



## Antimicrobial Activity of Aqueous Extracts of *Physalis alkekengi*, *Cassia angustifolia*, and *Carum copticum* against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*

Ramin Mohammadi-Aluochehi<sup>1\*</sup>, Mohammad-Taghi Ravanji<sup>1</sup>, Seyyedeh Masoumeh Mirnurollahi<sup>1</sup>, Masoumeh Mahdavi-Ourtakand<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Biology, CT.C., Islamic Azad University, Tehran, Iran

<sup>2</sup>Department of Biology, VaP.C., Islamic Azad University, Varamin, Iran

### Article Info

#### Article History:

Recived 2025.10.21

Revised 2025.11.14

Accepted 2025.11.14

#### KeyWords:

antimicrobial activity  
aqueous extract  
*Physalis alkekengi*  
*Cassia angustifolia*  
*Carum copticum*

#### \*Corresponding author:

E-mail address:

niloofar\_noorbakhsh@yahoo.com

### Abstract

**Introduction:** The emergence of antibiotic-resistant bacteria has prompted growing interest in plant-based antimicrobial agents as natural, safe, and affordable alternatives to conventional antibiotics. In the present study, the antimicrobial activity of aqueous extracts of *Physalis alkekengi*, *Cassia angustifolia*, and *Carum copticum* was evaluated against Gram-positive and Gram-negative bacterial strains, including *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*.

**Materials and Methods:** Aqueous extracts were prepared from the plants. Their antimicrobial effects were evaluated using the disk diffusion method and by determining the Minimum Inhibitory Concentration (MIC). Furthermore, the combined effect of the plant extracts at sub-inhibitory concentrations was also assessed.

**Results:** The results indicated that none of the tested extracts affected the growth of *Escherichia coli*. In contrast, the *Carum copticum* extract exhibited significant inhibitory effects against *Staphylococcus aureus* at concentrations of 25, 50, 100, and 200 µg/mL. The extracts of *Physalis alkekengi* and *Cassia angustifolia* only showed inhibitory effects on *S. aureus* at concentrations of 100 and 200 µg/mL. The MIC values of *C. copticum*, *P. alkekengi* and *C. angustifolia* extracts against *S. aureus* were 64, 64, and 128 µg/mL, respectively. Moreover, the combination of extracts displayed synergistic effects against *S. aureus* but not against *E. coli*.

**Conclusion:** Overall, these findings suggest that the aqueous extracts of these medicinal plants, particularly *Carum copticum*, possess promising antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* and may serve as potential natural candidates for the development of novel antibacterial formulations.

Cite this article: R. Mohammadi-Aluocheh, M.T. Ravanji, S. M. Mirnurollahi, M. Mahdavi-Ourtakand. Antimicrobial Activity of Aqueous Extracts of *Physalis alkekengi*, *Cassia angustifolia*, and *Carum copticum* against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. Iranian Journal of Biological Sciences. 2025; 20 (1): 75-83

 <https://doi.org/10.71631/zisti.2024.1221937>

Publisher: Islamic Azad University of Varamin – Pishva branch

Print ISSN: 1735-4226

Online ISSN: 1727-459X

This is an open access article under the: <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>



## بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره آبی عروسک پشت پرده (*Physalis alkekengi*)، سنا (*Cassia angustifolia*) و زنیان (*Carum copticum*) علیه باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیاکلی

رامین محمدی آلوچه<sup>۱\*</sup>، محمدتقی راونجی<sup>۱</sup>، سیده معصومه میرنوالهی<sup>۱</sup>، معصومه مهدوی اورتاکند<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> گروه زیست شناسی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

<sup>۲</sup> گروه زیست شناسی، واحد ورامین-پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران

### چکیده

### اطلاعات مقاله

**مقدمه:** امروزه با افزایش مقاومت باکتری‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها، استفاده از عصاره‌های گیاهی به دلیل برخورداری از ترکیبات ضدباکتریایی قوی، هزینه پایین و دسترسی آسان، توجه بسیاری از پژوهشگران را به خود جلب کرده است. در مطالعه حاضر، ویژگی‌های ضد میکروبی عصاره آبی گیاهان عروسک پشت پرده، سنا و زنیان روی دو باکتری استافیلوکوکوس اورئوس (گرم مثبت) و اشریشیاکلی (گرم منفی) مورد بررسی قرار گرفت

