

Short Report

The Comparative Study on *in vitro* Antibacterial Effects of Different Aqueous Extracts of *Artemisia* Species

Abiri R¹, Ghasemi S², Bagheri Ghomi M³, Shahbazi M⁴, Emami S A⁵, Mojarab M*⁶

1. Department of Microbiology, School of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran
2. Department of Plant Pathology, School of Agriculture, Kurdistan University, Sanandaj, Iran
3. Students Research Committee, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran
4. Department of Pharmacognosy & Pharmaceutical Biotechnology, School of Pharmacy, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran
5. Department of Traditional Pharmacy, School of Pharmacy, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran
6. Pharmaceutical Sciences Research Center, Research Institute for Health, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

*Corresponding author. Tel: +988334276974, Fax: +988334276493, E-mail: mmojarab@kums.ac.ir

Article info

Article history:

Received: Sep 13, 2023

Accepted: Nov 20, 2023

Keywords:

Artemisia
Phenolic Compounds
Decoction
Infusion
Anti-bacterial Agents

ABSTRACT

Background: Nosocomial infections are significant parts of the treatment challenges of hospitals. Different species of the *Artemisia* genus are widely distributed in Iran. The present study aimed to compare the *in vitro* effects of different aqueous extracts of *Artemisia* species against nosocomial bacterial strains.

Methods: 24 different aqueous extracts, including decoctions and infusions were prepared from the aerial parts of *Artemisia ciniformis*, *A. turanica*, *A. kopetdaghensis*, *A. khorasanica*, *A. vulgaris*, and *A. sieberi*. Total phenolic contents were determined by the Folin-Ciocalteu method. The minimum inhibitory concentration (MIC) values of the extracts against the bacterial strains including *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Acinetobacter* sp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Micrococcus luteus*, *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* were measured using the microdilution broth method.

Results: The lowest MIC value was observed for the decoction of *A. turanica* (0.25 mg/ml) against *S. pyogenes*. The largest range of bacterial sensitivity (3 strains) was related to the decoction of *A. sieberi*. The growth of *S. epidermidis* was inhibited by a larger group of extracts. The highest total phenolic content was recorded for decoction and infusion of *A. turanica*.

Conclusion: The decoctions of the aerial parts of *A. sieberi* and *A. turanica* were superior to the other extracts in terms of the *in vitro* antibacterial spectrum and selective potency, respectively.

How to cite this article: Abiri R, Ghasemi S, Bagheri Ghomi M, Shahbazi M, Emami S A, Mojarab M. The Comparative Study on *in vitro* Antibacterial Effects of Different Aqueous Extracts of *Artemisia* Species. J Ardabil Univ Med Sci. 2023;23(3):309-319.

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-Non Commercial 4.0 International License.

Extended Abstract

Background: Healthcare-associated or Nosocomial infections occur in the patients receiving medical care in the hospitals or other health care facilities which were absent at the time of admission. These infections can appear during healthcare delivery for other disorders and even after the discharge of the patients. Additionally, occupational infections among the medical staff should *not be neglected*. An increase in hospital stay, long-term disability, and mortality rate, the elevation of antimicrobial resistance, and socio-economic implications are some other consequences of nosocomial infections. *Artemisia* L. (Astraceae) is a large, heterogeneous and widely distributed genus throughout the world. These species are annual, biennial, and perennial herbs or small shrubs. Thirty-four species of the genus *Artemisia* are found in Iran, of which two are endemic. These species produce different classes of secondary metabolites like phenolic compounds, terpenoids, steroids and polyacetylenes. A wide range of bioactivities such as antimicrobial, antiviral, anti-inflammatory and antifungal effects have been reported from these types of phytochemicals. Most of the previous antimicrobial studies on the Iranian flora have focused on the effects of volatile oils. The present study aimed to compare the *in vitro* effects of 24 different aqueous extracts obtained from six *Artemisia* species against nine nosocomial bacterial strains.

Methods: The aerial parts of *Artemisia ciniformis* Krasch. & M. Pop. Ex Poljak, *A. turanica* Krasch., *A. kopetdaghensis* Krasch. M. Pop. & Lincz. Ex Poljak., *A. khorasanica* Podl., *A. vulgaris* L., and *A. sieberi* Besser were collected from natural habitats in northeastern Iran. The plant materials were shade dried at room temperature, finely ground and extracted by decoction and infusion methods. The decoctions were prepared as follows. Three and five grams of each herb were separately added to 150 mL of distilled water and heated till boiling in a

stainless steel pot. Each mixture was left at boiling temperature for 30 min, and finally filtered under reduced pressure. For the infusions, three and five grams of each sample were separately added to 150 mL of boiling distilled water in a stainless steel pot and left at 75 °C for 30 min, then filtered under reduced pressure. The decoctions and infusions were concentrated under reduced pressure using a rotary evaporator at 45 °C. Then, the concentrated extracts were frozen and lyophilized. The extraction yield was calculated as g of dry residue per 100 g of dry plant mass. Total phenolic contents of 24 extracts were determined by the Folin–Ciocalteu’s colorimetric assay and the results were expressed as mg Gallic acid equivalents (GAE) per one gram of each dried extract, using a standard curve. The minimum inhibitory concentration (MIC) values of the extracts against the bacterial strains *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Acinetobacter* sp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Micrococcus luteus*, *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* were separately measured using the microdilution broth method. Experiments were performed in triplicate, data analysis was done using SAS software and graphs were drawn using Excel software. Means were statistically compared using Duncan’s multi-range test at the 5% probability level.

