولی و متانولی در غلظت‌های مختلف (۵۰۰، ۲۵۰، ۱۲۵، ۶۲/۵، ۳۱/۲۵، ۱۵/۶۲، ۷/۸۱ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) به روش ماسیراسیون استفاده شد. برای شناسایی و سنجش اسیدهای فنولی از قبیل رزمارینیک اسید و کافئیک اسید در عصاره‌ها از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا (HPLC) استفاده شد. برای تعیین قطر هاله عدم رشد و حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) از روش انتشار از چاهک در آگار و روش میکرودایلوشن بر روی چهار سویه از باکتری‌های شایع بیماری‌زا شامل *سالمونلا تیفی‌موریوم* (*Salmonella typhimurium*)، *شیگلا دیسانتری* (*Shigella dysenteriae*)، *استافیلوکوکوس اورئوس* (*Staphylococus aureus*) و *استرپتوکوک پیوژنز*(*Streptococcus pyogenes*) استفاده شد. تجزیه و تحلیل اطلاعات حاصل با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) در سه تکرار در سطح $p<۰/۰۱$ انجام شد.

یافته‌ها: میزان هر دو ترکیب رزمارینیک اسید (۰/۵± ۴/۶ گرم در ۱۰۰ گرم وزن خشک) و کافئیک اسید (۰/۲± ۲/۷ گرم در ۱۰۰ گرم وزن خشک) در عصاره متانولی بیشتر از عصاره اتانولی بود. بین غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی، تنها غلظت‌های ۵۰۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر عصاره به ترتیب با ایجاد ۰/۱±۱۲ و۰/۲± ۱۰ میلی‌متر قطر هاله عدم رشد موثر بوده است. حداقل غلظت میکروب‌کشی در همه آنتی‌بیوتیک‌ها و باکتری‌های بیماری‌زا در غلظت ۱۲۵ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر عصاره متانولی به دست آمد. حداقل غلظت مهارکنندگی برای باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس و شیگلا دیسانتری* در غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر عصاره‌ها حاصل شد.

نتیجه‌گیری: عصاره متانولی گیاه اسطوخودوس احتمالاً به دلیل استخراج بیشتر اسیدهای فنولی تاثیر بازدارندگی بهتری نسبت به عصاره اتانولی علیه باکتری‌های مورد آزمایش داشت.

واژگان کلیدی: اسطوخودوس؛ آنتی بیوتیک؛ عصاره متانولی و اتانولی؛ اسیدهای فنلی؛ ضد باکتریایی

به این مقاله، به صورت زیر استناد کنید:

Sadaty SZ, Ghorbanpour M, Salehiarjmand H, Niknejad Naeij Abad Y. Comparison of Antimicrobial Effects of Ethanolic and Methanolic Extracts of Lavender (Lavandula stoechas L.) with Antibiotics on some Common Nosocomial Bacteria. Pejouhesh dar Pezeshki. 2022;46(3):25-40.

***نویسنده مسئول مکاتبات:** منصور قربانپور؛ آدرس پست الکترونیکی: m-ghorbanpour@araku.ac.ir

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2025-11-04]

CC BY NC

مقدمه

با افزایش شیوع عفونت‌های باکتریایی و استفاده گسترده از آنتی‌بیوتیک‌ها و در نتیجه بروز اختلالات و عوارض جانبی داروهای شیمیایی و پدیده مقاومت دارویی در میکروب‌ها، دستیابی به داروهای ضدباکتریایی جدید با عوارض جانبی کمتر، ضروری به نظر می‌رسد. در این بین گیاهان دارویی، منابع بالقوه‌ای هستند که از اهمیت و جایگاه ویژه‌ای برخوردارند. عصاره‌های گیاهی و ترکیبات موجود در آن دارای اثرات شناخته شده ضدمیکروبی بی‌شماری هستند که نه تنها در درمان بیماری‌های عفونی بلکه به‌عنوان نگه‌دارنده مواد غذایی نیز استفاده می‌شوند، چون کاربرد زیادی در کنترل رشد باکتری‌های عامل فساد دارند، از جمله این باکتری‌ها می‌توان به شیگلا و سالمونلا اشاره کرد (۱). به‌منظور جلوگیری از رشد این باکتری‌ها، بررسی اثرات ضد میکروبی گیاهان بومی و سنجش خواص دارویی ترکیبات آنها، به خصوص ویژگی‌های ضد باکتریایی عصاره‌های گیاهی لازم و با ارزش است. چه بسا بتوان از آنها به‌عنوان جایگزین داروهای شیمیایی استفاده کرد و بدین وسیله از عوارض مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها پیشگیری به‌عمل آورد (۲).

تنوع گونه‌های گیاهی و گرایش کلی جامعه برای استفاده از ترکیبات طبیعی در پیشگیری و درمان بیماری‌ها سبب شده است تا غربالگری این ترکیبات مورد توجه پژوهشگران قرار گیرد. در این بین، اسطوخودوس (*Lavandula stoechas* L.) گیاهی چندساله حاوی اسانس و ترکیبات فنلی، از خانواده نعناعیان است که از عصاره‌های الکی آن در پزشکی استفاده‌های مختلف شده است (۳). از میان ترکیبات فیتوشیمیایی گزارش شده در گونه‌های مختلف خانواده نعناعیان می‌توان به ترکیبات فنلی مانند فلاونوئیدها، آنتراکینون‌ها، نفتوکینون‌ها، اسیدهای فنولی، استیلبن‌ها و لیگنان‌ها اشاره کرد. همچنین، عصاره‌های این گیاهان، دارای اسید پوگیلونیک، اسید اگزالیک، آرابینوسید، اسانس، مواد رزینی، مواد قندی و موسیلاژ است (۴). بر اساس مطالعات پیشین، فلاونوئیدها به‌ویژه مشتقات گلیکوزیله مریستین و کوئرستین، اسیدهای هیدروکسی سینامیک و ترکیبات فنیل اتیل‌آمیدی به‌عنوان ترکیبات اصلی موجود در عصاره هیدروالکی گیاهان خانواده نعناعیان معرفی شده است (۵). عصاره گیاه اسطوخودوس دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی قابل ملاحظه، مهارکننده آنزیم آلفا-گلوکوزیداز و نیز مهارکننده انگل تریپانوزوما بروسه‌ای است (۶).

سالمونلاها گروه بزرگی از باسیل‌های گرم‌منفی دارای ویژگی‌های عمومی خانواده انتروباکتریاسه هستند که به‌طور گسترده‌ای انتشار داشته و به عنوان عوامل بیماری‌زای روده‌ای عامل طیف وسیعی از بیماری‌ها در انسان و حیوانات هستند. همچنین، عامل تب روده‌ای، گاستروانتریت، باکتریمی و سپتی سمی و ... در انسان هستند که اغلب از طریق تماس مستقیم و یا مصرف غذا و آب آلوده به مدفوع انسان یا حیوان و همچنین توسط ناقلین بدون علامت (حامل‌ها) منتقل می‌شوند. اثرات ضد باکتریایی عصاره آبی گیاه اسطوخودوس بر روی برخی باکتری‌ها از جمله *باسیلوس سوبتیلس*، *استرپتوکوکوس موتانس*، *لیستریا منوسیتوژن*، *یرسینیا اینتروکولیتیکا* و *سالمونلا اینتریتیدیس* گزارش شده است (۷). اما گزارش‌های اندکی در مورد مقایسه اثرات ضد میکروبی عصاره‌های اتانولی و متانولی گیاه اسطوخودوس با آنتی بیوتیک‌ها بر باکتری‌هایی شایع بیمارستانی وجود دارد. بنابراین، مطالعه حاضر به منظور بررسی آزمایشگاهی تعیین خواص ضد باکتریایی عصاره‌های اتانولی و متانولی گیاه اسطوخودوس در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌های کلرامفنیکل، کوتریموکسازول، ونکومایسین و پنی‌سیلین بر روی سویه‌های از باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت از قبیل *سالمونلا تیفی‌موریوم* (*Salmonella typhimurium*)، *شیگلا دیسانتری* (*Shigella dysenteriae*)، *استافیلوکوکوس اورئوس* (*Staphylococus aureus*) و *استرپتوکوک پیوژنز* (*Streptococcus pyogenes*) انجام شد.

روش کار

در این مطالعه، که یک تحقیق تجربی و از نوع مطالعات آزمایشگاهی است، از سرشاخه‌های گیاه اسطوخودوس (*Lavandula stoechas* L.) برای عصاره‌گیری استفاده شد. برای این منظور، کشت گیاه اسطوخودوس در جنوب شهرستان آمل در قطب علمی گیاهان دارویی دانشگاه آزاد اسلامی واحد آیت‌الله آملی و آزمایشات میکروبی در دانشگاه علوم پزشکی

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2025-11-04]

مازندران (ساری) و گروه گیاهان دارویی دانشگاه اراک در سال ۱۳۹۶ انجام شد. بخش‌های رویشی گیاه، که شامل ساقه، برگ و سرشاخه‌ها پس از جمع‌آوری در هوای آزاد (دمای ۲۲ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد) دور از نور مستقیم آفتاب و در سایه خشک شدند.

تهیه عصاره های اتانولی و متانولی گیاه اسطوخودوس

برای تهیه عصاره‌های اتانولی و متانولی از روش ماسیراسیون استفاده شد، حدود ۱۰ گرم پودر گیاهی در ۱۰۰ میلی‌لیتر اتانول و متانول (Merck، آلمان) خالص به‌مدت ۲۴ ساعت در ظروف تیره و به دور از نورخورشید در دمای اتاق خیسانده و سپس توسط کاغذ صافی واتمن شماره ۴۲ صاف شدند. عصاره صاف شده با استفاده از دستگاه روتاری در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد تغلیظ شد. استوک به دست آمده در انکوباتور (شرکت بهداد، ایران) ۳۷ درجه به مدت ۲۴ ساعت خشک و تا زمان آزمایش در یخچال نگه‌داری شد (۸).

