Journal of Ardabil University of Medical Sciences

Vol. 22, No. 4, Winter 2023, Pages 323-332

Evaluation of Antibacterial Activity of Aqueous and Hydroalcoholic Extracts of *Physalis alkekengi* Fruit against Four Standard Strains in vitro

Haji Ghasemi M[1], Govahi M*[2], Ranjbar M[1]

1. Department of Microbial Biotechnology, Faculty of Biotechnology, Amol University of Special Modern Technologies, Amol, Iran
2. Department of Nanotechnology, Faculty of Biotechnology, Amol University of Special Modern Technologies, Amol, Iran.

**** Corresponding author.*** Tel: +981144442135, Fax: +981144442135, E-mail: m.govahi@ausmt.ac.ir

Received: Nov 8, 2022 Accepted: Jan 8, 2023

ABSTRACT

Background & objectives: Due to the increasing resistance of bacteria to antibiotics and the presence of antibacterial compounds in plants, in this study, the effect of hydro-alcoholic and aqueous extracts of *Physalis alkekengi* on some pathogenic bacteria was investigated.

Methods: In this experimental study, the dried fruits of the Physalis alkekengi were purchased from a medicinal plant shop and after extraction, the antibacterial effect of the aqueous, ethanolic, and methanolic extracts of the plant against standard strains of *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* were evaluated. Antibacterial activity, Minimum Inhibitory Concentration (MIC), and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) of the extracts were determined using serial dilution and disk diffusion methods.

Results: In the disk diffusion method, all concentrations of the methanolic extract of *Physalis alkekengi* had an inhibitory effect on *Bacillus subtilis* and *Staphylococcus aureus*. However, the inhibitory effect of the methanolic extract was considerably higher than the aqueous extract. The lowest inhibitory concentration of the methanolic extract was 12.5 mg/ml, and the minimum lethal concentration was 25 mg/ml. Aqueous and ethanolic extracts of the plant had the minimal effect on the standard strain of *Staphylococcus aureus*.

Conclusion: Aqueous, ethanolic, and methanolic extracts showed different levels of antibacterial properties in a concentration-dependent method. Therefore, the inhibitory effects against each bacterium can probably be attributed to the activity of the active ingredients of the plant, the extraction method, and the properties of the solvent used.

Keywords: *Escherichia coli*; *Salmonella typhimurium*; *Bacillus subtilis*; *Staphylococcus aureus; Physalis alkekengi*

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-01-09]

[DOR: 20.1001.1.22287280.1401.22.4.7.8]

[DOI: 10.52547/jarums.22.4.323]

بررسی اثربخشی فعالیت ضد باکتریایی عصاره‌های آبی و هیدروالکلی میوه گیاه عروسک پشت پرده (*Physalis alkekengi*) علیه چهار سویه استاندارد در شرایط آزمایشگاهی

محدثه حاجی قاسمی[۱]، مصطفی گواهی[۲]*، مجتبی رنجبر[۱]

۱. گروه زیست‌فناوری میکروبی، دانشکده زیست‌فناوری، دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل، آمل، ایران
۲. گروه نانو زیست‌فناوری، دانشکده زیست‌فناوری، دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل، آمل، ایران.
* نویسنده مسئول. تلفن: ۰۱۱٤٤٤٤۲۱۳۵ فاکس: ۰۱۱٤٤۱۵٤۲٦۵ پست الکترونیک: m.govahi@ausmt.ac.ir

چکیده

زمینه و هدف: با توجه به افزایش روزافزون مقاومت باکتری‌ها به آنتی بیوتیک‌ها و وجود ترکیبات ضدباکتریایی در گیاهان، در این مطالعه تأثیر عصاره‌های هیدروالکلی و آبی گیاه عروسک پشت پرده بر روی تعدادی از باکتری‌های بیماری‌زا بررسی شد.

روش کار: در این مطالعه تجربی میوه خشک گیاه عروسک پشت پرده از فروشگاه گیاهان دارویی خریداری شد و پس از عصاره‌گیری، اثرات ضدباکتریایی عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی گیاه علیه چهار سویه استاندارد *اشریشیا کلای، سالمونلا تیفی موریوم، باسیلوس سوبتیلیس، استافیلوکوکوس اورئوس* مورد ارزیابی قرار گرفت. فعالیت ضدباکتریایی، حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت باکتری‌کشی (MBC) عصاره‌ها با استفاده از تکنیک رقت‌های سریالی و دیسک دیفیوژن تعیین شد.

یافته‌ها: در روش دیسک دیفیوژن همه غلظت‌های عصاره متانولی گیاه عروسک پشت پرده بر روی *باسیلوس سوبتیلیس و استافیلوکوکوس اورئوس* اثر بازدارندگی داشت، با این وجود، اثر بازدارندگی عصاره متانولی آن در مقایسه با عصاره آبی به‌مراتب بالاتر بود. کمترین غلظت بازدارندگی عصاره متانولی ۱۲/۵ mg/ml و حداقل غلظت کشندگی ۲۵ mg/ml تعیین شد. عصاره‌های آبی و اتانولی این گیاه بر روی سویه استاندارد، *استافیلوکوکوس اورئوس* اثر خیلی کمی داشت.