**مواد و روش:** عصاره‌های آبی از گیاهان تهیه شدند و اثرات ضد میکروبی آن‌ها با استفاده از دو روش دیسک دیفیوژن و تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) ارزیابی گردید. همچنین، اثر ترکیبی عصاره‌های گیاهی در غلظت‌های تحت مهاری نیز بررسی شد

**یافته‌ها:** بر اساس نتایج حاصله، هیچ‌یک از عصاره‌های مورد مطالعه تأثیری بر رشد باکتری اشریشیاکلی نداشتند. در مقابل، عصاره گیاه زنیان در غلظت‌های ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ µg/mL اثر مهاری قابل توجهی بر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس نشان داد. عصاره‌های گیاهان عروسک پشت پرده و سنا نیز تنها در غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ µg/mL بر *S. aureus* اثر مهاری داشتند. مقادیر حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) عصاره‌های زنیان، عروسک پشت پرده و سنا بر علیه *S. aureus* به ترتیب ۶۴، ۶۴ و ۱۲۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر تعیین گردید. بررسی اثر ترکیبی عصاره‌ها در غلظت تحت مهاری نیز نشان داد که این ترکیب در برابر *E. coli* بی‌تأثیر، اما بر علیه *S. aureus* دارای اثر مهاری قابل توجهی است

**نتیجه‌گیری:** نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که عصاره آبی هر سه گیاه، به‌ویژه زنیان، فعالیت ضدباکتریایی مناسبی علیه *S. aureus* دارند و می‌توانند به‌عنوان گزینه‌های طبیعی مؤثر در درمان عفونت‌های ناشی از این باکتری مورد استفاده قرار گیرند

### تاریخچه مقاله

ارسال ۱۴۰۴/۰۷/۲۹

بازنگری ۱۴۰۴/۰۸/۲۳

پذیرش ۱۴۰۴/۰۸/۲۳

### کلمات کلیدی

اثر ضد میکروبی

عصاره آبی

عروسک پشت پرده

سنا

زنیان

*S. aureus*

### \* مسئول مکاتبات:

ramin.p1363@gmail.com

شیوه آدرس‌دهی این مقاله: ر محمدی آلوچه، م راونجی، م میرنوالهی، م مهدوی اورتاکند. بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره آبی عروسک پشت پرده (*Physalis alkekengi*).

سنا (*Cassia angustifolia*) و زنیان (*Carum copticum*) علیه باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیاکلی. مجله دانش زیستی ایران. ۲۰:۱۴۰۴ (۱): ۷۵-۸۳

doi: https://doi.org/10.71631/zisti.2024.1221937

ناشر: دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین - پیشوا

شاپا چاپی: ۴۲۲۶-۱۷۳۵

شاپا الکترونیکی: ۴۵۹ X - ۲۷۱۷

نویسندگان: حق مؤلف ©

## مقدمه

در دهه‌های اخیر، گسترش مقاومت باکتری‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها به یکی از معضلات جدی نظام‌های درمانی در سراسر جهان تبدیل شده است (۱). مصرف بی‌رویه و گاه ناصحیح آنتی‌بیوتیک‌ها، سبب ظهور و تکثیر سویه‌های مقاوم شده است که درمان بسیاری از عفونت‌های رایج را با چالش جدی مواجه می‌سازد. علاوه بر این، باقی‌مانده داروهای شیمیایی در محیط زیست می‌تواند منجر به آلودگی‌های پایدار و اختلال در اکوسیستم‌های طبیعی شود. از این رو، توجه پژوهشگران به استفاده از منابع طبیعی، به‌ویژه عصاره‌های گیاهی، به‌عنوان جایگزین‌های ایمن، مؤثر و سازگار با محیط زیست افزایش یافته است. گیاهان دارویی با دارا بودن ترکیبات فعال زیستی نظیر آلکالوئیدها، فلاونوئیدها، تانن‌ها و ترپنوئیدها، از توان بالقوه بالایی در مهار رشد میکروارگانیسم‌ها برخوردارند و در مقایسه با ترکیبات سنتتیک، معمولاً ایمن‌تر بوده و عوارض جانبی کمتری دارند. بنابراین، بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره‌های گیاهی می‌تواند گامی مؤثر در توسعه درمان‌های جایگزین و پایدار در برابر مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی باشد (۲).