اندازه‌گیری اسیدهای فنولی

برای تعیین میزان اسیدهای فنولی شامل رزمارینیک اسید و کافئیک اسید در عصاره‌های اتانولی و متانولی اسطوخودوس از کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا (HPLC, Waters 2495, USA) مجهز به دتکتور PDA Waters 996 (USA) و نرم‌افزار Millennium 32 استفاده شد. فاز ساکن ستون با مشخصات C_{18} به ابعاد (15 cm × 4.6 mm)، فاز متحرک آب و متانول به صورت گرادیان با جریان فاز مایع یک میلی‌لیتر در دقیقه بود. دامنه طول موج مورد استفاده ۴۰۰-۱۹۵ نانومتر، مدت زمان انجام HPLC در حدود ۷۰ دقیقه، حجم عصاره تزریق شده به دستگاه ۲۰ میکرولیتر و دمای آن ۲۵ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. میزان اسیدهای فنولی به ازای گرم در ۱۰۰ گرم وزن خشک محاسبه و گزارش شد.

تهیه باکتری

سویه‌های *سالمونلا تیفی‌موریوم* (ATCC ۹۴۰۵)، *شیگلا دیسانتری* (ATCC ۹۳۱۲)، *استافیلوکوکوس اورئوس* (ATCC ۹۳۲۰) و *استرپتوکوک پیوژنز* (ATCC ۹۳۰۷) باکتری‌های استاندارد از شرکت بهار افشان (ایران) تهیه شد. پس از فعال‌سازی باکتری‌ها، از هر نمونه سوسپانسیونی معادل با کدورت استاندارد نیم مک فارلند ($1/5\times10^{8}$ cfu/ml) تهیه شد.

آزمون ضد میکروبی عصاره‌های اتانولی و متانولی

روش انتشار از چاهک در آگار:

از سوسپانسیون باکتری معادل استاندارد نیم مک فارلند روی محیط کشت مولر هینتون آگار (Merck، آلمان) کشت داده شد. پس از گذشت ۱۵ دقیقه چاهک‌هایی در محیط کشت به قطر شش میلی‌متر به فاصله دو. سانتی‌متر از هم ایجاد شدند. هر یک از چاهک‌ها با ۵۰ میکرولیتر از رقت‌های ۵۰۰، ۲۵۰، ۶۲/۱۲۵،۵، ۳۱/۲۵، ۱۵/۶۲، ۷/۸۱ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر تهیه شده عصاره پر شدند. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، قطر هاله عدم رشد اطراف هر چاهک بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری شد. آنتی‌بیوتیک کلرامفنیکل (۳۰ میکروگرم)، کوتریموکسازول (۱/۲۵ میکروگرم)، ونکومایسین (۳۰ میکروگرم)، پنی‌سیلین(۱۰ میکروگرم) به عنوان کنترل مثبت (ایجاد هاله عدم رشد) و DMSO به عنوان کنترل منفی (بدون ایجاد هاله عدم رشد) (شرکت پادتن طب، ایران) استفاده شدند (۹).

روش میکرودایلوشن

از پلیت میکروتیتراسیون و معرف رزازورین برای تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) عصاره‌های متانولی و اتانولی سرشاخه‌های گیاه اسطوخودوس استفاده شد. ابتدا در میکروپلیت‌های ۹۶ تایی میزان ۵۰۰ میکرولیتر محیط کشت مولر هینتون ریخته شد. سپس ۵۰۰ میکرولیتر از رقت‌های مختلف عصاره، به ترتیب از بالاترین غلظت در لوله‌ها اضافه شد و در مرحله بعد، از کشت ۲۴ ساعته سویه‌های مورد نظر با کدورت نیم مک فارلند، رقت ۱ به ۵۰۰ ($1/5\times10^{8}$ cfu/ml) تهیه و در تمامی لوله‌ها به مقدار ۵۰۰ میکرولیتر اضافه شد. لوله سری ۱۰، حاوی محیط کشت و سوسپانسیون باکتری (رشد باکتری)، لوله ۱۱ محیط کشت استریل مولر هینتون (عدم رشد) و لوله سری ۱۲ محیط کشت و عصاره (عدم رشد) به عنوان کنترل در نظر گرفته شد. پس از طی زمان انکوباسیون (۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد) لوله‌ها از نظر کدورت ناشی از رشد باکتری تلقیح شده و تغییر

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2025-11-04]

رنگ معرف از آبی به قرمز بررسی شدند. طبق تعریف، MIC عبارت است از کمترین غلظتی از یک عصاره و یا آنتی‌بیوتیک که سبب ممانعت از رشد یک عامل بیماری‌زا مثل باکتری خاصی می‌شود. نحوه ارزیابی به این صورت است که آخرین لوله‌ای که در آن هیچ‌گونه کدورتی مشاهده نشد به عنوان MIC در نظر گرفته شد. برای تعیین MBC نیز به این صورت عمل شد که از لوله‌های شفاف مرحله قبل روی محیط آگار کشت داده شدند و MBC به این روش تعیین شد. از آنجا که طبق تعریف، MBC عبارت است از کمترین غلظتی از یک عصاره و یا آنتی‌بیوتیک که سبب از بین بردن باکتری خاصی می‌شود، پلیتی که در آن هیچ باکتری رشد نکرد، به عنوان MBC در نظر گرفته شد. سپس به منظور افزایش دقت از غلظت‌های ما بین نیز برای تعیین MBC استفاده شد (۱۰). این روش برای عصاره‌ها و آنتی‌بوتیک‌ها و هر باکتری سه بار تکرار گردید.

تجزیه وتحلیل آماری

این پژوهش به صورت طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار اجرا شد. تعداد تکرار بر اساس سوابق آزمایش‌هایی که در شرایط مشابه انجام گرفته است، انتخاب شد. علاوه بر این، چون آزمایش حاضر در شرایط کنترل شده انجام شد، به دلیل شرایط یکسان و یکنواختی مواد آزمایشی و کنترل نوسانات خطای آزمایش، حداقل تعداد تکرار انتخاب شد. نتایج به‌دست آمده با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) توسط نرم‌افزار SAS (SAS Institute, Cary, NC, USA) تجزیه و تحلیل شد. همچنین، مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن (DMRT) در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

سایر آنالیزهای آماری شامل خوشه‌بندی سلسله مراتبی (HCA) با استفاده از نرم‌افزار Multi Experiment Viewer (MeV 4.9.0, USA) انجام گرفت و نمودارها با استفاده از نرم‌افزار EXCEL V.2016 رسم شد.

یافته‌ها

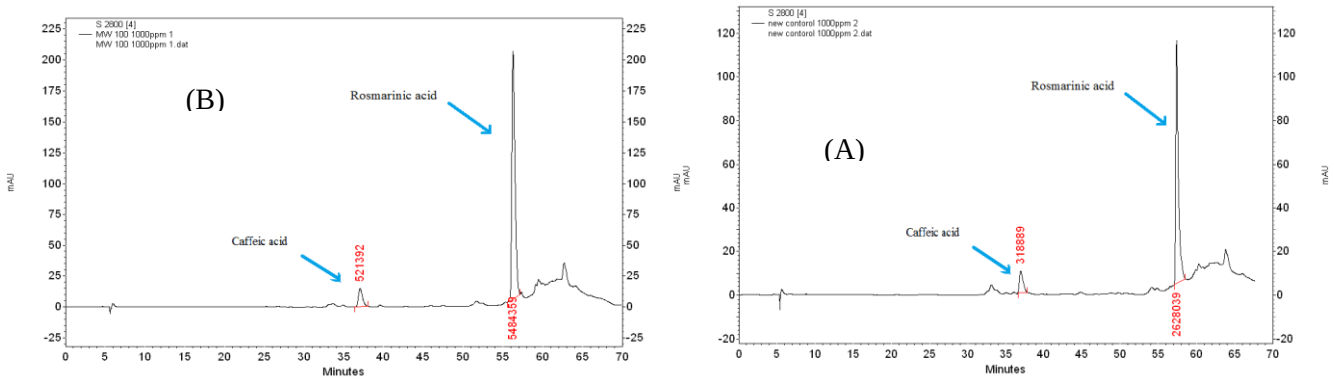
میزان اسیدهای فنولی عصاره‌ها

نتایج حاصل از اندازه‌گیری اسیدهای فنولی در عصاره‌های متانولی و اتانولی گیاه اسطوخودس نشان داد (جدول ۱) که نوع حلال در میزان استخراج رزمارینیک اسید و کافئیک اسید به طور معناداری تاثیرگذار است(P<۰/۰۵). رزمارینیک اسید ترکیب غالب در هر دو نوع عصاره بود، اما در عصاره متانولی بیشتر (۲۳/۹ درصد) از عصاره اتانولی شناسایی شد. همچنین، حداکثر میزان کافئیک اسید (۲/۷ گرم در ۱۰۰ گرم وزن خشک) در این آزمایش در عصاره متانولی اسطوخودس مشاهده شد (۲۲درصد بیشتر از عصاره اتانولی) (جدول ۱). کروماتوگرام آنالیز HPLC عصاره‌ها برای تعیین رزمارینیک اسید و کافئیک اسید در شکل ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱- میزان اسیدهای فنولی (رزمارینیک اسید و کافئیک اسید) در عصاره‌های اتانولی و متانولی سرشاخه‌های گیاه اسطوخودوس.

عصاره/ نام ترکیب	رزمارینیک اسید (g/100 g DW)	کافئیک اسید (g/100 g DW)
عصاره اتانولی	۳/۵±۰/۴[b]	۲/۱±۰/۱[b]
عصاره متانولی	۴/۶±۰/۵[a]	۲/۷±۰/۲[a]

اعداد (انحراف معیار ± میانگین) دارای حروف مشترک در هر ستون از لحاظ آماری (آزمون دانکن) تفاوت معناداری با یکدیگر ندارند (p<۰/۰۵).