Results: The highest yield of extraction (27.66%) was observed for the decoction of *A. sieberi* (the plant to the solvent ratio: 1:50), followed by the decoctions of *A. vulgaris* (27.4% and 26.66%) with the plant: solvent ratios of 1:30 and 1:50, respectively. The lowest yield of extraction (12.90%) was calculated for the infusion of *A. turanica* (the plant to the solvent ratio: 1:50). The highest total phenolic content (318.65±12.4 mg GAE/g of dried extract) was recorded for the decoction of *A. turanica* (the plant to the solvent ratio: 1:30), followed by the decoction and infusion of *A. turanica* (293.45±4.98 and 268.41±4.53 mg GAE/g of dried extract) with the plant: solvent ratios of

1:50 and 1:30, respectively. The lowest total phenolic content (163.55 ± 2.07 mg GAE/g of dried extract) was calculated for the infusion of *A. ciniformis* (the plant to the solvent ratio: 1:50). The results of the microdilution broth method showed that four strains of bacteria, including *Acinetobacter*, *M. luteus*, *S. epidermidis* and *S. pyogenes* were sensitive to at least one of the extracts in the concentration range of 0.25-0.25 mg/ml. The lowest MIC value (0.25 mg/ml) was observed against *S. pyogenes*. It was related to the decoction of *A. turanica* with the plant: solvent ratios of 1:30. The other notable antibacterial effects were recorded for the decoctions of *A. turanica* and *A. sieberi* (with the similar plant: solvent ratios of 1:50). The MIC values of the aforementioned extracts against *S. pyogenes* were 0.50 mg/ml the largest range of bacterial sensitivity (3 strains of *S. pyogenes*, *S. epidermidis*, and *Acinetobacter*) was related to the decoction of *A. sieberi* (with the plant: solvent ratios of 1:50). The growth of *S. epidermidis* was inhibited by a larger group of extracts. The growth of five other bacterial strains (*S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. faecalis*, *K. pneumonia* and *E. coli*) was not inhibited by any of the 24 extracts.

Conclusion: In the present study, the same extract (the decoction of *A. turanica* with the plant to the solvent ratio of 1:30) had the highest total phenolic content and the lowest MIC value against *Streptococcus pyogenes*; but this extract didn't have the broad-spectrum antibacterial effects. On the other hand, the highest anti-bacterial activity against *Staphylococcus epidermidis* was recorded by the extract with the lowest phenolic content (the infusion of *A. ciniformis* with the plant to the solvent ratio of 1:50). It seems that total phenolic contents of infusions and decoctions are not the only determining factor in the ability of the plant extracts to exert antibacterial effects. This is consistent with the previous reports of antimicrobial effects from other types of secondary metabolites. In most cases, decoctions showed a greater range of inhibitory effects against the bacteria than infusions, and the total number of recorded MIC values increased as the ratio of water to the plant material increased. The decoctions of the aerial parts of *A. sieberi* and *A. turanica* were superior to the other extracts in terms of the *in vitro* antibacterial spectrum and selective potency, respectively.

بررسی مقایسه‌ای اثرات برون تنی ضدباکتریایی عصاره‌های مختلف آبی گونه‌های درمنه

رامین عبیری^۱، سمیرا قاسمی^۲، ملیحه باقری قمی^۳، معصومه شهبازی^۴، سید احمد امامی^۵، مهدی مجرب^{۶*}

۱. گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

۲. گروه گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران

۳. کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

۴. گروه فارماکونوزی و زیست فناوری دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

۵. گروه داروسازی سنتی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

۶. مرکز تحقیقات علوم دارویی، پژوهشکده سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

* نویسنده مسئول. تلفن: ۰۸۳۳۳۴۲۷۶۹۷۴. فاکس: ۰۸۳۳۴۲۷۶۹۹۳. پست الکترونیک: mmojarab@kums.ac.ir

چکیده

زمینه و هدف: عفونت‌های بیمارستانی سهم قابل توجهی از چالش‌های درمانی بیمارستان‌ها را تشکیل می‌دهند. گونه‌های مختلف جنس درمنه، دارای رویش گسترده‌ای در ایران هستند. هدف از مطالعه حاضر، مقایسه اثرات برون‌تنی عصاره‌های مختلف آبی گونه‌های درمنه علیه سویه‌های باکتری عامل عفونت‌های بیمارستانی است.