نتیجه‌گیری: عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی سطوح متفاوتی از فعالیت ضدباکتریایی را نشان می‌دهند که می‌توان آن را به غلظت مورد استفاده آن‌ها مربوط دانست. بنابراین اثرات بازدارندگی در برابر هر باکتری را احتمالاً می‌توان به فعالیت مواد موثره گیاه، روش استخراج و خواص حلال مورد استفاده نسبت داد.

واژه‌های کلیدی: *اشریشیا کلای، سالمونلا تیفی موریوم، باسیلوس سوبتیلیس، استافیلوکوکوس اورئوس*، عروسک پشت پرده

دریافت: ۱٤۰۱/۸/۱۷ **پذیرش:** ۱٤۰۱/۱۰/۱۸

مقدمه

مقاومت میکروارگانیسم‌ها در برابر آنتی‌بیوتیک ها مشکلاتی را در پی دارد که این موضوع به یکی از نگرانی‌های مهم جوامع بشری و نظام سلامت و درمان تبدیل شده است [۱]. با پیدایش باکتری‌های مقاوم به درمان با آنتی‌بیوتیک، اثربخشی داروهای موجود کاهش یافته و این امر شکست درمان‌های ضدباکتریایی را به‌طور فزاینده‌ای افزایش داده است

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-01-09]
[DOR: 20.1001.1.22287280.1401.22.4.7.8]
[DOI: 10.52547/jarums.22.4.323]

[۲]. علاوه بر این، استفاده گسترده از داروهای با منشأ صنعتی و استفاده نادرست از این داروها موجب بروز عوارض جانبی زیادی می‌شود که گاهی اثرات سمی حاصل جدی‌تر از خود بیماری‌ها خواهند بود [۲].

مطالعه‌های انجام شده در دنیا حاکی از آن است که عصاره بسیاری از گیاهان توانایی مهار رشد میکروارگانیسم‌ها را دارند و به این لحاظ گیاهان دارویی به عنوان عوامل ضدمیکروبی کاربردهای زیادی پیدا نموده‌اند [۳]. وجود ترکیب‌های فعال از لحاظ بیولوژیک در میان گیاهان دارویی منجر به استفاده از آن‌ها به عنوان داروهای گیاهی، مکمل‌های غذایی و غذاهای هدفمند شده است. گیاهان همچنین در درمان بیماری‌های مختلفی نظیر افزایش فشارخون، کلسترول، اگزما و اسهال برای قرن‌ها استفاده شده‌اند و امروزه نقش آنها به دنبال شناسایی و جداسازی ترکیب‌های فیتوشیمیایی فعال بیولوژیک نشان داده شده است [٤].

در سال‌های اخیر تمایل رو به رشدی برای کشف و معرفی مواد ضدمیکروبی با منشأ گیاهی به وجود آمده است، چرا که گیاهان ترکیباتی با ساختارهای مولکولی پیچیده‌ای می‌سازند که برخی از آن‌ها با خواص ضدمیکروبی گیاهی مرتبط هستند، آلکالوئیدها، فلاونوئیدها، ایزوفالونوئیدها، تانن‌ها، گلیکوزیدها، ترپن‌ها و ترکیبات فنلی از جمله این متابولیت‌های ثانویه هستند که قادرند خواص ضدمیکروبی را به وجود آورند [۱]. آنتی‌بیوتیک‌ها با حذف یا توقف تکثیر میکروب‌ها با عامل بیماریزا مقابله می‌کنند. ایجاد عوارض جانبی جبران ناپذیر و ظهور و انتشار مقاومت دارویی در بین میکروب‌ها از جمله مشکل‌های اساسی کاربرد آنتی بیوتیک‌ها است. بنابراین استفاده از درمان‌های جدید و یا استفاده از داروهای گیاهی با عوارض کمتر ضروری به نظر می‌رسد [۵].

گیاه عروسک پشت پرده[1] گیاهی است متعلق به خانواده سیب زمینی[2] که تاکنون حدود ۱۲۰ گونه مختلف از این گیاه در سراسر جهان مورد شناسایی قرارگرفته است [۶] و در مناطق نیمه گرمسیری و آب و هوایی گرم و معتدل پراکنده شده‌اند [۷]. این گیاه دارای گونه‌های فراوانی است که برخی از آنها همانند *P. Minima, alkekengi, P. pubscens P.* ارزش دارویی و درمانی دارد. گونه *P. alkekengi* در طب چینی کاربرد فراوانی دارد [۸]. گونه *P. alkekengi* یکی از مهم‌ترین گونه‌های جنس فیسالیس محسوب می‌گردد. میوه‌های این گیاه به‌دلیل دارا بودن ویتامین‌های فراوان، مواد معدنی و آنتی‌اکسیدان‌ها از ارزش غذایی بالایی برخوردار هستند. علاوه براین خواص دارویی بالقوه از جمله خواص ضدباکتری، ضدالتهاب و خاصیت آنتی‌اکسیدانی نیز برای این گیاه گزارش شده است [۹]. در گزارش‌های متعدد کاربرد گسترده این گیاه در طب سنتی برای درمان بیماری‌هایی نظیر مالاریا،آسم، هپاتیت و روماتیسم اشاره شده است [۱۳-۱۰].