شکل ۱- کروماتوگرام HPLC از اسیدهای فنولی (کافئیک اسید و رزمارینیک اسید) در عصاره‌های اتانولی (A) و متانولی (B) سرشاخه‌های گیاه اسطوخودوس.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2025-11-04]

اثر فعالیت ضد باکتریایی عصاره اتانولی و متانولی اسطوخودوس بر قطر هاله عدم رشد

نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین قطر هاله مهار رشد سویه‌های باکتری‌های مورد آزمایش در غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی اسطوخودوس و آنتی‌بیوتیک‌ها در جدول شماره ۲ ارائه شده است. نتایج نشان داد که بین غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی، تنها غلظت‌های ۵۰۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر به ترتیب با ایجاد ۱۲ و ۱۰ میلی‌متر قطر هاله عدم رشد تفاوت معناداری را از خود نشان دادند و بین سایر غلظت‌های عصاره تفاوت معناداری به لحاظ آماری مشاهده نشد (جدول ۲). آنتی‌بیوتیک کوتریموکسازول در غلظت ۱/۲۵ میکروگرم، روی باکتری *شیگلا دیسانتری* با میانگین قطر هاله عدم رشد ۳۵ میلی‌متر (جدول ۲) و آنتی‌بیوتیک‌های کلرامفنیکل و ونکومایسین در غلظت ۳۰ میکروگرم با میانگین قطر هاله عدم رشد ۲۰ میلی‌متر، به‌ترتیب بر باکتری‌های *سالمونلا تیفی‌موریوم* و *استافیلوکوکوس اورئوس* (جدول ۲) و مصرف ۱۰ میکروگرم پنی‌سیلین با میانگین قطر هاله عدم رشد ۳۰ میلی‌متر روی *استرپتوکوک پیوژنز* به طور معناداری موثر بودند و از رشد باکتری‌ها ممانعت کردند (جدول ۲).

جدول ۲- مقایسه قطر هاله عدم رشد باکتری‌های مورد مطالعه بین عصاره‌های اتانولی و متانولی اسطوخودوس با آنتی‌بیوتیک‌ها.

عصاره اتانولی اسطوخودوس (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	باکتری‌های بیماری‌زا			
	سالمونلا تیفی‌موریوم	*شیگلا دیسانتری*	*استافیلوکوکوس اورئوس*	*استرپتوکوک پیوژنز*
	آنتی‌بیوتیک			
	کلرامفنیکل (۱۹/۶۶ ± ۰/۰۵۷[a])	کوتریموکسازول (۳۵ ± ۰/۱۰[a])	ونکومایسین (۲۰/۳۳ ± ۰/۶۶۵[a])	پنی‌سیلین (۳۰ ± ۰/۲۰[a])
۵۰۰	۲۰ ± ۰/۳۰[a]	۱۲ ± ۰/۱۰[b]	۱۶ ± ۰/۲۰[b]	۱۸ ± ۰/۱۰[b]
۲۵۰	۱۷ ± ۰/۳۰[b]	۱۰ ± ۰/۱۰[c]	۱۴ ± ۰/۲۰[c]	۱۳ ± ۰/۳۰[c]
۱۲۵	۱۳ ± ۰/۲۰[c]	۶ ± ۰/۳۰[d]	۹/۹۳ ± ۰/۰۵[d]	۱۱ ±۰ /۲۰[d]
۶۲/۵	۱۰ ± ۰/۱۰[d]	۶ ± ۰/۱۰[d]	۶ ± ۰/۲۰[e]	۶ ± ۰/۱۰[e]
۳۱/۲۵	۶ ± ۰/۱۰[e]	۶ ± ۰/۱۰[d]	۶ ± ۰/۰۵[e]	۶ ± ۰/۱۰[e]
۱۵/۶	۶ ± ۰/۰۵[e]	۶ ± ۰/۰۲[d]	۶ ± ۰/۰۳[e]	۶ ± ۰/۰۱[e]
۷/۸	۶ ± ۰/ ۰۲[e]	۶ ± ۰/۰۳[d]	۶ ± ۰/۰۱[e]	۶ ± ۰/۰۲[e]

عصاره متانولی اسطوخودوس (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	باکتری‌های بیماری‌زا			
	سالمونلا تیفی‌موریوم	*شیگلا دیسانتری*	*استافیلوکوکوس اورئوس*	*استرپتوکوک پیوژنز*
	آنتی‌بیوتیک			
	کلرامفنیکل (۱۹/۶۶ ± ۰/۰۵۷[a])	کوتریموکسازول (۳۵ ± ۰/۱۰[a])	ونکومایسین (۲۰/۳۳ ± ۰/۶۶۵[a])	پنی‌سیلین (۳۰ ± ۰/۲۰[b])
۵۰۰	۱۶ ± ۰/۲۰[b]	۱۶ ± ۰/۱۰[b]	۱۷/۰۳ ± ۰/۰۵۷[b]	۳۱/۹۶ ± ۰/۰۵۷[a]
۲۵۰	۱۰ ± ۰/۲۰[c]	۱۳ ± ۰/۱۰[c]	۱۴ ± ۰/۲۰[c]	۲۵ ± ۰/۱۰[c]
۱۲۵	۷/۱۰ ± ۰/۱۰[d]	۱۰ ± ۰/۲۰[d]	۱۳ ± ۰/۱۰[d]	۱۵/۸۶ ± ۰/۲۳[d]
۶۲/۵	۶ ± ۰/۲۰[e]	۶ ± ۰/۱۰[e]	۶ ± ۰/۰۰[e]	۱۳ ± ۰/۲۰[e]
۳۱/۲۵	۶ ± ۰/۱۰[e]	۶ ± ۰/۰۵[e]	۶ ± ۰/۰۲[e]	۶ ± ۰/۱۰[f]
۱۵/۶	۶ ± ۰/۰۲[e]	۶ ± ۰/۰۱[e]	۶ ± ۰/۰۳[e]	۶ ± ۰/۰۳[f]
۷/۸	۶ ± ۰/۰۱[e]	۶ ± ۰/۰۳[e]	۶ ± ۰/۰۱[e]	۶ ± ۰/۰۲[f]

اعداد (انحراف معیار ± میانگین) دارای حروف مشترک در هر ستون از لحاظ آماری (آزمون دانکن) تفاوت معناداری با یکدیگر ندارند ($p<۰/۰۵$).

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2025-11-04]

همچنین، نتایج نشان داد که هر دو عصاره متانولی و اتانولی اسطوخودوس بر قطر هاله عدم رشد باکتری‌های بیماری‌زای این آزمایش مؤثر بودند اما خاصیت ضدباکتریایی عصاره متانولی بیشتر از عصاره اتانولی بود. به علاوه، استفاده از عصاره‌های اتانولی و متانولی اسطوخودوس تأثیر کمتری بر قطر هاله عدم رشد باکتری‌های بیماری‌زا نسبت به مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها داشت. مقایسه میانگین اثر عصاره اتانولی گیاه بر باکتری‌های استرپتوکوک پیوژنز و آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین (جدول ۲) نشان می‌دهد که بیشترین قطر هاله عدم رشد مربوط به آنتی‌بیوتیک‌های ونکومایسین و پنی‌سیلین است و تأثیر آنتی‌بیوتیک‌ها بر باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *استرپتوکوک پیوژنز* بسیار بیشتر از عصاره اتانولی اسطوخودوس است. بر این اساس پس از آنتی‌بیوتیک بیشترین تأثیر بر قطر هاله عدم رشد مربوط به غلظت‌های ۵۰۰ و پس از آن ۲۵۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر عصاره اتانولی به ترتیب با ۱۶ و ۱۴ میلی‌متر بر باکتری *استافیلوکوکوس* و ۱۸ و ۱۳ میلی‌متر بر باکتری *استرپتوکوک پیوژنز* است (جدول ۲). همچنین مقایسه میانگین بین اثر عصاره متانولی بر باکتری *سالمونلا تیفی‌موریوم* و آنتی‌بیوتیک کلرامفنیکل (جدول ۲) و باکتری *شیگلا دیسانتری* و آنتی‌بیوتیک کوتریماکسازول (جدول ۲) نشان می‌دهد که بیشترین قطر هاله عدم رشد مربوط به آنتی‌بیوتیک‌های کلرامفنیکل و کوتریماکسازول است و تأثیر آنتی‌بیوتیک‌ها بر باکتری‌های *سالمونلا تیفی‌موریوم* و *شیگلا دیسانتری* بسیار بیشتر از عصاره‌های متانولی اسطوخودوس است. پس از آنتی‌بیوتیک‌ها بیشترین تأثیر بر قطر هاله عدم رشد مربوط به عصاره متانولی در غلظت‌های ۵۰۰، ۲۵۰ و سپس ۱۲۵ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر به‌ترتیب با ۱۶، ۱۰ و ۷/۱۰ میلی‌متر بر باکتری *سالمونلا تیفی‌موریوم* و ۱۶، ۱۳ و ۱۰ میلی‌متر بر باکتری *شیگلا دیسانتری* است.