روش کار: ۲۴ عصاره آبی مختلف مشتمل بر جوشانده و دم کرده از اندام هوایی درمنه‌های طلایی، معمولی، خراسانی، کپه‌داغی، دشتی و قرمز تهیه شد. محتوای تام فنولی عصاره‌های فوق، با روش فولین سیو کالتیو تعیین شد. کمترین مقادیر غلظت مهارکننده رشد (MIC) عصاره‌ها علیه سویه‌های باکتریایی *استافیلوکوکوس اورئوس*، *استرپتوکوکوس پایونز*، *آسینتوباکتر سودوموناس آئروژینوزا*، *انتروکوکوس فکالیس*، *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس*، *میکروکوکوس لوتئوس*، *کلبسیلا پنومونیه* و *اشرشیا کلای* به روش میکرودايلوشن برات تعیین گردید.

یافته‌ها: پایین‌ترین MIC، برای جوشانده درمنه قرمز (۰/۲۵ میلی‌گرم / میلی‌لیتر) علیه *استرپتوکوکوس پایونز* مشاهده شد. بزرگترین گستره حساسیت باکتریایی (سه سویه) مربوط به جوشانده درمنه دشتی بود. رشد *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* توسط گروه بزرگتری از عصاره‌ها مهار شد. بیشترین محتوای تام فنولی در جوشانده و دم کرده درمنه قرمز ثبت شد. **نتیجه‌گیری:** جوشانده اندام هوایی درمنه‌های دشتی و قرمز به ترتیب از دید گستردگی و قدرت اثر انتخابی ضد میکروبی نسبت به سایر عصاره‌ها برتری داشتند.

واژه‌های کلیدی: درمنه، ترکیبات فنولیک، جوشانده، دم کرده، عوامل ضد باکتریایی

دریافت: ۱۴۰۲/۶/۲۲ پذیرش: ۱۴۰۲/۸/۲۹

مقدمه

عفونت‌های بیمارستانی اغلب با تهاجم میکروبی به پوست و بافت نرم (SSTI)^۱ اتفاق می‌افتد. بیمارگرهای غالب باکتری‌های گرم مثبت مانند *استافیلوکوکوس اورئوس*^۲، *استافیلوکوکوس پایونز*^۳ و پس از آن *انتروکوکوس فکالیس*^۴ و *کورینه‌باکتریوم*^۵ هستند [۲۱]. گسترش روز افزون مقاومت‌های میکروبی موجب شده تا پژوهش‌های زیادی در سال‌های اخیر به جستجو و معرفی ترکیبات جدید با قابلیت ضد میکروبی با منشأ طبیعی معطوف شود [۴، ۳]. گیاه درمنه^۶ از خانواده کاسنی حدود ۵۰۰ گونه مختلف دارد که عمدتاً در مناطق معتدله شمالی کره زمین انتشار دارند. از قدیم الایام عصاره قسمت‌های مختلف این گیاهان به طور سنتی در درمان تب، تومورها، مالاریا و هپاتیت در کره و چین استفاده می‌گردد [۵]. این دسته از گیاهان طیفی از ترکیبات زیستی ضد میکروبی، ضد ویروسی، ضد التهابی و ضد قارچی متعلق به گروه‌های مختلف شامل فنول‌ها، ترپنوئیدها، استرول‌ها و پلی استیلن‌ها را تولید می‌کنند [۶-۸]. آرتمیسنین استخراج شده از درمنه خزری^۷ دارای اثرات ضد میکروبی علیه *باسیلیوس سابیلیس*^۸، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشرشیاکلی*^۹ است [۹]. رولتا^{۱۰} و همکاران عنوان نمودند که عصاره‌های پترولیوم اتری و متانولی درمنه خزری همراه شده با آنتی‌بیوتیک‌های ضد قارچی و ضدباکتریایی، چهار تا ده مرتبه نسبت به کاربرد آنتی‌بیوتیک‌ها به تنهایی، دارای اثرات ضد میکروبی قوی‌تری علیه میکروارگانیزم‌های مقاوم به

آنتی‌بیوتیک‌ها همچون *استافیلوکوکوس اورئوس*، *ساکارومایسس سرویزیه*، *اشرشیاکلی* و *کاندیدا آلبیکانز* هستند [۱۰]. محبوی و همکاران در یک پژوهش نشان دادند که اسانس درمنه دشتی قابلیت ضد باکتریایی بالایی علیه *استافیلوکوکوس اورئوس* و *کاندیدا آلبیکانز* دارد [۱۱]. نظر به پراکنش گسترده جنس درمنه در ایران، شناسایی منابع بالقوه دارای اثرات ضدباکتریایی اهمیت دارد. بنابراین، هدف مطالعه حاضر بررسی مقایسه‌ای اثرات برون تنی انواع عصاره آبی درمنه علیه سویه‌های باکتریایی عامل عفونت بیمارستانی است.