عروسک پشت پرده (*Physalis alkekengi*) از خانواده Solanaceae گیاهی علفی و چندساله است که در طب سنتی به‌عنوان عامل درمانی در بیماری‌های کبدی، التهابات مجاری ادراری، و عفونت‌های پوستی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۳). مطالعات فیتوشیمیایی نشان داده‌اند که میوه این گیاه سرشار از ترکیبات فعالی مانند فیزالین‌ها (*physalins*)، کاروتنوئیدها، فلاونوئیدها و آلکالوئیدهای استروئیدی است. این ترکیبات با اثرات ضدباکتریایی، ضدویروسی، آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی خود، نقش مهمی در مهار رشد پاتوژن‌های مختلف از جمله *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus* دارند. همچنین، وجود متابولیت‌های ثانویه‌ای چون کلروژنتیک اسید و کوئرستین در عصاره عروسک پشت پرده، موجب شده است که این گیاه به‌عنوان منبعی طبیعی برای تولید ترکیبات ضد میکروبی نوین مورد توجه قرار گیرد (۴). گیاه سنا (*Cassia angustifolia*) گیاهی از خانواده Fabaceae و بومی مناطق گرمسیری است که برگ‌ها و غلاف‌های آن به‌طور گسترده در داروسازی سنتی و مدرن مورد استفاده قرار می‌گیرد (۵). ترکیبات شاخص این

گیاه شامل سنوزیدها (*sennosides A, B*)، آنتراکینون‌ها، فلاونوئیدها و تانن‌ها هستند که علاوه بر خاصیت ملین، دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی قابل توجهی نیز می‌باشند. پژوهش‌های اخیر نشان داده‌اند که عصاره‌های آبی و اتانولی سنا می‌توانند رشد باکتری‌های گرم‌مثبت از جمله *S. aureus* و *Bacillus subtilis* را مهار کنند. مکانیسم احتمالی این اثر به تخریب دیواره سلولی باکتری و مهار آنزیم‌های ضروری در سنتز پروتئین مرتبط دانسته شده است. با توجه به وجود ترکیبات فنولی و گلیکوزیدی فعال، سنا می‌تواند به‌عنوان منبعی طبیعی برای توسعه داروهای ضد میکروبی جدید مورد بررسی قرار گیرد (۶).

گیاه زنیان (*Carum copticum*)، گیاهی معطر از خانواده Apiaceae، یکی از گیاهان دارویی شناخته‌شده در طب سنتی ایران و هند است. دانه‌های آن حاوی ترکیبات فعالی مانند تیمول (*thymol*)، کارواکرول (*carvacrol*)، آلفا-پینن و پاراسیمن هستند که خاصیت ضدباکتریایی و ضدقارچی قوی دارند (۷). مطالعات متعدد نشان داده‌اند که تیمول به‌عنوان ترکیب غالب در اسانس زنیان، قادر است نفوذپذیری غشای سلولی باکتری را افزایش داده و منجر به نشت محتویات سلولی و مرگ باکتری شود. عصاره‌های مختلف این گیاه اثر بازدارندگی قابل توجهی بر باکتری‌های گرم‌مثبت (*S. aureus*) و گرم‌منفی (*E. coli*) نشان داده‌اند. به همین دلیل، این گیاه یکی از گزینه‌های امیدبخش برای جایگزینی یا تقویت اثر آنتی‌بیوتیک‌های موجود در درمان عفونت‌های باکتریایی مقاوم محسوب می‌شود (۸). با وجود گزارشات پراکنده در مورد خواص ضد میکروبی هر یک از این گیاهان، مطالعه تطبیقی اثر عصاره آبی سه گیاه عصاره آبی عروسک پشت پرده (*Physalis alkekengi*)، سنا (*Cassia angustifolia*) و زنیان (*Carum copticum*) بر روی باکتری‌های گرم‌مثبت و منفی به صورت همزمان، به ندرت انجام شده است. علاوه بر این، اطلاعات محدودی در مورد اثر سینرژیک (هم‌افزایی) این عصاره‌ها در غلظت‌های تحت مهاری وجود دارد. بنابراین، این پژوهش با هدف بررسی و مقایسه اثرات ضد میکروبی عصاره آبی عروسک پشت‌پرده، سنا و زنیان به صورت منفرد و ترکیبی علیه باکتری‌های *Staphylococcus aureus* و *Escherichia coli* طراحی شد.