بیشترین تأثیر بر قطر هاله عدم رشد مربوط به آنتی‌بیوتیک ونکومایسین با ایجاد ۲۰/۳۳ میلی‌متر قطر هاله عدم رشد است (جدول ۲). نتایج مقایسه‌های میانگین نشان می‌دهد که بین غلظت‌های مختلف عصاره متانولی اسطوخودوس تنها تیمارهای ۵۰۰، ۲۵۰ و ۱۲۵ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر به‌ترتیب با ایجاد ۱۷/۰۳، ۱۴ و ۱۳ میلی‌متر قطر هاله عدم رشد تفاوت معناداری را از خود نشان دادند که با کاهش غلظت از قطر هاله عدم رشد نیز کاسته شد. همچنین، آنالیز داده‌های حاصل از بررسی اثر غلظت‌های مختلف عصاره و آنتی‌بیوتیک نشان می‌دهد که اگرچه عصاره متانولی اسطوخودوس در غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر به‌صورت خیلی جزئی سبب افزایش قطر هاله عدم رشد باکتری با ۳۱/۹۶ میلی‌متر در مقایسه با آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین ۳۰ میلی‌متر شد ولی با کاهش غلظت عصاره از ۲۵۰ به ۶۲/۵ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر قطر هاله عدم رشد کاهش یافت و از ۲۵ به ۱۳ میلی‌متر رسید. بین سایر غلظت‌ها نیز به لحاظ آماری تفاوتی مشاهده نشد (جدول ۲).

اثر فعالیت ضد باکتریایی عصاره اتانولی و متانولی اسطوخودوس بر میزان MIC و MBC

حداقل غلظت بازدارندگی عصاره اتانولی اسطوخودوس روی باکتری‌های *بیماری‌زای استافیلوکوکوس اورئوس*، *سالمونلا تیفی‌موریوم* و *استرپتوکوکوس پیوژنز* در غلظت ۱۲۵ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر و در باکتری *شیگلا دیسانتری* غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر حاصل شد، ولی حداقل غلظت نابودکنندگی این عصاره‌ها روی *استافیلوکوکوس اورئوس*، *سالمونلا تیفی‌موریوم* و *استرپتوکوکوس پیوژنز* در غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر ولی در باکتری *شیگلا دیسانتری* در غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر به‌دست آمد (جدول ۳). این در حالی است که حداقل غلظت بازدارندگی عصاره متانولی اسطوخودوس روی دو باکتری *سالمونلا تیفی‌موریوم* و *استرپتوکوک پیوژنز* برابر با ۶۲/۵ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر و برای باکتری‌های *شیگلا دیسانتری* و *استافیلوکوکوس اورئوس* برابر با ۱۲۵ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر است، ولی حداقل غلظت نابودکنندگی این عصاره روی باکتری‌های *سالمونلا تیفی‌موریوم* و *استرپتوکوک پیوژنز* برابر با ۱۲۵ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر حاصل شد. درحالی‌که حداقل غلظت نابودکنندگی برای باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *شیگلا دیسانتری* در غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر مشاهده شد (جدول ۴).

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2025-11-04]

جدول ۳- حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) عصاره اتانولی اسطوخودوس بر باکتری‌های بیماری‌زا مورد آزمایش برحسب میلی‌گرم بر دسی‌لیتر.

باکتری / عصاره اتانولی	۵۰۰	۲۵۰	۱۲۵	۶۲/۵	۳۱/۲۵	۱۵/۶	۷/۸	MIC
شیگلا دیسانتری	-	-	+	+	+	+	+	۲۵۰
استافیلوکوکوس اورئوس	-	-	-	+	+	+	+	۱۲۵
سالمونلا تیفی‌موریوم	-	-	-	-	+	+	+	۶۲/۵
استرپتوکوک پیوژنز	-	-	-	+	+	+	+	۱۲۵

باکتری / عصاره اتانولی	۵۰۰	۲۵۰	۱۲۵	۶۲/۵	۳۱/۲۵	۱۵/۶	۷/۸	MBC
شیگلا دیسانتری	-	+	+	+	+	+	+	۵۰۰
استافیلوکوکوس اورئوس	-	-	+	+	+	+	+	۲۵۰
سالمونلا تیفی‌موریوم	-	-	-	+	+	+	+	۱۲۵
استرپتوکوک پیوژنز	-	-	+	+	+	+	+	۲۵۰

+ : رشد، - : عدم رشد

بر اساس نتایج این مطالعه، باکتری *شیگلا دیسانتری* مقاومترین باکتری به غلظت‌های مورد استفاده عصاره اتانولی گیاه اسطوخودوس هستند. به طوری که حداقل غلظت نابودکنندگی این عصاره روی *استافیلوکوکوس اورئوس*، *سالمونلا تیفی‌موریوم* و *استرپتوکوکوس پیوژنز* در غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر ولی برای باکتری *شیگلا دیسانتری* در غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر به‌دست آمد.

جدول ۴- حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت نابودکنندگی (MBC) عصاره متانولی اسطوخودوس بر باکتری‌های بیماری‌زا مورد آزمایش برحسب میلی‌گرم بر دسی‌لیتر

باکتری / عصاره متانولی	۵۰۰	۲۵۰	۱۲۵	۶۲/۵	۳۱/۲۵	۱۵/۶	۷/۸	MIC
شیگلا دیسانتری	-	-	-	+	+	+	+	۱۲۵
استافیلوکوکوس اورئوس	-	-	-	+	+	+	+	۱۲۵
سالمونلا تیفی‌موریوم	-	-	-	-	+	+	+	۱۲۵
استرپتوکوک پیوژنز	-	-	-	-	+	+	+	۶۲/۵

باکتری / عصاره متانولی	۵۰۰	۲۵۰	۱۲۵	۶۲/۵	۳۱/۲۵	۱۵/۶	۷/۸	MBC
شیگلا دیسانتری	-	-	+	+	+	+	+	۲۵۰
استافیلوکوکوس اورئوس	-	-	+	+	+	+	+	۲۵۰
سالمونلا تیفی‌موریوم	-	-	-	+	+	+	+	۱۲۵
استرپتوکوک پیوژنز	-	-	-	+	+	+	+	۱۲۵

+ : رشد، - : عدم رشد

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2025-11-04]

همان‌گونه که مشاهده می‌شود مطالعه ماکرودایلوشن در مولرهینتون نشان داد که عصاره متانولی در غلظت کمتری نسبت به عصاره اتانولی قادر به مهار و نابود کردن باکتری‌های مورد آزمایش است. به عنوان مثال، خاصیت ضد باکتریایی عصاره متانولی اسطوخودوس روی باکتری‌های *استرپتوکوک پیوژنز* و *شیگلا دیسانتری* و *سالمونلا تیفی‌موریوم* دو برابر عصاره اتانولی است. ولی تفاوتی بین عصاره‌های اتانولی و متانولی روی باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* به لحاظ خاصیت ضد باکتریایی وجود ندارد و در یک غلظت مشابه سبب نابودکنندگی باکتری می‌شود.

اثر فعالیت ضد باکتریایی آنتی‌بیوتیک‌ها بر میزان MIC و MBC

نتایج نشان داد که امکان مهارکنندگی آنتی‌بیوتیک‌ها بر باکتری‌های بیماری‌زا وجود دارد، به‌طوری‌که آنتی‌بیوتیک‌های کوتریموکسازول، کلرامفنیکل و پنی‌سیلین در غلظت ۶۲/۵ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر دارای حداقل غلظت مهارکنندگی روی باکتری‌های *شیگلا دیسانتری*، *سالمونلا تیفی‌موریوم* و *استرپتوکوک پیوژنز* هستند (شکل ۲)، ولی حداقل غلظت مهارکنندگی آنتی‌بیوتیک ونکومایسین روی باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* در غلظت ۱۲۵ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر عصاره‌ها است. این در حالی است که حداقل غلظت میکروب‌کشی در همه آنتی‌بیوتیک‌ها و باکتری‌های بیماری‌زا در غلظت ۱۲۵ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر مشاهده شد. نتایج همچنین نشان داد (جدول ۵) که استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها به طور معناداری (P<۰/۰۱) بر حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت باکتری‌کشی مؤثر بوده و از رشد آنها جلوگیری کرده است (شکل ۳).

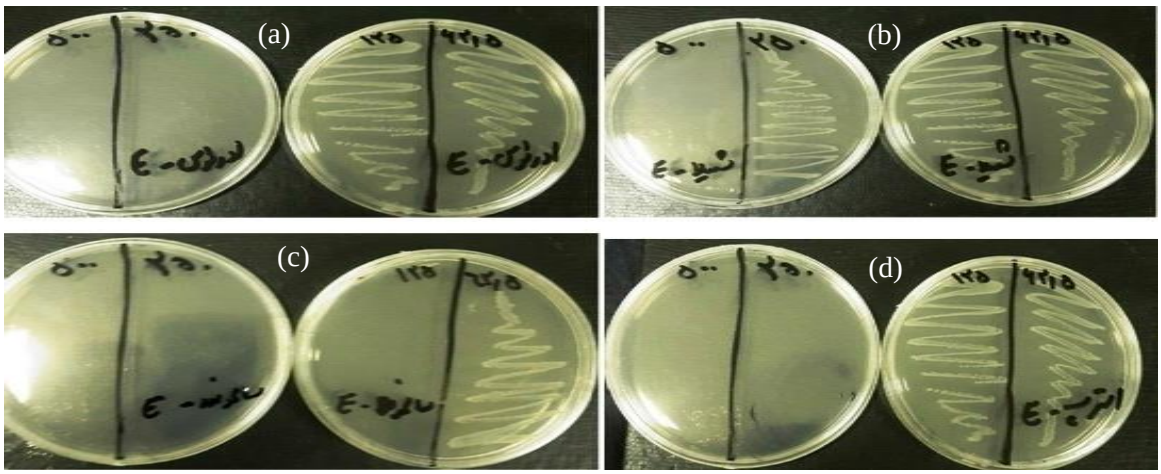
جدول ۵- حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت نابودکنندگی (MBC) آنتی‌بیوتیک‌ها (برحسب میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) بر باکتری‌های بیماری‌زا.