مطالعات نشان داده است که گیاه عروسک پشت پرده نقش مهمی در فعالیت ضدباکتریایی دارد [١٤]. بنابراین در دهه اخیر توجه به خواص دارویی و درمانی گیاه عروسک پشت پرده در نقاط مختلف دنیا افزایش پیدا کرده است. نتایج مطالعه یانگ و همکاران نشان داد که بذر و میوه گیاه دارویی عروسک پشت پرده دارای خواص ضدباکتریایی بالایی بوده است [۱۵]. هدف از این آزمایش مقایسه خاصیت ضد-باکتریایی عصاره‌های آبی و هیدروالکلی گیاه عروسک پشت پرده می‌باشد.

روش کار

این مطالعه آزمایشگاهی از نوع تجربی می‌باشد و در آزمایشگاه تحقیقاتی زیست‌فناوری دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل در سال ۱٤۰۱-۱٤۰۰ انجام شد. میوه گیاه عروسک پشت پرده به‌صورت خشک‌شده از فروشگاه گیاهان داوریی تهیه و پس از

[1] *Physalis alkekengi*

[2] Solanaceae

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-01-09]
[DOR: 20.1001.1.22287280.1401.22.4.7.8]
[DOI: 10.52547/jarums.22.4.323]

تمیزکردن و جداسازی آلودگی از نمونه گیاهی، به‌منظور بکارگیری مفیدتر در آسیاب پودر شد. از نمونه گیاهی پودرشده، عصاره‌های آبی و هیدروالکلی تهیه گردید.

برای تهیه عصاره‌های آبی ابتدا ۱۰ گرم از گیاه پودرشده را با ۱۵۰ سی‌سی از آب مقطر ترکیب کرده و به مدت یک ساعت روی همزن با دمای ۸۰ درجه سانتی گراد قرار داده شد. سپس عصاره را به مدت ۷۲ ساعت درون شیکر گذاشته و در ادامه عصاره به مدت ۳۰ دقیقه با دور ۶۰۰۰ سانتریفیوژ شد، سپس مایع رویی را با کاغذ صافی صاف کرده و درون فریزر با دمای منفی ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۲ ساعت قرار داده شد. در ادامه با استفاده از دستگاه فریز درایر عصاره‌ها را خشک کرده و برای ادامه کار، آنها در یخچال با دمای ٤ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

برای تهیه عصاره‌های هیدروالکلی (متانولی۸۰٪ و اتانولی ۷۰٪)، ۱۰ گرم از پودر گیاه خشک شده با ۱۵۰ سی‌سی از متانول ۸۰٪ و اتانول ۷۰٪ را ترکیب کرده و به مدت یک ساعت روی استیرر با دمای ۸۰ درجه سانتی گراد قرار گرفت سپس به مدت ۷۲ ساعت داخل شیکر قرار داده و در ادامه به مدت ۳۰ دقیقه عصاره‌ها با دور ۶۰۰۰ سانتریفیوژ شد و سپس مایع رویی را با کاغذ صافی صاف کرده و بعد از آن، عصاره‌ها را داخل آون قرار داده تا خشک شوند. بعد از گذشت ۷۲ ساعت عصاره خشک شده جدا شد [۱۶].

مطالعه روش ضدمیکروبی

اثر ضدمیکروبی عصاره‌های آبی و هیدروالکلی عروسک پشت پرده با استفاده از دو روش تهیه رقت در براث و دیسک دیفیوژن به کمک دیسک بررسی گردید [۱۷]. در روش دیسک دیفیوژن، ابتدا یک لوپ از کشت استاندارد باکتری‌های گرم منفی *اشریشیا کلای (PTCC1399)* و *سالمونلا تیفی موریوم (PTCC1709)* و باکتری‌های گرم مثبت *باسیلوس سوبتیلیس (PTCC 654)* و *استافیلوکوکوس اورئوس (PTCC 1431)* هر باکتری بر روی این محیط‌ها کشت داده شد. سپس دیسک‌های کاغذی به قطر ۶ میلی متر (با غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰، ٤۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) با عصاره عروسک پشت پرده آغشته گشت و توسط پنس استریل در سطح محیط کشت قرار داده شد و با کمی فشار روی محیط کشت ثابت گردید. بعد از گرمخانه‌گذاری به‌مدت ۲٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد با استفاده از خط‌کش به‌طور دقیق قطر هاله عدم رشد برحسب میلی‌متر اندازه‌گیری شد. تمامی آزمایش‌ها با سه بار تکرار انجام گرفت. در این مطالعه از آنتی بیوتیک‌های جنتامایسین و وانکومایسین به‌عنوان نمونه کنترل مثبت استفاده شد. برای تعیین حداقل غلظت بازدارندگی[1] برای هر عصاره از یک سری ۱۰ تایی لوله آزمایش استریل استفاده شد، ۹ لوله برای آزمایش رقت‌های مختلف هر عصاره و یک لوله نیز به عنوان کنترل به‌کار رفت. بلافاصله پس از کشت، تمام لوله‌ها در گرم خانه گذاشته شدند. پس از گرمخانه‌گذاری لوله‌ها از نظر رنگ قرمز فنول رد ناشی از رشد باکتری‌های تلقیح شده مورد بررسی قرارگرفتند، پایین‌ترین غلظتی که در آن رنگ قرمز مشاهده نگردید، به عنوان MIC در نظر گرفته شد. برای تعیین حداقل غلظت کشندگی[2] برای هر عصاره از یکسری دو تایی لوله آزمایش استریل استفاده شد، یک لوله برای آزمایش رقت‌های مختلف از هر عصاره و یک لوله نیاز به‌عنوان کنترل به کار رفت. پس از کشت تمام لوله‌های آزمایش داخل گرم‌خانه گذاشته شدند. از تمام لوله‌هایی که نشانه‌های رشدی در آن‌ها مشاهده نشده بود نمونه‌برداری و جهت تعیین MBC کشت داده شد. لوله‌ای که حاوی کمترین غلظت عصاره بود و در پلیت مربوط به آن هیچ رشدی مشاهده نشده بود به عنوان MBC در نظر گرفته