روش کار

در این مطالعه آزمایشگاهی، باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*، *استریپتوکوکوس پایونز*، *آسینتوباکتر*^{۱۱}، *سودوموناس ائروژینوزا*^{۱۲}، *انتروکوکوس فکالیس*، *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس*^{۱۳}، *میکروکوکوس لوتئوس*^{۱۴}، *کلبسیلا پنومونیه*^{۱۵} و *اشرشیا کلای* از نمونه‌های ارجاعی به بخش میکروبی‌شناسی آزمایشگاه بیمارستان امام رضا (ع) در شهر کرمانشاه در سال ۱۳۹۸ به دست آمدند. باکتری‌ها روی محیط کشت مولر هینتون برات (شرکت ایبرسکو، ایران) به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ سانتیگراد کشت شدند. درمنه‌های طلایی و معمولی از پارک ملی تندوره (خراسان رضوی)، درمنه‌های قرمز و دشتی از تربت جام، قرق سمیع آباد (خراسان رضوی)، درمنه کپه داغی از منطقه بابا امان (خراسان شمالی)، درمنه خراسانی از حد فاصل شهر آباد به سمت مراوه تپه (خراسان شمالی)، جمع‌آوری، شناسایی و با نمونه‌های هرباریومی در دانشکده داروسازی مشهد انطباق داده شدند. پس از فرآوری

¹ Skin and Soft Tissue Infections

² *Staphylococcus aureus*

³ *Streptococcus pyogenes*

⁴ *Enterococcus faecalis*

⁵ *Corynebacterium*

⁶ *Artemisia* spp.

⁷ *Artemisia annua*

⁸ *Bacillus subtilis*

⁹ *Escherichia coli*

¹⁰ Rolta

¹¹ *Acinetobacter* sp.

¹² *Pseudomonas aeruginosa*

¹³ *Staphylococcus epidermidis*

¹⁴ *Micrococcus luteus*

¹⁵ *Klebsiella pneumoniae*

اولیه، گیاهان با دو نسبت متفاوت حجمی- وزنی (۳۰ و ۵۰ برابر) آب مقطر به پودر گیاه به مدت ۳۰ دقیقه عصاره‌گیری شدند. در روش دم کردن دمای ۷۵ درجه سانتیگراد به کار رفت. خشک کردن عصاره‌ها در فشار و دمای کاهش یافته انجام شد.

محتوای تام فنولی هر نمونه پس از انحلال در آب مقطر با روش فولین سیوکالتیو و براساس میلی‌گرم هم ارز گالیک اسید بر گرم عصاره خشک شده تعیین شد [۱۲]. یک میلی‌لیتر از عصاره‌های تهیه شده (غلظت ۰/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) با ۲/۵ میلی‌لیتر از واکنش گر فولین سیوکالتو (رقیق شده به صورت ۱۰:۱۰) مخلوط شدند. پس از پنج دقیقه دو میلی‌لیتر از محلول کربنات سدیم (Na_2CO_3) ۷/۵ درصد به نمونه‌ها اضافه شده و پس از هم زدن کامل آن‌ها به مدت دو ساعت در دمای محیط و تاریکی نگهداری شدند. سپس جذب نمونه‌های آماده شده در طول موج ۷۶۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر ثبت گردید. جهت رسم منحنی کالیبراسیون گالیک اسید، محلول‌های استاندارد گالیک اسید با غلظت‌های مشخص در آب مقطر تهیه شد. ثبت جذب هر یک از محلول‌های استاندارد گالیک اسید سه مرتبه و هر بار مطابق با روش ذکر شده در بالا توسط اسپکتروفتومتر انجام شد. سپس منحنی کالیبراسیون جذب گالیک اسید در مقابل غلظت ترسیم گردید.

کمترین غلظت مهار کننده رشد (MIC)^۱ که کدورت ناشی از رشد باکتری در آن مشاهده نشده باشد با روش میکروداپلوشن برات با استفاده از پلیت ۹۶ خانه‌ای استریل محاسبه شد. بدین منظور از تمام سویه‌ها غلظت نیم مک فارلند در محیط مولر هینتون برات تهیه شد. سری رقت سازی با اضافه کردن ۱۰۰ میکرولیتر عصاره به درون چاهک‌های حاوی ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت و سپس برداشتن ۱۰۰ میکرولیتر از مخلوط حاصل و افزودن آن به چاهک بعدی برای تهیه عصاره با غلظت‌های ۰/۲۵، ۰/۵، ۱ و ۲

(میلی‌گرم/ میلی‌لیتر) انجام شد. عصاره‌های درمنه طلایی به دلیل محدودیت انحلال با غلظت‌های ۰/۱۹، ۰/۳۷، ۰/۷۵ و ۱/۵ (میلی‌گرم / میلی‌لیتر) تهیه شدند. سپس سوسپانسیون ۱ به ۱۰۰۰ رقیق شده نیم مک فارلند باکتری معادل $10^5 \times 1/5$ (کلنی/میلی‌لیتر) به درون هر چاهک اضافه گردید. از سوسپانسیون میکروبی همراه با محیط کشت و از عصاره‌ها به تنهایی به عنوان شاهد استفاده گردید. میکروپلیت‌ها در انکوباتور ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفت [۱۳]. آزمایش‌ها در سه تکرار و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS و رسم نمودارها توسط نرم افزار Excel انجام شد. میانگین‌ها نیز با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد مورد مقایسه آماری قرار گرفتند. این مطالعه مطابق با کد اخلاق IR.KUMS.REC.1400.527 انجام شده است.