## مواد و روش ها

## استخراج عصاره های گیاهی

در این پژوهش، گیاهان عروسک پشت پرده، سنا و زنیان از مرکز تحقیقات گیاهپزشکی کشور تهیه گردیدند. پس از شناسایی توسط متخصص گیاهشناسی، مواد زائد از گیاهان جداسازی شد و برگ گیاه سنا و میوه گیاه زنیان و عروسک پشت پرده در جریان هوا خشک شد. بخش های گیاهی خشک شده با استفاده از آسیاب برقی با الک دارای منافذ به قطر دو میلی متر به طور کامل و یکنواخت خرد و در داخل ظروف شیشه ای نگهداری شد برای استخراج عصاره گیاهان، از دستگاه سوکسله (JP SELECTA) بهره گرفته شد. در این روش، ابتدا ۴۰ گرم از هر گیاه خرد شده به صورت مجزا تهیه شده و سپس درون کارتوش (یک کاغذ صافی به شکل یک لوله ته بسته آماده) قرار گرفته و به آرامی در داخل محفظه سوکسله قرار داده شد. در مرحله بعد، ۳۰۰ میلی لیتر آب مقطر به فلاسک ته گرد افزوده شده و سپس سوکسله و مبرد روی فلاسک نصب شد. پس از گذشت ۳ ساعت از آغاز عمل عصاره گیری، عمل استخراج به پایان رسید. در این زمان حرارت قطع شده و به سیستم اجازه داده شد تا کمی خنک شود تا همه بخارات در مبرد سرد شده و به فاز مایع وارد شوند. در مرحله بعد، ۲۰۰ میلی لیتر محلول داخل بالن باقی ماند که پس از خارج نمودن عصاره از داخل فلاسک، از دستگاه روتاری برای جداسازی مواد زائد از عصاره و تغلیظ آن بهره گرفته شد. در انتها، یک گرم از رسوب خشک حاصل به ۵ سی سی حلال دی متیل سولفوکساید (DMSO) افزوده شد و سپس توسط سرنگ میلی پور با فیلترهایی به قطر ۰/۲۲ میکرومتر فیلتر شد. در نهایت، عصاره ها در دمای ۴ درجه سانتیگراد و در شیشه های تیره رنگ نگهداری شد.

## تهیه سویه های استاندارد باکتری های گرم مثبت و گرم منفی

نمونه های باکتریایی مورد مطالعه در این تحقیق شامل (ATCC 25922) *Escherichia coli* و (ATCC 25923) *aureus* بود که به صورت لیوفیلیزه از کلکسیون میکروبی ایران در انستیتو پاستور خریداری شد. برای حفظ و نگهداری سویه ها تا زمان استفاده، آن ها در شرایط ایزوله و در محیط آگار، در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شدند.