[1] Minimum Inihibitory Concent (MIC)
[2] Minimum Bactericidal Concentration (MBC)

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-01-09]
[DOR: 20.1001.1.22287280.1401.22.4.7.8]
[DOI: 10.52547/jarums.22.4.323]

شد. این روش برای هر سه عصاره آبی، اتانولی و متانولی و هر میکروارگانیسم با سه بار تکرار انجام گردید [۱۸].

تجزیه و تحلیل آماری

جهت تجزیه و تحلیل داده‌های خام بدست آمده در این پژوهش از نرم افزار SPSS-25 استفاده شد. نتایج به صورت میانگین± انحراف استاندارد (mean±SD) گزارش شد. از نظر آماری نیز مقدار p کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار محسوب گردید ($p<۰/۰۵$).

یافته‌ها

فعالیت ضدباکتریایی سه عصاره آبی، اتانولی و متانولی در غلظت‌های مختلف (۱۰۰، ۲۰۰، ٤۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) بر دو باکتری گرم منفی *اشریشیا کلای* و *سالمونلا تیفی موریوم* و دو باکتری گرم مثبت *باسیلوس سوبتیلیس* و *استافیلوکوکوس اورئوس* با حضور آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین و وانکومایسین به‌عنوان استاندارد، بررسی شد. نتایج به‌دست آمده در جدول ۱ نشان داد که با افزایش غلظت عصاره‌ها، سطح هاله مهاری افزایش می‌یابد. بیشترین سطح هاله مهار رشد در عصاره متانولی میوه گیاه عروسک پشت پرده در غلظت ٤۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به ترتیب با میزان ۰/۶±۲۳ و ۰/٤±۱۹میلی‌متر مربوط به باکتری‌های گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* و *باسیلوس سوبتیلیس* گزارش شد. کمترین هاله عدم رشد در تمام غلظت‌ها در همه حلال‌ها متعلق به باکتری‌های گرم منفی *اشرشیا کلی* و *سالمونلا تیفی موریوم* می‌باشد.

جدول ۱. میانگین قطر هاله عدم رشد باکتری‌ها در حضور عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی گیاه عروسک پشت پرده (میلی متر)

نوع حلال	میکروارگانیسم	غلظت عصاره (میلی گرم/ میلی لیتر)				
		۱۰۰	۲۰۰	٤۰۰	آنتی بیوتیک	نوع آنتی بیوتیک
آبی	*Escherichia coli*	٤±۰/۱^{a}	۵±۰/۲^{ab}	۶±۰/۲^{b}	۱۸±۰/۰	جنتامایسین
	Staphylococcus aureus	۸±۰/۳^{a}	۸±۰/۱^{a}	۹±۰/۳^{a}	۲۰±۰/۰	وانکومایسین
	Bacillus subtilis	۷±۰/۲^{a}	۸±۰/۲^{ab}	۹±۰/۱^{b}	۲۰±۰/۰	وانکومایسین
	Salmonella typhimurium	۶±۰/۲^{a}	۷±۰/٤^{ab}	۸±۰/۳^{b}	۱۸±۰/۰	جنتامایسین
اتانولی	*Escherichia coli*	۵±۰/۰^{a}	۶±۰/۱^{ab}	۷±۰/۱^{b}	۱۸±۰/۰	جنتامایسین
	Staphylococcus aureus	۱۰±۰/۳^{a}	۱۲±۰/۳^{b}	۱۸±۰/۲^{c}	۲۰±۰/۰	وانکومایسین
	Bacillus subtilis	۱۰±۰/۱^{a}	۱۳±۰/۵^{b}	۱۵±۰/۳^{c}	۲۰±۰/۰	وانکومایسین
	Salmonella typhimurium	۹±۰/۲^{a}	۱۰±۰/۲^{b}	۱۳±۰/٤^{c}	۱۸±۰/۰	جنتامایسین
متانولی	*Escherichia coli*	۶±۰/۱^{a}	۷±۰/۳^{ab}	۸±۰/٤^{b}	۱۸±۰/۰	جنتامایسین
	Staphylococcus aureus	۱۷±۰/٤^{a}	۲۰±۰/۶^{b}	۲۳±۰/۶^{c}	۲۰±۰/۰	وانکومایسین
	Bacillus subtilis	۱۱±۰/۳^{a}	۱۵±۰/۲^{b}	۱۹±۰/٤^{c}	۲۰±۰/۰	وانکومایسین
	Salmonella typhimurium	۱۰±۰/۵^{a}	۱۳±۰/٤^{b}	۱۵±۰/۵^{c}	۱۸±۰/۰	جنتامایسین

* میانگین‌هایی که در هر ردیف حداقل دارای یک حرف مشابه هستند، بر مبنای آزمون چند دامنه‌ی دانکن در سطح ۰/۰۵ تفاوت معنی‌داری ندارند.

حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی باکتری (MBC) عصاره های آبی، متانولی و اتانولی علیه چهار باکتری استفاده شده در جدول ۲ آمده است. نتایج نشان داد که در بین باکتری‌های مورد آزمایش، باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* بیشترین حساسیت را در برابر عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی میوه گیاه عروسک پشت پرده دارد. در تعیین MIC و MBC به روش رقت‌های سریالی، عصاره متانولی در رقت ۱۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر باعث مهار رشد (MIC) و در رقت ۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر باعث مرگ (MBC) باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *باسیلوس سوبتیلیس* شد.

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-01-09]
[DOR: 20.1001.1.22287280.1401.22.4.7.8]
[DOI: 10.52547/jarums.22.4.323]

عصاره‌های آبی و اتانولی مورد استفاده نیز در رقت ۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر باعث مهار رشد (MIC) و در رقت ۵۰ میلی گرم بر میلی‌لیتر باعث مرگ (MBC) باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* شد. این در حالی است که باکتری *اشرشیاکلی* در هر سه عصاره آبی، اتانولی و متانولی در رقت ۵۰ میلی گرم بر میلی‌لیتر باعث مهار رشد (MIC) و در رقت ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر باعث مرگ (MBC) باکتری شد که این مقادیر در عصاره‌های آبی و اتانولی در باکتری *سالمونلا تیفی موریوم* نیز مشاهده شد.

جدول ۲. حداقل غلظت بازدارندگی و کشندگی (میلی‌گرم/ میلی‌لیتر) عصاره‌های آبی و هیدروالکلی میوه گیاه عروسک پشت پرده

نوع حلال	میکروارگانیسم	غلظت عصاره (میلی گرم بر میلی‌لیتر)	
		MIC	MBC
آبی	*Escherichia coli*	۵۰	۱۰۰
	Staphylococcus aureus	۲۵	۵۰
	Bacillus subtilis	۲۵	۵۰
	Salmonella typhimurium	۵۰	۱۰۰
اتانولی	*Escherichia coli*	۵۰	۱۰۰
	Staphylococcus aureus	۲۵	۵۰
	Bacillus subtilis	۲۵	۵۰
	Salmonella typhimurium	۵۰	۱۰۰
متانولی	*Escherichia coli*	۵۰	۱۰۰
	Staphylococcus aureus	۱۲/۵	۲۵
	Bacillus subtilis	۱۲/۵	۲۵
	Salmonella typhimurium	۵۰	۵۰

بحث

وجود خواص ضدعفونی‌کنندگی علاوه بر اثرهای درمانی از عوامل توجه طب سنتی به گیاهان دارویی در سال‌های اخیر بوده است. بر اساس اعلام سازمان بهداشت جهانی، ۱۹ درصد از جمعیت کشورهای توسعه یافته، کم و بیش برای درمان از گیاهان دارویی استفاده می‌نمایند [۱۹]. محققین مختلف گزارش کردند که گیاهان دارویی به‌دلیل داشتن اسانس‌ها و ترکیبات مختلف آنتی‌اکسیدانی بر روی باکتری‌های مختلف بیماری‌زا اثر مهاری دارند [۳].

در این پژوهش، فعالیت ضدباکتریایی عصاره‌های هیدروالکلی و آبی میوه گیاه عروسک پشت پرده با تشکیل یک هاله بازدارنده در اطراف کلنی‌های باکتری و تست MIC نشان داده شد. نتایج نشان داد عصاره‌ها در باکتری‌های گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* و *باسیلوس سوبتیلیس* در مقابل باکتری‌های گرم منفی *اشریشیا کلی* و *سالمونلا تیفی موریوم* در تشکیل هاله عدم رشد موثرتر بودند و به عصاره حساسیت بیشتری نشان دادند.

قدرت بازدارندگی عصاره‌ها را می‌توان بر اساس اندازه هاله عدم رشد به‌دست‌آمده طبقه‌بندی کرد. برای اینکه عصاره با فعالیت متوسط در نظر گرفته شود، باید هاله مهاری ۸ تا ۱۳ میلی‌متر تشکیل شود، در حالی‌که برای فعالیت بسیار بالا هاله مهاری باید بیش از ۱۴ میلی‌متر تشکیل شود [۲۰]. بنابراین عصاره‌های مورد مطالعه در مقابل باکتری‌های گرم‌منفی اثر متوسط و در مقابل باکتری‌های گرم‌مثبت فعالیت بسیار بالایی را نشان داده‌اند. در این مطالعه بالاترین اندازه هاله عدم رشد مربوط به عصاره متانولی *استافیلوکوکوس اورئوس* به اندازه ۲۳ میلی‌متر و کمترین هاله عدم رشد مربوط به عصاره آبی باکتری *اشرشیا کلی* و به اندازه ٤ میلی‌متر بوده است.