یافته‌ها

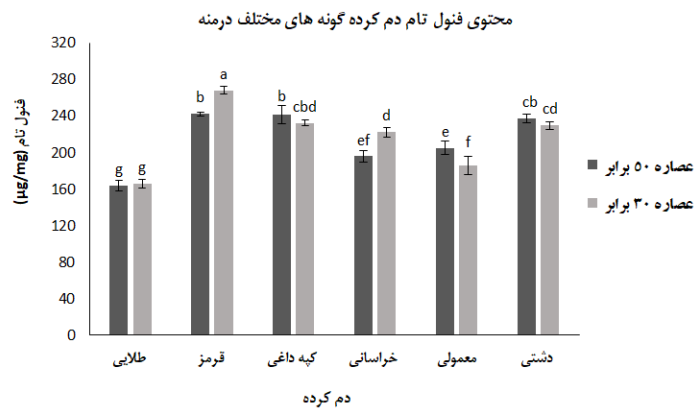
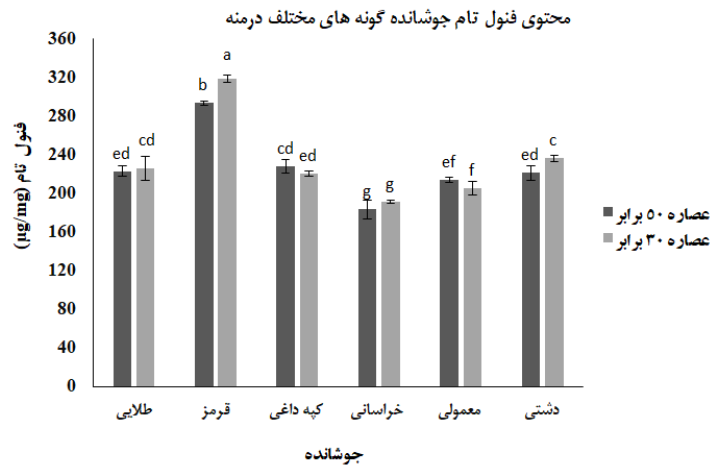
نتایج تجزیه واریانس محتوای تام فنولی عصاره‌ها نشان داد بین محتوای فنولی جوشانده‌ها ($F_{11,24}=83/49, p \leq 0/0001$) و دم کرده‌های ($F_{11,24}=116/14, p \leq 0/0001$) ۳۰ و ۵۰ برابری اختلاف معنی‌دار وجود دارد. بیشترین محتوای تام فنولی مربوط به جوشانده و دم کرده ۳۰ برابری درمنه قرمز به میزان $12/4 \pm 318/65$ و $4/61 \pm 268/4$ (گرم/ میلی‌گرم) می‌باشد (شکل ۱).

نتایج تعیین MIC رشد جدایه‌های باکتریایی نشان داد که چهار سویه از باکتری‌ها شامل *آسیتوباکتر*، *میکروکوکوس لوتئوس*، *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* و *استریتوکوکوس پایورنز* به همه یا تعدادی از غلظت‌های حداقل یکی از عصاره‌ها در طیف غلظتی (۲۵-۰/۲۵ میلی‌گرم/ میلی‌لیتر) حساس بودند (جدول ۱ و ۲). کوچکترین MIC مربوط به جوشانده ۳۰ برابری درمنه قرمز به میزان ۰/۲۵ (میلی‌گرم/ میلی‌لیتر) و در رتبه بعدی مربوط به جوشانده‌های

¹ Minimum Inhibition Concentration

۵۰ برابری درمنه های قرمز و دشتی به میزان ۰/۵ میلی گرم/میلی لیتر) بود که علیه استریپتوکوکوس پایوژنز اعمال شد. بزرگترین طیف اثر ضد باکتریایی (سه سویه استریپتوکوکوس پایوژنز، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس و آسینتوباکتر) نیز مجدداً از جوشانده ۵۰ برابری درمنه های قرمز و دشتی دیده شد. رشد استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس توسط تعداد بیشتری از عصاره‌ها (هفت عصاره مختلف) مهار شد. رشد پنج سویه دیگر باکتریایی در غلظت‌های مورد بررسی هیچ یک از ۲۴ عصاره مهار نگردید.