## بررسی اثر ضد میکروبی عصاره های گیاهی به روش دیسک دیفیوژن

جهت بررسی فعالیت ضد باکتریایی عصاره ها، از روش تعیین حساسیت باکتری با استفاده از دیسک های بلانک استفاده گردید. به این منظور حجم های یکسانی از سوسپانسیون باکتریایی تهیه شده تا در طول موج ۵۳۰ نانومتر سطح جذبی معادل ۰/۵ مک فارلند را شکل دهد. باکتری های *Staphylococcus aureus* و *Escherichia coli* ابتدا کشت چمنی داده شدند و پس از آن، پاساژ برای اطمینان از خلوص باکتری انجام شد. یک میلی لیتر از سوسپانسیون باکتری های خالص شده به صورت چمنی در سطح پلیت حاوی محیط مولر هینتون آگار کشت و سپس دیسک های بلانک بر روی سطح پلیت آلوده به باکتری قرار داده شد. عصاره های گیاهی در غلظت های ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر با استفاده از دی متیل سولفوکساید (DMSO) ۵ درصد تهیه شدند و مقدار ۲۰ میکرولیتر از عصاره ها روی دیسک ها ریخته شد. قطر هاله عدم رشد بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد اندازه گیری گردید. دیسک آنتی بیوتیکی سفوکسیتین به عنوان کنترل مثبت استفاده شد و هر آزمایش برای هر باکتری با سه تکرار انجام شد.

## بررسی اثر ضد میکروبی عصاره های گیاهی به روش حداقل غلظت بازدارندگی (MIC)

این بررسی به روش میکرو دیلوشن برآت انجام شد. در این روش از میکرو پلیت ۹۶ خانه ای استفاده گردید. محلول استوک عصاره در DMSO تهیه شد. سریال های از رقت ها با دو برابر شدن غلظت در محیط مولر هینتون برآت تهیه شد (برای هر عصاره ده رقت سریال بین ۲ تا ۱۰۲۴ میکروگرم بر میلی لیتر). سپس، دو میلی لیتر از هر یک از رقت ها به صورت جداگانه به ۱۸ میلی لیتر محیط مولر هینتون آگار استریل سرد شده تا ۵۰ درجه سانتیگراد اضافه شد و در پلیت هایی با قطر ۸ سانتیمتر ریخته شد. سوسپانسیون میکروبی که با نیم مک فارلند برابر شده بود به وسیله محیط کشت مولر هینتون برآت به میزان ۱/۱۰۰، جهت به دست آوردن تعداد CFU/ml  $\times 10^1$  رقیق شد و سپس ۱۰۰ میکرولیتر از آن به هر چاهک افزوده شد، در این آزمون به منظور کنترل

کدورت ناشی از رشد باکتری بود به عنوان حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) تعیین شد. تمام مراحل برای هریک از عصاره ها با ۳ بار تکرار روی دو سویه مورد مطالعه انجام شد.

### بررسی اثر ترکیبی عصاره های گیاهی

برای تعیین اثر هم افزایی و ترکیبی بین عصاره ها از روش انتشار استفاده شد. برای این منظور از غلظت تحت مهاری (Sub-MIC) عصاره ها استفاده شد. غلظت تحت مهاری عصاره با رقت ۱/MIC ۲ عصاره تهیه شد. سوسپانسیون باکتریایی با غلظت معادل نیم مک فارلند روی محیط مولر هینتون آگار کشت و دیسک های بلانک روی آن قرار گرفتند. مقدار ۲۰ میکرولیتر از غلظت های تحت مهاری عصاره ها روی دیسک ها ریخته شد و قطر هاله عدم رشد بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد اندازه گیری گردید.