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-01-09]
[DOR: 20.1001.1.22287280.1401.22.4.7.8]
[DOI: 10.52547/jarums.22.4.323]

اشریشیا کلی یک باکتری گرم منفی است که یکی از اعضای مهم میکروفلور روده طبیعی انسان و سایر پستانداران خون‌گرم است. این گونه باکتریایی می‌تواند باعث بیماری‌های متعددی از جمله بیماری روده و عفونت‌های خارج روده‌ای، مانند عفونت‌های دستگاه ادراری و مننژیت شود [۲۱]. باکتری *سالمونلا تیفی موریوم* یکی از اعضای خانواده *انتروباکتریاسه* است که به‌صورت باسیل‌های گرم منفی هستند. گونه‌های *سالمونلا* به عنوان یکی از مهمترین آلوده کننده‌های مواد غذایی و گاستروانتریت در انسان به‌شمار می‌آیند [۲۲]. باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* یک میکروارگانیسم بیماری‌زای گرم مثبت است [۲۳] که به عملکرد مواد ضد میکروبی مانند عصاره‌های گیاهی حساسیت بیشتری دارند [۲٤]. عصاره‌ی بدست آمده از حلال متانولی در برابر *استافیلوکوکوس اورئوس* اثر ضدباکتریایی بهتری از خود نشان داد. باکتری *باسیلوس سوبتیلیس* یک باکتری گرم مثبت و اسپورزایی است که به‌عنوان عامل مسمومیت در مواد غذایی شناخته شده است این باکتری یکی از پاتوژن‌های مهم مواد غذایی محسوب می‌شود که می‌تواند باعث آلودگی طیف گسترده‌ای از غذاها به خصوص فرآورده‌های لبنی شود و سبب ایجاد مسمومیت غذایی در افراد گردد [۲۳]. تفاوت در نتایج به دست آمده در این پژوهش برای باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی ممکن است به‌دلیل تفاوت در غشاءِ و دیواره سلولی باکتری‌ها باشد. با توجه به پژوهش سیزر و همکاران [۲۵] باکتری‌های گرم منفی دارای یک غشای خارجی و یک فضای پری پلاسمیک هستند که هر دو در باکتری‌های گرم مثبت وجود ندارند. یعنی باکتری‌های گرم منفی به دلیل وجود یک لایه نازک از موکوپپتید در برابر ترکیبات ضدمیکروبی مقاوم‌تر هستند، عاملی که به پیچیدگی ساختاری آن‌ها نسبت داده می‌شود که در آن یک مانع مقاوم در برابر نفوذ ترکیبات خارجی به سلول وجود دارد [۲۵]. در برخی مطالعه‌ها نشان داده شد که عصاره گیاهی که با استفاده از هگزان استخراج شده باشد به‌عنوان عصاره مؤثرتر علیه فعالیت ضدمیکروبی مورد استفاده قرارمی‌گیرد و در برخی دیگر عصاره متانولی نسبت به‌روش‌های استخراج دیگر همچون عصاره آبی، عصاره هگزانولی و یا اتانولی اثرهای بازدارندگی بهتری دارد [۲۶]. چنین استنباط می‌شود که اکثر ترکیب‌های شناسایی شده با فعالیت ضدمیکروبی از گیاهان دارویی ترکیب‌های آروماتیک یا ترکیب‌های آلی اشباع هستند که این ترکیب‌ها در حلال‌های الکلی همچون متانول و اتانول حلالیت بیشتری دارند. با این وجود در کلیه موارد علت این اختلاف‌ها، تفاوت در نوع ترکیب‌های گیاهی یافت شده در گیاهان دارویی می‌باشد.

عوامل زیادی از جمله تفاوت در قسمت‌های مختلف گیاه برای عصاره‌گیری، روش‌های عصاره‌گیری،ترکیب‌های گیاه به‌دلیل شرایط اقلیمی و جغرافیایی متنوع در ترکیب‌های فعال گیاهی نقش دارند [۲۷]. شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد مکانیسم اصلی فعالیت ضدمیکروبی اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی از طریق تغییرساختار و عمل غشای سلولی اعمال می‌شود. بررسی‌های صورت گرفته نشان داده است که ترکیبات مشتق شده از گیاهان نفوذپذیری غشای سلولی میکروارگانیسم‌های تحت بررسی را افزایش می‌دهند و از این طریق تعداد یون‌های مختلف در دوسوی غشا را بر هم می‌زنند [۲۸].

نتایج این پژوهش تجربی نشان داد عصاره متانولی میوه گیاه دارویی عروسک پشت پرده اثر مهاری قابل توجهی روی باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* داشته است ولی اثر آن بر باکتری *اشریشیا کلی* ناچیز بوده است. به نظر می‌رسد که ترکیب‌های مهم و تأثیرگذار در فعالیت ضدمیکروبی، نیمه قطبی یا غیرقطبی بوده که در حلال غیرقطبی مانند متانول حلالیت بیشتری دارند [۲۹] که نتایج حاصل از این پژوهش تأییدکننده این موضوع بوده است.

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-01-09]
[DOR: 20.1001.1.22287280.1401.22.4.7.8]
[DOI: 10.52547/jarums.22.4.323]