۵۰ برابری درمنه های قرمز و دشتی به میزان ۰/۵ میلی گرم/میلی لیتر) بود که علیه استریپتوکوکوس پایوژنز اعمال شد. بزرگترین طیف اثر ضد باکتریایی (سه سویه استریپتوکوکوس پایوژنز، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس و آسینتوباکتر) نیز مجدداً از جوشانده



شکل ۱. محتوای تام فنولی در عصاره‌های مختلف درمنه. نتایج بصورت $SEM \pm Mean$ سه آزمایش مستقل بیان شده است.

جدول ۱. MIC (میلی گرم / میلی لیتر) عصاره‌های ۳۰ برابر علیه سویه‌های مختلف باکتریایی

گیاه	عصاره	بازده (درصد)	سویه باکتری		
			استرپتوکوکوس پایوژنز	میکروکوکوس لوتئوس	استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس / آسینتوباکتر
درمنه طلایی	جوشانده	۲۳/۸۴	-	-	۰/۷۵
	دم کرده	۱۷/۵	-	-	-
درمنه قرمز	جوشانده	۱۹/۱	۰/۲۵	-	-
	دم کرده	۱۳/۹۸	-	-	-
درمنه کپه داغی	جوشانده	۱۵/۶	-	-	-
	دم کرده	۱۹	-	۱	۱
درمنه خراسانی	جوشانده	۲۰/۶	-	-	-
	دم کرده	۲۰	-	-	-
درمنه معمولی	جوشانده	۲۷/۴	-	-	-
	دم کرده	۲۶/۶	-	-	-
درمنه دشتی	جوشانده	۲۴/۶	-	-	۱
	دم کرده	۲۳/۸	-	-	۱

جدول ۲. MIC (میلی گرم / میلی لیتر) عصاره‌های ۵۰ برابر علیه سویه‌های مختلف باکتریایی

گیاه	عصاره	بازده (درصد)	سویه باکتری		
			استرپتوکوکوس پایوژنز	استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس	آسینتوباکتر
درمنه طلایی	جوشانده	۲۵/۳۶	-	۰/۷۵	۰/۷۵
	دم کرده	۱۵/۴۳	-	۰/۷۵	-
درمنه قرمز	جوشانده	۱۸/۴	۰/۵	-	-
	دم کرده	۱۲/۹	-	-	-
درمنه کپه داغی	جوشانده	۱۷/۳۳	-	-	-
	دم کرده	۲۰/۳۳	-	-	-
درمنه خراسانی	جوشانده	۲۱/۶۶	-	-	-
	دم کرده	۲۱	-	-	-
درمنه معمولی	جوشانده	۲۶/۶۶	-	-	-
	دم کرده	۲۴/۶۶	-	-	-
درمنه دشتی	جوشانده	۲۷/۶۶	۰/۵	۱	۱
	دم کرده	۲۴/۳۳	-	۱	۱

بحث

رسید. به نظر می‌رسد ترکیبات فنولی تنها عامل تعیین کننده در توانمندی عصاره گیاهان مورد بررسی برای اعمال اثرات ضدباکتریایی نباشند. این موضوع با گزارش اثرات ضد میکروبی از سایر دستجات ترکیبات شیمیایی گیاهان همخوانی دارد [۱۴]. به جز عصاره‌های به دست آمده از درمنه کپه داغی و درمنه معمولی (و درمنه دشتی در روش دم کردن) در بقیه گونه‌های درمنه با افزایش نسبت حلال عصاره‌گیری، محتوای فنول تام کاهش یافت که نشانگر

در مطالعه حاضر، جوشانده ۳۰ برابری درمنه قرمز بیشترین مقدار فنول تام را داشت و قوی‌ترین اثر ضدباکتریایی نیز توسط همین عصاره علیه *استرپتوکوکوس پایوژنز* مشاهده شد؛ اما عصاره یاد شده، گسترده‌ترین اثرات ضد باکتریایی را نداشت. همچنین قویترین اثر علیه *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* توسط عصاره‌ای با کمترین محتوای فنولی (دم کرده پنجاه برابری درمنه طلایی) به ثبت

افزایش میزان استخراج ترکیباتی از سایر گروه‌های متابولیت‌های گیاهی بود. همچنین مشخص شد که با افزایش دما و استفاده از فرآیند جوشاندن میزان فنول تام در عصاره‌های درمنه‌های طلایی، قرمز و معمولی افزایش یافت در صورتی که این روند در درمنه‌های کپه‌داغی و خراسانی به صورت عکس بود. بنابراین دما می‌تواند تاثیر مثبت [۱۵] یا منفی [۱۶] بر فرآیند استخراج فنول تام داشته باشد.