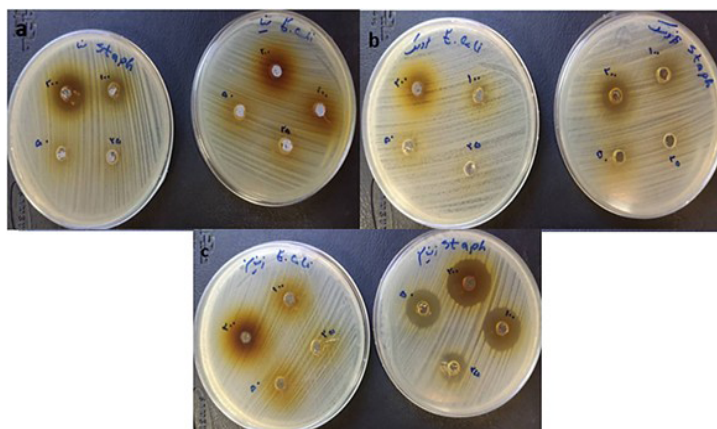
محیط کشت، از محیط کشت خالی (بدون عصاره و سوسپانسیون میکروبی) استفاده گردید. به منظور کنترل زمینه از عصاره و محیط کشت (بدون سوسپانسیون میکروبی) استفاده شد. یک چاهک هم به منزله کنترل (محیط کشت و سوسپانسیون میکروبی به همراه DMSO ۵ درصد) در نظر گرفت شد. همچنین سوسپانسیون میکروبی و محیط کشت بدون عصاره به عنوان کنترل مثبت در نظر گرفته شد. حجم نهایی تمام چاهک ها ۲۰۰ میکرولیتر بود. میکروپلیت ها بر روی شیکر ۲۵۰ rpm به مدت ۱ دقیقه قرار داده شد تا مخلوط کاملاً یکنواخت گردد. سپس میکروپلیت ها در دمای ۳۵ درجه سانتی گراد به مدت ۲۰-۲۴ ساعت، انکوبه شد. بعد از ۲۴ ساعت وجود کدورت (در مقایسه با ردیف کنترل) حاکی از رشد باکتری و شفافیت نشان دهنده عدم رشد باکتری می باشد. پایین ترین غلظتی که در آن هیچ گونه رشد باکتری مشاهده نشد و فاقد

### یافته ها

#### نتایج بررسی اثر ضد میکروبی عصاره های گیاهی به روش دیسک دیفیوژن

نتایج بررسی اثر ضد میکروبی عصاره های گیاهی به روش دیسک دیفیوژن نشان داد که ۲۴ ساعت بعد از تیمار، عصاره گیاهان سنا، زنیان و عروسک پشت پرده هیچ تاثیری بر رشد باکتری اشیشیاکلی نداشتند (شکل ۱). یافته ها نشان داد که عصاره زنیان در هر ۴ غلظت اثر بازدارندگی رشد بر سویه باکتری گرم مثبت داشت

و به ترتیب قطر هاله عدم رشد ۱۵، ۲۰، ۲۵ و ۳۳ میلی متری نشان داد. عصاره آبی گیاه عروسک پشت پرده در غلظت های ۱۰۰ و ۲۰۰  $\mu\text{g/mL}$  باعث ایجاد قطر هاله عدم رشد ۱۰ و ۱۵ میلی متری در باکتری استافیلوکوکوس اورئوس شد. همچنین گیاه سنا در دو غلظت ۱۰۰ و ۲۰۰  $\mu\text{g/mL}$  قطر هاله عدم رشدی به ترتیب ۱۵ و ۲۰ میلی متری بر علیه باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس نشان داد (جدول ۱).



شکل ۱. تصویر بررسی اثر ضد میکروبی عصاره گیاه سنا (a) و عروسک پشت پرده (b) و زنیان (c) به روش دیسک دیفیوژن در غلظت های مختلف ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم بر میلی متر

جدول ۱. قطر هاله عدم رشد (میلی متر) دو سویه اشیشیالکی و استافیلوکوکوس اورئوس در غلظت های مختلف مورد بررسی

| <i>Staphylococcus aureus</i> | <i>Escherichia coli</i> | غلظت عصاره (µg/ml) |
|------------------------------|-------------------------|--------------------|
| -                            | -                       | 25                 |
| -                            | -                       | 50                 |
| 15                           | -                       | 100                |
| 20                           | -                       | 200                |
| -                            | -                       | 25                 |
| -                            | -                       | 50                 |
| 10                           | -                       | 100                |
| 15                           | -                       | 200                |
| 15                           | -                       | 25                 |
| 20                           | -                       | 50                 |
| 25                           | -                       | 100                |
| 33                           | -                       | 200                |

عصاره سنا

عصاره عروسک پشت پرده

عصاره زنیان

در جدول ۲ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که عصاره گیاه سنا، عروسک پشت پرده و زنیان ۲۴ ساعت بعد از تیمار، هیچ تاثیری بر این باکتری اشیشیالکی نداشت. در حالیکه این عصاره های گیاه سنا، عروسک پشت پرده و زنیان روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس موثر بود و حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) آنها به ترتیب ۱۲۸، ۶۴ و ۶۴ میکروگرم بر میلی لیتر بدست آمد.