تحقیق‌های مشابهی در این زمینه بر روی تعدادی از گیاهان دارویی نیز انجام شده که تئوری ذکر شده را تأیید می‌کند. به‌عنوان مثال در پژوهشی خورشیدپور و همکاران اثر ضدمیکروبی عصاره‌های آبی و متانولی برگ چغندر قرمز را بر روی پنج سویه میکروبی در شرایط آزمایشگاهی بررسی کردند. نتایج این پژوهش‌ها نشان داد که افزایش فعالیت ضدمیکروبی برگ چغندر قرمز رابطه مستقیمی با نوع حلال دارد [۳۰]، همچنین نتایج احمدی و همکاران نشان داد که عصاره متانولی برگ چغندر قرمز نسبت به عصاره‌های آبی دارای فعالیت بازدارندگی بیشتری می‌باشد [۳۱]. بهترین رقت به‌دست‌آمده برای تمام عصاره‌ها رقت ۱۲۵میلی‌گرم بر میلی‌لیتر است. در کل، نتایج بررسی‌ها در شرایط آزمایشگاهی نشان دادند که عصاره متانولی استخراج شده از گیاه دارویی عروسک پشت پرده دارای فعالیت ضدمیکروبی علیه باکتری‌های *باسیلوس سوبتیلیس* و *استافیلوکوکوس* می‌باشند که می‌توان به‌عنوان یک گزینه مناسب در تولید داروهای گیاهی جدید پس از بررسی‌های بیشتر روی حیوانات آزمایشگاهی با کمترین عوارض جانبی به‌دلیل طبیعی‌بودن، علیه باکتری‌های فوق بکار برده شوند.

نتیجه‌گیری

در مجموع، با توجه به نتایج به‌دست‌آمده در بین حلال‌های آبی، اتانولی و متانولی، عصاره متانولی بیشترین اثر را در تشکیل هاله عدم رشد باکتری‌ها داشته است. به‌طوری که می‌توان گفت با افزایش غلظت عصاره متانولی میوه گیاه عروسک پشت پرده، هاله بازدارندگی به‌طور معنی‌داری افزایش یافته است. همچنین، مشاهده شد عصاره متانولی میوه گیاه عروسک پشت پرده در مقایسه با عصاره آبی و اتانولی اثر بازدارندگی بیشتری روی باکتری‌های گرم مثبت مورد مطالعه دارد. بنابراین به نظر می‌رسد که اثرات بازدارندگی در برابر هرکدام از سویه‌های باکتری را احتمالاً می‌توان به فعالیت مواد موثره گیاه، روش استخراج و خواص حلال مورد استفاده نسبت داد.

تشکر و قدردانی

این مقاله از پایان نامه کارشناسی ارشد خانم محدثه حاجی قاسمی با کد رهگیری ۱۶۹٤۸٤٤ و کد اخلاق Ir.ausmt.rec.1400.18 از دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل استخراج شده است و به دلیل همکاری در اجرای این تحقیق تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

تضاد منافع

نویسندگان مقاله اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد منافعی در پژوهش حاضر وجود ندارد.

References

1- Ahameethunisa AR, Hopper W. In vitro antimicrobial activity on clinical microbial strains and antioxidant properties of *Artemisia parviflora*. Ann Clin Microbiol Antimicrob. 2012 Dec;11:30.
2- Hancock RE. Mechanisms of action of newer antibiotics for Gram-positive pathogens. Lancet Infect Dis. 2005 Apr; 5(4):209-218.
3- Khameneh B, Iranshahy M, Soheili V, Fazly Bazzaz BS. Review on plant antimicrobials: a mechanistic viewpoint. Antimicrob Resist Infect Control. 2019 Dec; 8:118.
4- Smith JA, Madden T, Vijjeswarapu M, Newman RA. Inhibition of export of fibroblast growth factor-2 (FGF-2) from the prostate cancer cell lines PC3 and DU145 by Anvirzel and its cardiac glycoside component, oleandrin. Biochem Pharmacol. 2001 Aug; 62(4):469-72.

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-01-09]
[DOR: 20.1001.1.22287280.1401.22.4.7.8]
[DOI: 10.52547/jarums.22.4.323]