باکتری / آنتی بیوتیک	۵۰۰	۲۵۰	۱۲۵	۶۲/۵	۳۱/۲۵	۱۵/۶	۷/۸	MIC
شیگلا دیسانتری - کوتریموکسازول	-	-	-	-	+	+	+	۶۲/۵
استافیلوکوکوس اورئوس - ونکومایسین	-	-	-	+	+	+	+	۱۲۵
سالمونلا تیفی‌موریوم - کلرامفنیکل	-	-	-	-	+	+	+	۶۲/۵
استرپتوکوک پیوژنز - پنی‌سیلین	-	-	-	-	+	+	+	۶۲/۵
باکتری / آنتی بیوتیک	**۵۰۰**	**۲۵۰**	**۱۲۵**	**۶۲/۵**	**۳۱/۲۵**	**۱۵/۶**	**۷/۸**	**MBC**
شیگلا دیسانتری - کوتریموکسازول	-	-	-	+	+	+	+	۱۲۵
استافیلوکوکوس اورئوس - ونکومایسین	-	-	-	+	+	+	+	۱۲۵
سالمونلا تیفی‌موریوم - کلرامفنیکل	-	-	-	+	+	+	+	۱۲۵
استرپتوکوک پیوژنز - پنی‌سیلین	-	-	-	+	+	+	+	۱۲۵

+ : رشد، - : عدم رشد

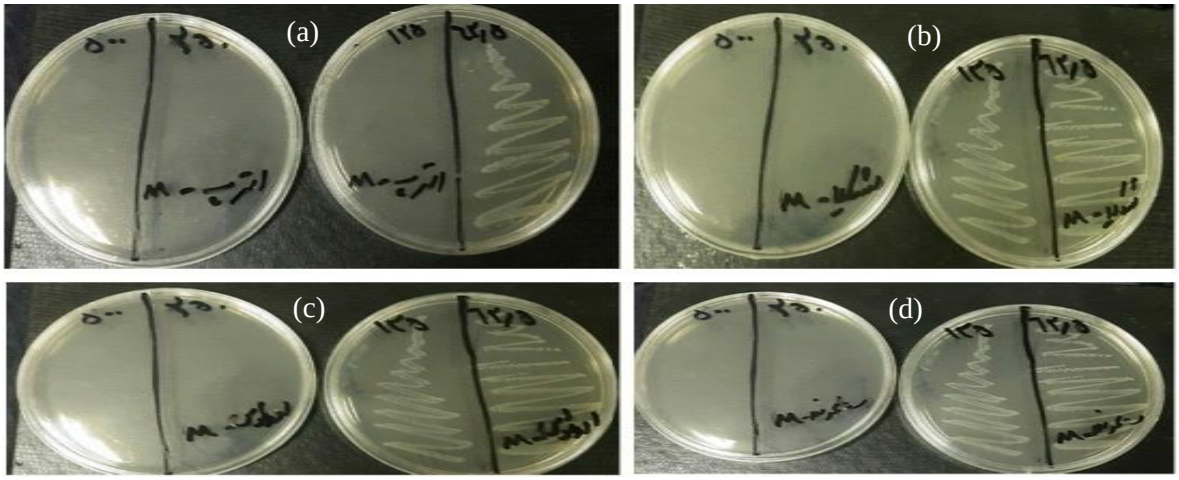
بر اساس نتایج، خاصیت ضد باکتریایی عصاره متانولی اسطوخودوس روی *استافیلوکوکوس اورئوس*، *سالمونلا تیفی‌موریوم* و *استرپتوکوکوس پیوژنز* با خاصیت ممانعت‌کنندگی (MIC) آنتی‌بیوتیک‌ها روی باکتری‌های ذکر شده برابر است، ولی حداقل غلظت ممانعت‌کنندگی آنتی‌بیوتیک کوتریموکسازول با غلظت ۶۲/۵ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بیشتر از عصاره متانولی اسطوخودوس با غلظت ۱۲۵ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر است.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2025-11-04]



شکل ۲- اثر عصاره اتانولی اسطوخودوس بر حداقل غلظت نابودکنندگی (MBC) باکتری‌های بیماری‌زا.

(a) اثر آنتی‌بیوتیک ونکومایسین بر باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس*. (b) اثر آنتی‌بیوتیک کوتریموکسازول بر باکتری *شیگلا دیسانتری*.
(c) اثر آنتی‌بیوتیک کلرامفنیکل بر باکتری *سالمونلا تیفی‌موریوم*. (d) اثر آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین بر باکتری *استرپتوکوک پیوژنز*.



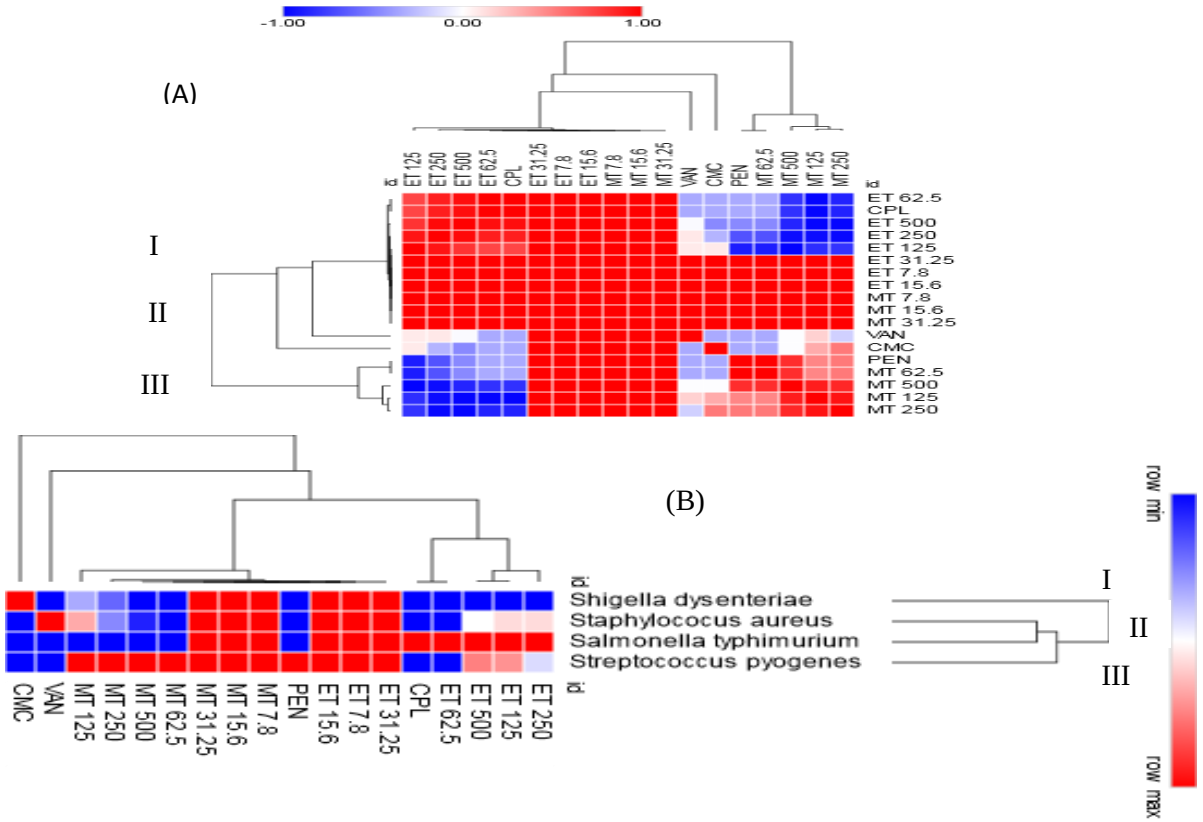
شکل ۳- اثر عصاره متانولی اسطوخودوس بر حداقل غلظت نابودکنندگی (MBC) باکتری‌های بیماری‌زا.

(a) اثر آنتی‌بیوتیک کلرامفنیکل بر باکتری *سالمونلا تیفی‌موریوم*. (b) اثر آنتی‌بیوتیک کوتریموکسازول بر باکتری *شیگلا دیسانتری*.
(c) اثر آنتی‌بیوتیک ونکومایسین بر باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس*. (d) اثر آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین بر باکتری *استرپتوکوک پیوژنز*.

نتایج آنالیز خوشه‌بندی سلسله مراتبی (HCA)

نتایج آنالیز HCA در مقایسه خاصیت ضد میکروبی عصاره‌های اتانولی و متانولی گیاه اسطوخودوس در غلظت‌های مختلف با آنتی بوتیک‌ها و همبستگی بین آنها در شکل شماره ۴ نشان داده شده است. بر اساس این آنالیز، تیمارهای آزمایشی (از نظر تاثیرگذاری) در سه خوشه جداگانه (I، II و III) قرار گرفتند که هر خوشه به زیرخوشه‌های دیگری مجزا شد (شکل ۴A). به عنوان مثال، آنتی‌بیوتیک‌های ونکومایسین، کوتریموکسازول و پنی‌سیلین از نظر تاثیرگذاری بیشترین شباهت را با همدیگر داشتند. همچنین، همبستگی معناداری بین استفاده از آنتی بیوتیک‌های کوتریموکسازول و ونکومایسین با عصاره متانولی گیاه اسطوخودوس در غلظت‌های ۶۲/۵ تا ۵۰۰ بر روی باکتری *سالمونلا تیفی‌موریوم* وجود دارد. علاوه بر این، باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سالمونلا تیفی‌موریوم* (از نظر تاثیرپذیری) در تیمارهای آزمایشی بیشترین شباهت را به یکدیگر داشتند (شکل ۴B).

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2025-11-04]



شکل ۴- نتایج آنالیز خوشه‌بندی سلسله مراتبی (HCA) در خاصیت ضد میکروبی عصاره‌های اتانولی (ET) و متانولی (MT) گیاه اسطوخودوس در غلظت‌های مختلف (۵۰۰، ۲۵۰، ۱۲۵، ۶۲/۵، ۳۱/۲۵، ۱۵/۶۲، ۷/۸۱ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) با برخی آنتی‌بیوتیک‌ها شامل پنی‌سیلین (PEN)، ونکومایسین (VAN)، کلرامفیکل (CPL) و کوتریموکسازول (CMC) روی چهار سویه از باکتری‌های شایع بیماری‌زا (*سالمونلا تیفی‌موریوم*، *شیگلا دیسانتری*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *استرپتوکوک پیوژنز*.