در مطالعه کنونی، گسترده‌ترین حساسیت باکتریایی (سه جدایه) مربوط به جوشانده ۵۰ برابری درمنه دشتی بود. پیش از این، فعالیت ضدقارچی از روغن فرار این گیاه گزارش شده است [۱۷]. در نگاه کلی، جوشانده‌ها نسبت به دم کرده‌ها طیف اثرات بازدارندگی بیشتری را علیه باکتری‌های به کار رفته در این پژوهش (نه مورد ثبت MIC برای جوشانده‌ها در برابر شش مورد دم کرده‌ها) نشان دادند. همچنین در این بررسی شش مورد MIC برای دم کرده‌ها و جوشانده‌های ۳۰ برابری ثبت شد، در حالی که تعداد موارد کلی ثبت شده MIC برای همین عصاره‌ها با نسبت حلال ۵۰ برابر به ۹ مورد افزایش یافت.

بررسی مجزای اثرات ضد میکروبی برخی از گیاهان مطالعه شده، مواردی را در خلاف جهت رویه کلی نشان داد که بدون تردید ناشی از تفاوت‌های طبیعی فیتوشیمیایی این گونه‌هاست. به عنوان نمونه، تنها MIC ثبت شده در این پژوهش علیه میکروکوکوس لوتئوس مربوط به دم کرده ۳۰ برابری درمنه کپه‌داغی بود. عصاره‌های تهیه شده در پژوهش فعلی محدودیت انحلال در غلظت‌های بالاتر از ۱/۵ یا ۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر را داشتند که احتمالاً منجر به عدم مشاهده اثرات ضد باکتریایی در مقایسه با برخی مطالعات قبلی روی سایر گونه‌های درمنه شد. به عنوان نمونه در دو گزارش اخیر، MIC عصاره‌های آبی چندین گونه درمنه علیه سویه‌های مختلف باکتریایی بین ۲/۳ تا ۵۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به

دست آمده است [۱۹، ۱۸]. البته همان طور که در بالا اشاره شد تفاوت ترکیبات شاخص شیمیایی گونه‌های مختلف درمنه عامل مهمی در بروز یا فقدان اثرات ضدباکتریایی عصاره‌هاست چنانکه از عصاره‌های آبی گونه درمنه خزری اثرات ضد باکتریایی علیه *انتروکوکوس فکالیس* و *استافیلوکوکوس اورئوس* در MIC کمتر از یک میلی‌گرم در میلی‌لیتر گزارش شده است [۲۰]. در مطالعه کنونی، باکتری *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* گسترده‌ترین حساسیت را به عصاره‌های آبی گونه‌های درمنه مورد مطالعه نشان داد. این باکتری، گرم مثبت و از گروه بیمارگرهای خطرناک انسانی است که مقاومت زیادی به متسیلین دارد [۱]. نظر به مقاومت ذاتی این باکتری به آنتی‌بیوتیک‌ها اثر گذاری برخی عصاره‌های آبی درمنه در کاهش رشد این باکتری در پژوهش حاضر درخور توجه می‌باشد. حساسیت بیشتر باکتری‌های گرم مثبت با گزارش‌های پیشین اثرات ضد میکروبی از جنس درمنه نیز انطباق دارد [۲۲، ۲۱].

نتیجه‌گیری

برخی عصاره‌های آبی اندام هوایی درمنه‌های قرمز، دشتی، طلایی و کپه‌داغی اثرات ضد میکروبی در برابر تعدادی از باکتری‌ها شامل *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس*، *آسینتوباکتر*، *میکروکوکوس لوتئوس*، *استرپتوکوکوس پایوژنز* دارند. در بیشتر موارد، جوشانده‌ها نسبت به دم کرده‌ها طیف اثرات بازدارندگی بیشتری را علیه باکتری‌های به کار رفته نشان می‌دهند و تعداد موارد کلی ثبت شده MIC با بالاتر رفتن نسبت آب در عصاره‌گیری افزایش می‌یابد. احتمالاً ترکیبات غیر فنولی نیز در بروز اثرات ضدباکتریایی آن‌ها نقش ایفا نمایند. این گونه‌های گیاهی به ویژه درمنه دشتی (با طیف گسترده‌تر اثر) گزینه‌های مناسبی برای بررسی‌های بیشتر فیتوشیمیایی و ضد باکتریایی هستند.

تشکر و قدردانی

این مقاله، از نتایج پایان نامه خانم ملیحه باقری قمی (شماره طرح: ۴۰۰۰۶۱۸) برای اخذ درجه دکتری حرفه‌ای در رشته داروسازی از دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه می‌باشد.

تعارض منافع

نویسندگان مقاله اعلام می‌دارند هیچ گونه تضاد منافی در پژوهش حاضر وجود ندارد.