5- Jalali MR, Jafari HO, Owlia P, Fallah N, Davati A. In vivo antibacterial effects of garlic aqueous extract on *Salmonella typhimurium* infected rabbits. Iran J Med Aromat Plant Res. 2008 Winter; 23(4):453-7. [Full text in Persian]
6- Xu YM, Wijeratne EK, Babyak AL, Marks HR, Brooks AD, Tewary P, et al. Withanolides from aeroponically grown *Physalis peruviana* and their selective cytotoxicity to prostate cancer and renal carcinoma cells. J Nat Prod. 2017 Jul; 80(7):1981-91.
7- Nkwe DO, Lotshwao B, Rantong G, Matshwele J, Kwape TE, Masisi K, et al. Anticancer mechanisms of bioactive compounds from Solanaceae: An update. Cancers. 2021 Oct; 13(19):4989.
8- Mazova N, Popova V, Stoyanova A. Phytochemical composition and biological activity of *Physalis spp*.: a mini-review. Food Sci Appl Biotechnol. 2020 Mar; 3(1):56-70.
9- Patel T, Shah K, Jiwan K, Shrivastava N. Study on the antibacterial potential of *Physalis minima* Linn. Indian J Pharm Sci. 2011 Jan-Feb;73(1):111-15.
10- Januário AH, Filho ER, Pietro RC, Kashima S, Sato DN, França SC. Antimycobacterial physalins from *Physalis angulata* L.(Solanaceae). Phytother Res. 2002 Aug; 16(5):445-8.
11- Pinto LA, Meira CS, Villarreal CF, Vannier-Santos MA, de Souza CV, Ribeiro IM, et al. A seco-steroid from *Physalis angulata* L., has immunosuppressive activity in peripheral blood mononuclear cells from patients with HTLV1-associated myelopathy. Biomed Pharmacother. 2016 Apr; 79:129-34.
12- Sun CP, Qiu CY, Zhao F, Kang N, Chen LX, Qiu F. Physalins V-IX, 16, 24-cyclo-13, 14-seco withanolides from *Physalis angulata* and their antiproliferative and anti-inflammatory activities. Sci Rep. 2017 Jun; 7:4057.
13- Zhang WN, Tong WY. Chemical constituents and biological activities of plants from the genus *Physalis*. Chem Biodivers. 2016 Jan;13(1):48-65.
14- Zare Z, Teimouri M. The therapeutic effects of *Physalis alkekengi* hydroalcoholic extract on estrogen receptor-positive breast cancer mice model: possible role of autophagy in this therapeutic response. J Shahrekord Univ Med Sci. 2020 Winter; 22(4):181-6. [Full text in Persian]
15- Yang YK, Xu WX, Nian Y, Liu XL, Peng XR, Ding ZT, et al. Six new physalins from *Physalis alkekengi* var. franchetii and their cytotoxicity and antibacterial activity. Fitoterapia. 2016 Jul; 112:144-52.
16- Cuong LC, Dat TT, Nhiem NX, Cuc NT, Yen DT, Anh HL. The anti-microbial activities of secosteroids isolated from *Physalis angulata*. Vietnam J Chem. 2020 Jun; 58(3):321-6.
17- Espenti CS, Rama Krishna AG, Rami Reddy YV. Green biosynthesis of ZnO nanomaterials and their anti-bacterial activity by using *Moringa oleifera* root aqueous extract. SN Appl Sci. 2020 Aug; 2:1424.
18- El-Rab SM, Halawani EM, Hassan AM. Formulation of ceftriaxone conjugated gold nanoparticles and their medical applications against extended-spectrum β-lactamase producing bacteria and breast cancer. J Microbiol Biotechnol. 2018 Sep; 28(9):1563-72.
19- Barnes PM, Powell-Griner E, McFann K, Nahin RL. Complementary and alternative medicine use among adults: United States, 2002. Semin Integr Med. 2004 Jun. 2(2):54-71.
20- Islam S, Rahman A, Sheikh MI, Rahman M, Jamal AH, Alam F. In vitro antibacterial activity of methanol seed extract of *Elettaria cardamomum* (L.) maton. Agric Conspec Sci. 2010 Sep; 75(3):113-7.
21- Mollahosseini A, Gorgipour M, Namrudi J, Moghateli M. The study used antibiotic resistance in *E. coli* blood culture samples patients Shahid Sadoughi hospital in 2015. Navid No. 2015 Summer; 18(60):42-8. [Full text in Persian]
22- Galán JE. *Salmonella typhimurium* and inflammation: a pathogen-centric affair. Nat Rev Microbiol. 2021 Nov; 19(11):716-25.
23- Hanachi P, Azadedel S. Investigation of antibacterial properties in *Pistacia vera* L extract on *Staphylococcus aureus*. Navid No. 2022 Spring; 25(81):57-66. [Full text in Persian]
24- Álvarez-Martínez FJ, Barrajón-Catalán E, Encinar JA, Rodríguez-Díaz JC, Micol V. Antimicrobial capacity of plant polyphenols against gram-positive bacteria: a comprehensive review. Curr Med Chem. 2020 May; 27(15):2576-606.

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-01-09]
[DOR: 20.1001.1.22287280.1401.22.4.7.8]
[DOI: 10.52547/jarums.22.4.323]

25- Puupponen-Pimiä R, Nohynek L, Meier C, Kähkönen M, Heinonen M, Hopia A, et al. Antimicrobial properties of phenolic compounds from berries. J Appl Microbiol. 2001 Apr; 90(4):494-507.
26- Mokri F, Assmar M, Zarrabi S, Massiha A. The evaluation of antibacterial effect of aquatic and ethanolic extract of *Nerium oleander* against standard strains of *Salmonella Typhi* and *Listeria Monocytogenes* in vitro condition. New Cell Mol Biotechnol J. 2018 Summer; 8(31):75-85. [Full text in Persian]
27- Ahmed K, Tariq I, Siddiqui SU, Mudassir M. Green synthesis of cobalt nanoparticles by using methanol extract of plant leaf as reducing agent. Pure Appl Biol. 2021 Oct; 5(3):453-7.
28- Porto MS, Pinheiro MP, Batista VG, dos Santos RC, de Albuquerque Melo Filho P, de Lima LM. Plant promoters: an approach of structure and function. Mol Biotechnol. 2014 Jan; 56(1):38-49.
29- Espinel-Ingroff A, Fothergill A, Peter J, Rinaldi MG, Walsh TJ. Testing conditions for determination of minimum fungicidal concentrations of new and established antifungal agents for *Aspergillus spp*.: NCCLS collaborative study. J Clin Microbiol. 2002 Sep; 40(9):3204-8.
30- Khorshidpour B, Honarvar M, Ahmadi Chenarbon H. Assessment of several hydrodynamic properties of sugar beet (*Beta vulgaris* L.). Food Sci Nutr. 2020 Oct; 8(10):5641-9.
31- Ahmadi S, Soleimanian-Zad S, Zaeim D. Antibacterial and antifungal activity of the aqueous and methanolic extracts and essential oils of red beets *Beta vulgaris* leaves. Zahedan J Res Med Sci. 2020 Jul; 22(3): e83725.

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-01-09]
[DOR: 20.1001.1.22287280.1401.22.4.7.8]
[DOI: 10.52547/jarums.22.4.323]