(A) همبستگی بین تیمارها (عصاره‌ها و آنتی‌بیوتیک‌ها) با (B) خاصیت ضد باکتریایی آنها. بر اساس این آنالیز، تیمارهای آزمایشی (از نظر تاثیرگذاری) در سه خوشه جداگانه (I، II و III) قرار گرفتند که هر خوشه به زیرخوشه‌های دیگری مجزا شد (A). به عنوان مثال، آنتی‌بیوتیک‌های ونکومایسین، کوتریموکسازول و پنی‌سیلین از نظر تاثیرگذاری بیشترین شباهت را با همدیگر داشتند. همچنین، همبستگی معناداری بین استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های کوتریموکسازول و ونکومایسین با عصاره متانولی گیاه اسطوخودوس در غلظت‌های ۶۲/۵ تا ۵۰۰ بر روی باکتری *سالمونلا تیفی‌موریوم* وجود دارد. علاوه بر این، باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سالمونلا تیفی‌موریوم* (از نظر تاثیرپذیری) در تیمارهای آزمایشی بیشترین شباهت را به یکدیگر داشتند (B).

بحث

در تحقیق حاضر، بررسی تعیین اسیدهای فنولی عصارهای متانولی و اتانولی سرشاخه‌های گیاه اسطوخودوس نشان داد که نوع حلال مورد استفاده، در میزان استخراج رزمارینیک اسید و کافئیک اسید موثر است و متانول، حلال مناسب‌تری برای استخراج ترکیبات دارای خاصیت ضد میکروبی موجود در اسطوخودوس از جمله پلی فنل‌ها است. بر همین اساس، مطابق یافته‌های به دست آمده در این پژوهش، عصاره متانولی نسبت به عصاره اتانولی خاصیت ضد میکروبی قوی‌تری نشان داد. به عبارت دیگر، متانول با استخراج مناسب‌تر اسیدهای فنلی سبب افزایش فعالیت ضد باکتریایی عصاره‌های حاصل شد. تفاوت بین عصاره‌های برگ ممکن است به دلیل شیمی متمایز گونه‌های گیاهی، یعنی در بخش ترکیبات فنلی و در قطبیت حلال‌های مورد استفاده برای به دست آوردن عصاره‌ها باشد (۱۳، ۱۲، ۱۱). شایان ذکر است که میزان اثرات بازدارندگی و مهارکنندگی ترکیبات فنلی، به جذب سطحی غشاهای سلولی، واکنش به آنزیم‌ها، سوبسترا و یون‌های فلزی بستگی دارد (۱۴).

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2025-11-04]

تحقیقات فراوانی درباره اثرات ضدمیکروبی عصاره و اسانس گیاهان دارویی خانواده نعناع از جمله اسطوخودوس در سال‌های اخیر انجام شده است (۱۸، ۱۷، ۱۶، ۱۵). اما گزارش‌های کمی درباره مقایسه اثرات آنها با آنتی‌بیوتیک‌ها بر عفونت‌های رایج بیمارستانی وجود دارد. در مطالعه حاضر، غلظت‌های مختلف عصاره‌های اتانولی و متانولی گیاه اسطوخودوس و آنتی‌بیوتیک‌های اختصاصی بر باکتری‌های بیماری‌زا نشان‌دهنده اختلاف معناداری در سطح احتمال یک درصد، بین تیمارهای مختلف عصاره‌ها و آنتی‌بیوتیک است که می‌توانند تأثیر مثبتی بر قطر هاله عدم رشد در باکتری‌های مختلف مورد آزمایش از خود نشان دهند. اثر عصاره متانولی اسطوخودوس بر قطر هاله عدم رشد باکتری‌های مورد مطالعه بیشتر از عصاره اتانولی بود، به طوری که خاصیت ضد باکتریایی عصاره متانولی اسطوخودوس روی باکتری‌های *استرپتوکوک پیوژنز* و *شیگلا دیسانتری* و *سالمونلا تیفی‌موریوم* دو برابر عصاره اتانولی بود، ولی تفاوتی بین عصاره‌های اتانولی و متانولی روی باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* به لحاظ خاصیت ضد باکتریایی مشاهده نشد و در یک غلظت سبب نابودکنندگی باکتری شد. نتایج حاصل از مطالعه حاضر با تحقیقات برخی محققان مطابقت و تفاوت‌هایی را نشان می‌دهد. این تفاوت‌ها را می‌توان به نقش عوامل متعددی از قبیل نوع و میزان مواد موثره مختلف در گیاه که خود به زمان و مکان کشت و جمع‌آوری نمونه‌ها، عوامل اقلیمی و تغییرات آب و هوایی و شرایط جغرافیایی منطقه، شرایط و امکانات آزمایشگاه و دارد، نسبت داد (۲۲، ۲۱، ۲۰، ۱۹).

نکته قابل توجه از این تحقیق آن است که خاصیت ضدباکتریایی عصاره‌های متانولی و اتانولی روی باکتری‌های مورد مطالعه با کاهش غلظت عصاره‌ها کاهش نشان داده است، این موضوع با وجود ترکیبات مختلف با اثرات متنوع در عصاره گیاهان دارویی دور از انتظار نیست. علاوه بر ترکیب‌های موجود در اسانس، ترکیب‌های فعال بیولوژیک در عصاره‌های مختلف گیاهان خانواده نعناع از جمله اسطوخودوس نیز شناسایی شده است. مهم‌ترین این ترکیب‌ها اسیدهای فنلی آزاد چون مشتقات اسید کافئیک از جمله اسید رزمارینیک است. برخی ترکیبات فلاونوئیدی از جمله آپیژنین، لوتئولین، سیناروزید و .. نیز در غلظت خیلی کم در عصاره‌های گیاهان این خانواده شناسایی شده است (۲۳). اسید رزمارینیک، از فراوان‌ترین دیمرهای اسید کافئیک است که در سیستم‌های زیستی فعالیت‌های متعددی همچون آنتی‌اکسیدان، آنتی‌موتاژن، آنتی‌باکتری و آنتی‌ویروس و ضدالتهاب و ضدحساسیت را ایفا می‌کند (۲۴). اسید کافئیک در بیوشیمی خانواده نعناعیان نقش کلیدی ایفا می‌کند و غالباً به شکل دیمر خود، یعنی اسید رزمارینیک دیده می‌شود. اسید کافئیک- واحد ساختاری انواع مختلف متابولیت‌های گیاهی- از ساده‌ترین منومرها تا ترکیبات متراکم چندگانه و انواع الیگومرهای آن است. تریمرها و تترامرهای اسید کافئیک به لحاظ جنبه‌های درمانی مورد توجه هستند و از فعالیت‌های بیولوژیکی برجسته‌ای برخوردارند. تحقیقات نشان داده است که بیوسنتز رزمارینیک اسید در گیاهان تحت تاثیر عوامل محیطی، فیزیولوژیکی و تغذیه‌ای قرار می‌گیرد (۲۵).

همچنین، نتایج مطالعه حاضر نشان داد که عصاره‌های اسطوخودوس، اثرات متفاوتی بر باکتری‌های گرم منفی (*شیگلا دیسانتری* و *سالمونلا تیفی‌موریوم*) و گرم مثبت (*استرپتوکوک پیوژنز* و *استافیلوکوکوس اورئوس*) داشت. بر اساس تحقیقات انجام شده، باکتری‌های گرم مثبت نسبت به عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی حساس‌تر از باکتری‌های گرم منفی هستند. نتایج به دست آمده در این تحقیق (بالاتر بودن حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره علیه باکتری‌های گرم منفی نسبت به باکتری‌های گرم مثبت) نیز حاکی از حساس‌تر بودن باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی است. ه وجود غشاءهای خارجی احاطه کننده دیواره سلولی در باکتری‌های گرم منفی منطقی به نظر می‌رسد که این باکتری‌ها در برابر اثرات ضد باکتریایی عصاره‌ها حساسیت کمتری از خود نشان دهند. غشاء خارجی انتشار مواد هیدروفوب از میان این لایه پوشاننده لیپوپلی ساکاریدی را محدود می‌کند. به عبارت دیگر، ساختار لیپو پلی ساکاریدی در باکتری‌های گرم‌منفی سبب مقاومت بیشتر آنها در برابر عصاره‌های اتانولی و متانولی و همچنین آنتی‌بیوتیک شده است، در نتیجه به غلظت‌های بالاتری از عصاره‌ها و

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2025-11-04]

آنتی‌بیوتیک‌ها در مقایسه با باکتری‌های گرم‌مثبت نیاز است تا سبب مهار یا کشندگی آنها شود (۲۶). در مطالعه Keah و همکاران (۲۰۰۷) گزارش شده است که اسانس گیاهان خانواده نعناع حاوی ترکیبات ضد میکروبی متعددی نظیر لینالول، کامازولن، سیتروونال، متیل کاویکول و منتول هستند که همگی این مواد از طریق تخریب دیواره سلولی و پروتئین‌های باکتری‌ها، تداخل با عمل آنزیم‌های غشایی و رونویسی DNA و RNA سبب تخریب میکروارگانیسم‌ها می‌شوند و فعالیت آنتی‌باکتریال عصاره‌های این گیاهان به وجود این ترکیبات قابل انتساب است (۲۸، ۲۷). در باکتری‌های گرم مثبت تماس مستقیم ترکیبات هیدروفوب عصاره‌ها با این فسفولیپید دو لایه‌ایی انجام می‌گیرد. این مکان، جایگاهی است که ترکیبات موثره گیاهان اثر خود را اعمال می‌کنند. این اثر یا به صورت افزایش نفوذپذیری یون‌ها و یا نشت ترکیبات حیاتی سلولی رخ می‌دهد و یا اینکه به صورت ناتوانی سیستم آنزیمی باکتریایی بروز می‌کند (۲۹). اثر ضد میکروبی عصاره یا اسانس گیاهان به هر یک از اجزای اصلی آنها یا هر یک از اجزای فرعی یا سینرژیسم یا آنتاگونیست بین آنها مربوط می‌شود. عصاره گیاه مخلوطی از اجزای شیمیایی مختلف است؛ به همین دلیل مشکل است که اثر ضد میکروبی اسانس یا عصاره به یک یا چند جزء خاص نسبت داده شود. نشان داده شده که اثر ضد میکروبی کل عصاره یا اسانس از اثر ضد میکروبی تک تک اجزای آن بیشتر است. طبیعت و سهم هر یک از اجزا می‌تواند روی اثر ضد میکروبی آن تأثیر بگذارد (۳۰).