References

- 1- Denamur E, Clermont O, Bonacorsi S, Gordon D. The population genetics of pathogenic *Escherichia coli*. *Nat Rev Microbiol*. 2021; 19(1): 37-54.
- 2- Bassetti M, Vena A, Croxatto A, Righi E, Guery B. How to manage *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Drugs context*. 2018; 7: 212527.
- 3- Jang J, Hur HG, Sadowsky MJ, Byappanahalli M, Yan T, Ishii S. Environmental *Escherichia coli*: ecology and public health implications. *J Appl Microbiol*. 2017; 123(3): 570-581.
- 4- Shao X, Xie Y, Zhang Y, Liu J, Ding Y, Wu M, et al. Novel therapeutic strategies for treating *Pseudomonas aeruginosa* infection. *Expert Opin Drug Discov*. 2020; 15(12): 1403-1423.
- 5- Nigam M, Atanassova M, Mishra AP, Pezzani R, Devkota HP, Plygun S, et al. Bioactive compounds and health benefits of *Artemisia* species. *Nat Prod Commun*. 2019; 14(7): 1-17.
- 6- Anibogwu R, Jesus KD, Pradhan S, Pashikanti S, Mateen S, Sharma K. Extraction, isolation and characterization of bioactive compounds from *Artemisia* and their biological significance: A review. *Molecules*. 2021; 26(22): 6995.
- 7- Bordean ME, Ungur RA, Borda IM, Martiş GS, Pop CR, Filip M, et al. Antibacterial and phytochemical screening of *Artemisia* species. *Antioxidants (Basel)*. 2023; 12(3): 596.
- 8- Hrytsyk RA, Kutsyk RV, Yurchyshyn OI, Struk OA, Kireev IV, Grytsyk AR. The investigation of antimicrobial and antifungal activity of some *Artemisia* L. species. *Pharmacia*. 2021; 68(1): 93-100.
- 9- Khan A, Ali A, Shah IA, Ullah W, Khan I. Evaluation of antibacterial potential of Artemisinin extracts of *Artemisia annua* in vivo and in vitro. *J bioresour manag*. 2022; 9(4): 42-52.
- 10- Rolta R, Sharma A, Sourirajan A, Mallikarjunan PK, Dev K. Combination between antibacterial and antifungal antibiotics with phytochemicals of *Artemisia annua* L: A strategy to control drug resistance pathogens. *J Ethnopharmacol*. 2021; 266: 113420.
- 11- Mahboubi M, Bidgoli FG. Biological activity of essential oil from aerial parts of *Artemisia aucheri* Boiss. from Iran. *Herba Pol*. 2009; 55(4): 96-104. [Full text in Persian]
- 12- Hatami T, Emami SA, Miraghaee SS, Mojarrab M. Total phenolic contents and antioxidant activities of different extracts and fractions from the aerial parts of *Artemisia biennis* Willd. *Iran J Pharm Res*. 2014; 13(2): 551-559.
- 13- Nezhad-Mokhtari P, Kazeminava F, Abdollahi B, Gholizadeh P, Heydari A, Elmi F, et al. *Matricaria chamomilla* essential oil-loaded hybrid electrospun nanofibers based on polycaprolactone/sulfonated chitosan/ZIF-8 nanoparticles for wound healing acceleration. *Int J Biol Macromol*. 2023; 30(247): 125718.
- 14- Silva NCC, Fernandes Júnior A. Biological properties of medicinal plants: a review of their antimicrobial activity. *J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis*. 2010; 16(3): 402-413.
- 15- Spigno G, Tramelli L, De Faveri DM. Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *J Food Eng*. 2007; 81(1): 200-208.
- 16- Akowuah GA, Mariam A, Chin JH. The effect of extraction temperature on total phenols and antioxidant activity of *Gynura procumbens* leaf. *Pharmacogn Mag*. 2009; 5(17): 81-85.
- 17- Ghasemi G, Alirezalu A, Ishkeh SR, Ghosta Y. Phytochemical properties of essential oil from *Artemisia sieberi* Besser (Iranian accession) and its antioxidant and antifungal activities. *Nat Prod Res*. 2021; 35(21): 4154-4158. [Full text in Persian]
- 18- Alwathnani HA. Antibacterial activity of aqueous extracts of *Artemisia* species against some pathogenic bacteria. *Biosci Biotech Res Asia*. 2017; 14(2): 621-624.

- 19- Monirian F, Abedi R, Balmeh N, Mahmoudi S, Mirzaei Poor F. In-vitro antibacterial effects of *Artemisia* extracts on clinical strains of *P. aeruginosa*, *S. pyogenes*, and oral bacteria. Jorjani Biomed J. 2020; 8(3): 36-43.
- 20- Allemailem KS. Aqueous extract of *Artemisia annua* shows in vitro antimicrobial activity and an in vivo chemo preventive effect in a small-cell lung cancer model. Plants. 2022; 11(23): 3341.
- 21- Nasirpour M, Yavarmanesh M, Mohhamadi Sani A, Mohamdzade Moghadam M. Antibacterial effect of aqueous extract of *Artemisia aucheri*, *Artemisia sieberi* and *Hyssopus officinalis* L. on the food borne pathogenic bacteria. JFST. 2014; 46(12): 73-74. [Full text in Persian]
- 22- Sardarodiyani M, Arian Far A. Investigation of chemical components, antibacterial and antioxidant properties of essential oil *Artemisia Khorasanica* in North Khorasan area. J Innovation Food Sci Technol. 2019; 11(1): 39-57. [Full text in Persian]