پژوهشگران تحقیقی را بر مبنای اثر ضد میکروبی و برهمکنش عصاره‌های آبی و اتانولی بادرنجبویه بر *استافیلوکوکوس اورئوس*، *لیستریا اینوکوا*، *اشرشیاکلی* و *سودوموناس آئروژینوزا* در شرایط آزمایشگاهی انجام دادند، در نتیجه آن عصاره اتانولی بادرنجبویه در مقایسه با آنتی‌بیوتیک ونکومایسین اثر بازدارندگی بیشتری داشت. علاوه براین، عصاره‌های بادرنجبویه بر باکتری‌های گرم مثبت در مقایسه با باکتری‌های گرم منفی اثر بازدارندگی بیشتری نشان دادند (۳۱). در پژوهشی دیگر، فعالیت ضد میکروبی عصاره‌های اتانولی و متانولی گیاه نعناع فلفلی نشان داد که این عصاره‌ها خاصیت باکتری‌کشی قابل توجهی در مقایسه با آنتی‌بیوتیک کوتریموکسازول دارند و بیشترین تأثیر را روی باکتری *اشرشیا* کلی داشتند (۳۲). همچنین، گزارش شده است که عصاره اتانولی گیاه مریم‌گلی از فعالیت باکتری‌های گرم‌منفی *اشرشیا کلی* و *سالمونلا* و عصاره متانولی آن از فعالیت باکتری‌های گرم‌مثبت *استرپتوکوکوس تیپ A* و *آنتراسیس تیپ B* ممانعت به‌عمل می‌آورد و اثرات باکتری‌کشی گیاه مریم‌گلی قوی‌تر از پنی‌سیلین است که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد. بر اساس تحقیقات Gavanji و همکاران (۲۰۱۴) درباره اثرات ضد میکروبی اسانس و عصاره‌های گیاهان درمنه، اسطوخودوس و آویشن شیرازی روی باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*، *سودوموناس آئروژینوزا*، *کلبسیلا پنومونیه* نشان داده شد که اسانس و عصاره‌های اسطوخودوس دارای اثر مهارکنندگی زیادی روی باکتری‌های بیماری‌زای مورد مطالعه هستند (۳۳). نتایج همچنین نشان داد که استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها روی باکتری‌های مختلف به میزان متفاوت در حداقل غلظت ممانعت‌کنندگی و حداقل غلظت میکروب‌کشی مؤثر بوده و به‌طور چشم‌گیری از رشد آنها جلوگیری کرده است. بررسی Cetin و همکاران (۲۰۱۷) نشان داد که عصاره اتانولی گل‌های همیشه بهار بر باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* خاصیت مهار کنندگی دارد (۳۴). از این نظر تحقیق ما با یافته‌های سایر محققان برحسب حداقل غلظت ممانعت‌کنندگی متفاوت است. زیرا درصد ترکیبات مختلف و مواد با خاصیت ضدمیکروبی در عصاره‌های مختلف گیاهان به ناحیه جغرافیایی (طول، عرض و ارتفاع جغرافیایی مکان کشت و برداشت گیاهان)، رقم و سن گیاه و روش عصاره‌گیری و حلال‌های مورد استفاده وابسته است. علاوه براین، تفاوت‌های اکولوژیکی منطقه رویش گیاهان، مسیرهای بیوسنتزی متابولیت‌های ثانویه را تحت تاثیر قرار می‌دهد و سبب تفاوت در خاصیت بیولوژیکی از جمله فعالیت ضد میکروبی آنها می‌شود (۳۵).

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که عصاره اتانولی اسطوخودوس در غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر به‌صورت خیلی جزئی سبب افزایش قطر هاله عدم رشد ۲۰ میلی‌متر باکتری *سالمونلا تیفی موریوم* شد، ولی تفاوت چندانی به لحاظ آماری با مصرف آنتی

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2025-11-04]

بیوتیک کلرامفنیکل ۱۹/۶۶ میلی‌متر مشاهده نشد و هر دو به یک میزان بر قطر هاله عدم رشد تأثیرگذار بودند و همچنین عصاره متانولی اسطوخودوس در غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم بر دسی لیتر به‌صورت جزئی سبب افزایش قطر هاله عدم رشد باکتری *استرپتوکوک پیوژنز* به اندازه ۳۱/۹۶ میلی‌متر در مقایسه با آنتی بیوتیک پنی‌سیلین ۳۰ میلی‌متر شد که این ممکن است به دلیل بیشتر بودن عوامل تاثیر گذار بر نتایج روش‌های آگار دیفیوژن از جمله میزان نفوذ ماده ضد میکروبی در آگار باشد که به ماهیت آن ماده بستگی دارد (۳۶). همچنین، عصاره‌گیری با روش‌ها و حلال‌های مختلف از یک گیاه اثرات ضد باکتریایی متفاوتی بر روی یک باکتری خاص نشان می‌دهد (۳۸، ۳۷). نتایج بررسی‌های حاضر در شرایط آزمایشگاهی همچنین نشان داد که استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها می‌تواند تأثیر بیشتری بر باکتری‌های بیماری‌زا نسبت به عصاره اتانولی و متانولی گیاه اسطوخودوس در غلظت‌های کم بگذارد. از طرفی خاصیت ضد باکتریایی عصاره متانولی اسطوخودوس روی *استافیلوکوکوس اورئوس*، *سالمونلا تیفی‌موریوم* و *استرپتوکوکوس پیوژنز* با خاصیت ممانعت‌کنندگی آنتی‌بیوتیک‌ها روی باکتری‌های یاد شده برابر است، ولی حداقل غلظت ممانعت‌کنندگی آنتی‌بیوتیک کوتریموکسازول با غلظت ۶۲/۵ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بیشتر از عصاره متانولی اسطوخودوس با غلظت ۱۲۵ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر است. استفاده از آنتی‌بیوتیک تأثیر بیشتری روی باکتری‌های بیماری‌زا دارد و با میزان مصرف کمتری خاصیت میکروب‌کشی و ممانعت‌کنندگی را انجام می‌دهد، به‌طوری‌که در صورت استفاده از کوتریموکسازول در غلظت ۶۲/۵ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر و در صورت استفاده از عصاره متانولی در غلظت ۱۲۵ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر سبب بروز خاصیت میکروب‌کشی می‌شود.

در این مطالعه به جای جمع‌آوری گیاهان از طبیعت و یا استفاده از گیاهان موجود در عطاری‌ها (که هر کدام پتانسیل واقعی فعالیت بیولوژیکی نمونه‌های گیاهی را نشان نمی‌دهند)، از گیاهان کشت شده در مزرعه استفاده شد و احتمالاً به این دلیل نتایج حاصله با تحقیقات برخی محققان تفاوت‌هایی را نشان می‌دهد. از جنبه‌های مثبت دیگر این تحقیق علاوه بر مقایسه فعالیت ضد میکروبی عصاره‌های اتانولی و متانولی اسطوخودوس با انواع آنتی‌بیوتیک‌ها بر روی سویه‌های مختلفی از باکتری‌های متداول بیمارستانی می‌توان به آنالیز HPLC، اسیدهای فنلی عصاره‌ها اشاره کرد. اما پیشنهاد می‌شود که در مطالعات آتی به منظور استخراج ترکیبات موجود در گیاه اسطوخودوس از حلال‌های دیگری از جمله حلال‌های قطبی (آب)، نیمه قطبی و غیرقطبی (استون) و از تکنیک‌های جدیدتری در استخراج عصاره مثل امواج ماکروویو به جای خیساندن استفاده شود.

نتیجه‌گیری

در مجموع یافته‌های این بررسی نشان داد که برای استفاده از عصاره‌های متانولی و اتانولی سرشاخه‌های گیاه اسطوخودوس (که در شرایط مزرعه کشت و پرورش یافت) و حصول نتایج مطلوب برای میکروب‌کشی و مهارکنندگی باکتری‌ها به میزان بیشتری از عصاره‌های مذکور و غلظت‌های زیادتر نیاز است. همچنین، بر اساس نتایج مطالعه حاضر، می‌توان نتیجه گرفت که این عصاره‌ها، احتمالاً به دلیل تفاوت در کارآیی حلال در جداسازی ترکیبات مؤثر گیاه، درجات متفاوتی از خواص ضدباکتریایی نشان دادند. به طوری که، عصاره متانولی احتمالاً به دلیل استخراج بیشتر اسیدهای فنولی تاثیر بازدارندگی بهتری نسبت به عصاره اتانولی علیه باکتری‌های مورد آزمایش داشت. این بررسی‌ها نیاز به تحقیقات آزمایشگاهی بیشتری درباره مکانیسم عمل متابولیت‌های این گیاه (که در شرایط متفاوت محیطی مثل رویشگاه طبیعی، مزرعه و ... به دست آمده باشند) بر علیه میکروارگانیسم‌ها (به ویژه باکتری‌های گرم منفی که نسبت به باکتری‌های گرم مثبت مقاومت بیشتری نسبت به عصاره ها نشان دادند) دارد.

تشکر و قدردانی

از معاونت محترم پژوهش و فناوری دانشگاه اراک به خاطر حمایت در اجرای این تحقیق در قالب پایان نامه کارشناسی ارشد تشکر و قدردانی می‌شود.

تعارض منافع

نویسندگان، تعارض منافعی را گزارش نکرده اند.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2025-11-04]

References

1. Ebrahimzadeh MA, Mahmoudi MSE. Anti-inflammatory activity of Sambucus ebulus hexane extracts. Fitoterapia. 2006; 77(2):146-148.

2. Younes NL, Mohammadirad A, Yasa N, Minaie B, Nikfar SH, Ghazanfari GH, et al. Benefits of Zataria multiflora Boiss in Experimental Model of Mouse Inflammatory Bowel Disease. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2000; 4(1): 43-50.

3. Omid beigi, R. Production and processing approaches for medicinal plants. Volume 1, Fekre roz Publications, Tehran, 1379; 283 pages. (Persian).

4. Kozłowska M., Laudy AE., Przybył J., Ziarno M., Majewska E. Chemical composition and antibacterial activity of some medicinal plants from Lamiaceae family. Acta Pol Pharm. 2015; 72(4): 757-67.

5. Olah NK., Radu L., Mogoşan C., Hanganu D., Gocan S. Phytochemical and pharmacological studies on Orthosiphon stamineus Benth. (Lamiaceae) hydroalcoholic extracts. J Pharm Biomed Anal. 2003; 33(1):117-23.

6. Loziene K, Venskutonis PR, Sipailiene A, Labokas J. Radical scavenging and antibacterial properties of the extracts from different Thymus pulegioides L. chemotypes. Food Chemistry. 2007; 103(2): 546-59.

7. Lotfi A., Investigation of antibacterial effect of aqueous lavender extract on some pathogenic bacteria. 5th Congress of Medical Bacteriology. 2018-08-15 by Iranian Society for Medical. https://civilica.com/doc/811851 (Persian)

8. Kim NS., Lee DS. Comparison of different extraction methods for the analysis of fragrances from Lavandula species by gas chromatography-mass spectrometry. J Chromatogr A. 2002; 982(1):31-47.

9. National Committee for Clinical Laboratory Standard. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved Standard Order No M7-A2. 1990; 1-31.

10. Shohayeb M, Abdel-Hameed S, Bazaid SA, and Maghrabi I. Antibacterial and antifungal activity of Rosa damascena MILL. Essential oil, Different Extracts of rose petals. Global Journal of Pharmacology, 2014; 8(1): 01-07.

11. Silva E, Fernandes S, Bacelar E, Sampaio A. Antimicrobial activity of aqueous, ethanolic and methanolic leaf extracts from Acacia spp. and *Eucalyptus nicholii*. Afr J Tradit Complement Altern Med. 2016; 13(6):130-134.

12. Sik B, Hanczné EL, Kapcsándi V, Ajtony Z. Conventional and nonconventional extraction techniques for optimal extraction processes of rosmarinic acid from six Lamiaceae plants as determined by HPLC-DAD measurement. J Pharm Biomed Anal. 2020; 184:113173.

13. Lesellier E., Lefebvre T., Destandau E. Recent developments for the analysis and the extraction of bioactive compounds from *Rosmarinus officinalis* and medicinal plants of the Lamiaceae family. Trends in Analytical Chemistry. 2021; 135, 116158.

14. Duman, A. D., Ozgen, M., Dayisoylu, K. S., Erbil, N., & Durgac, C. Antimicrobial activity of six pomegranate (Punica granatum L.) varieties and their relation to some of their pomological and phytonutrient characteristics. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 2009; 14(5), 1808–1817.

15. Sadeghi G. Determination of Antibacterial Effect of Glycyrrhica Glabra on *E. Coli*, Salmonella Typhi, Shigella Flexneri and Shigella Sonnei. Thesis No (1249): Islamic Azad University Pharmacological Science. 2002-2003. 10-99 (Persian).

16. Jamróz E., Juszczak L., Mateusz Kucharek M. Investigation of the physical properties, antioxidant and antimicrobial activity of ternary potato starch-furcellaran-gelatin films incorporated with lavender essential oil. International Journal of Biological Macromolecules. 2018; 114, 1094-1101.

17. Badr M.M., Badawy M., Taktak N. E. M. Characterization, antimicrobial activity, and antioxidant activity of the nanoemulsions of *Lavandula spica* essential oil and its main monoterpenes. Journal of Drug Delivery Science and Technology. 2021; 65, 102732.

18. Ciocarlan A., Lupascu L., Aricu A., Dragalin I., Popescu V., Geana E.-I., Ionete R.E., Vornicu N., Duliu O.G., Hristozova, G., et al., Chemical Composition and Assessment of Antimicrobial Activity of Lavender Essential Oil and Some By-Products. Plants. 2021; 10, 1829.

19. Ghorbanpour M., Varma A. (Eds.), Medicinal Plants and Environmental Challenges. 413 pages. Springer International Publishing. 2017; Germany.

20. Egamberdieva D., Wirth S., Behrendt U., Ahmad P., Berg G. Antimicrobial Activity of Medicinal Plants Correlates with the Proportion of Antagonistic Endophytes. Front. Microbiol. 2017; 8:199.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2025-11-04]

21. Gonelimali FD., Lin J., Miao W., Xuan J., Charles F., Chen M., Hatab SR. Antimicrobial Properties and Mechanism of Action of Some Plant Extracts Against Food Pathogens and Spoilage Microorganisms. Front. Microbiol. 2018; 9:1639.

22. Valková V., Dˇúranová H., Galoviˇcová L., Vukovic N.L., Vukic M., Kaˇcániová M. In Vitro Antimicrobial Activity of Lavender, Mint, and Rosemary Essential Oils and the Effect of Their Vapours on Growth of Penicillium spp. in a Bread Model System. Molecules, 2021; 26, 3859.

23. Bendif H., Miri Y.B., Souilah N., Benabdallah A., Miara M.D. Phytochemical constituents of *Lamiaceae* family. RHAZES: Green and Applied Chemistry, 2021; 11(2): 71-88

24. Ivanov M., Kostić M., Stojković D., Soković M. Rosmarinic acid–Modes of antimicrobial and antibiofilm activities of common plant polyphenol. South African Journal of Botany. 2022; 146, 521-527.

25. Trócsányi E., György Z., Éva Zámboriné-Németh E. New insights into rosmarinic acid biosynthesis based on molecular studies. Current plant biology, 2020; 23: 100162.

26. Loziene K, Venskutonis PR, Sipailiene A, Labokas J. Radical scavenging and antibacterial properties of the extracts from different Thymus pulegioides L. chemotypes. Food Chemistry. 2007; 103(2): 546-59.

27. Keah SH, Wee EC, Chng KS and Keah KC. Antimicrobial Susceptibility of Community- Acquired Uropathogens in General Practice. Malaysian Family Physician. 2007; 2 (2): 234 - 8.

28. Dib K., Ennibi O.K., Alaoui K., Cherrah Y., Filali-Maltouf A. Antibacterial activity of plant extracts against periodontal pathogens: A systematic review. 2021; 29, 100493.

29. Sandri I.G., Zacaria J., Fracaro F., Dela mare A.P.L., Echeverrigaray S. Antimicrobial activity of the essential oils of Brazilian species of the genus Culina against foodborne pathogens and spo iling bacteria. Food chemistry, 2007; 103: 823-828.

30. Ayaz M, Ullah F, Sadiq A, Ullah F, Ovais M, Ahmed J, Devkota HP. Synergistic interactions of phytochemicals with antimicrobial agents: Potential strategy to counteract drug resistance. Chem Biol Interact. 2019; 1;308:294-303.

31. Alizadeh Behbahani B, Martyr F, Tabatabaei Y, F Mortazavi SA, Mohebbi M. The Antimicrobial Effect and Interaction Between Aqueous and Ethanolic Extracts of Plantago major on *Staphylococcus aureus*, *Listeria inocua*, *Escherichia coli*, and *Pseudomonas aeruginosa* In vitro. Iranian Journal of Infectious Disease and Tropical Medicine. 2017; 21(75): 1-8.

32. Marino M, Bersani C. Antimicrobial activity of The essential oil of Thymus vulgaris. J. Food prot, 2009; 62 (9): 1017-23.

33. Gavanji S, Larki B, Bakhtari A. The effect of extract of Punicagranatum var. pleniflora for treatment of minor recurrentaphthous. stomatitis. Integrative Medicine Research. 2014; 3:83-90.

34. Cetin B, Kalyoncu F, Kurtulus B. Antibacterial activities of calendula officinalis callus extract. International Journal of Secondary Metabolite. 2017; 4(3): 257-263. doi:10.21448/ijsm.372108.

35. Li Y, Kong D, Fu Y, Sussman MR, Wu H. The effect of developmental and environmental factors on secondary metabolites in medicinal plants. Plant Physiol Biochem. 2020; 148:80-89.

36. Ncube NS, Afolayan AJ, Okoh AI. Assessment techniques of antimicrobial propoerties of natural compounds of plant origin: current methods and future trends. African Journal of. Biotechnology. 2008; 7 (12): 1797-1806.

37. Imini N, Ghiami Rad M. Antimicrobial Effect of Ethanolic Extract of *Calendula officinalis* L. against of *Staphylococcus Aureus*, *Enterococcus Faecalis*, *Escherichia Coli* and *Pseudomonas Aeruginosa* strains in vitro. Zanko Journal of Medical Sciences. 2019; 19(62): 61-69 (Persian).

38. Cappelli G., Mariani F. A. Systematic Review on the Antimicrobial Properties of Mediterranean Wild Edible Plants: We Still Know Too Little about Them, but What We Do Know Makes Persistent Investigation Worthwhile. Foods, 2021; 10, 2217.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2025-11-04]