### نتایج بررسی اثر ضد میکروبی عصاره های گیاهی به روش حداقل غلظت بازدارندگی (MIC)

حداقل غلظت بازدارنده عصاره های گیاهی برای باکتری های مورد مطالعه به روش میکرو دیلوشن برآش به دست آمد. در چاهک های کنترل محیط کشت، کنترل زمینه، کنترل DMSO هیچ کدورتی مشاهده نشد. چاهک کنترل مثبت کدر بود که حاکی از رشد باکتری ها می باشد. نتایج MIC عصاره های گیاهی برای دو سویه استاندارد

جدول ۲. نتایج MIC عصاره های گیاهی علیه دو سویه باکتری مورد بررسی

| <i>Staphylococcus aureus</i> | <i>Escherichia coli</i> | MIC (µg/ml)          |
|------------------------------|-------------------------|----------------------|
| 128                          | -                       | عصاره سنا            |
| 64                           | -                       | عصاره عروسک پشت پرده |
| 64                           | -                       | عصاره زنیان          |

و روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس اثر مهاری داشت و قطر هاله عدم رشد آن ۱۸ میلی متر بدست آمد

### نتایج بررسی اثر ضد میکروبی عصاره های گیاهی در ترکیب با یکدیگر

همچنین نتایج بررسی اثر ترکیبی عصاره های گیاهی نشان داد که ترکیب غلظت های مختلف عصاره گیاهی در غلظت تحت مهاری آنها، روی اشیشیالکی بی تاثیر



## بحث

افزایش بی‌سابقه مقاومت باکتریایی و انتقال سریع ژن‌های مقاومت میان سویه‌های باکتریایی، تهدیدی جدی برای اثربخشی آنتی‌بیوتیک‌های متداول محسوب می‌شود. این وضعیت ضرورت جستجو برای منابع جایگزین درمانی را بیش از پیش آشکار می‌سازد. در این راستا، گیاهان دارویی با دارا بودن ترکیبات فعال ثانویه نظیر آلکالوئیدها، فلاونوئیدها، تربنوتئیدها و ترکیبات فنولیک، به‌عنوان منابع طبیعی ارزشمند ضد میکروبی شناخته می‌شوند. مطالعات اخیر نشان داده‌اند که این ترکیبات می‌توانند رشد و تکثیر باکتری‌های پاتوژن را از طریق تخریب دیواره سلولی، مهار سنتز پروتئین یا غیرفعال‌سازی آنزیم‌های حیاتی متوقف کنند و به این ترتیب جایگزین یا کاندیدی امیدبخشی برای آنتی‌بیوتیک‌های شیمیایی باشند (۱۰). شواهد اخیر همچنین اثرات ضد میکروبی انواع گیاهان دارویی را علیه باکتری‌های پاتوژن انسانی از جمله *S. aureus* و *E. coli* تأیید کرده و نقش بالقوه آنها در مقابله با مقاومت آنتی‌بیوتیکی را برجسته می‌سازد. این یافته‌ها نشان می‌دهند که بهره‌گیری از ترکیبات طبیعی می‌تواند راهکاری مؤثر برای کاهش وابستگی به آنتی‌بیوتیک‌های شیمیایی و مدیریت بهتر عفونت‌های مقاوم باشد (۱۱). بر همین اساس مطالعه حاضر به بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره آبی گیاه سنا، عروسک پشت پرده و زنیان بر علیه باکتری‌های اشریشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس پرداخت. نتایج نشان داد عصاره‌های آبی گیاهان مورد مطالعه فقط علیه باکتری استافیلوکوکوس اورئوس اثر بازدارندگی رشد داشته و علیه باکتری اشریشیاکلی تاثیری نداشت. دلیل اصلی این موضوع را می‌توان در قدرت کمتر عصاره‌های آبی نسبت به عصاره‌های اتانولی و متانولی دانست؛ زیرا در عصاره‌های آبی معمولاً میزان ترکیبات مؤثره و مواد فعال زیستی کمتر است. از این‌رو، اثر مهارکنندگی آنها در مقایسه با عصاره‌های آلی کاهش می‌یابد (۱۲). در تبیین نتایج مربوط به اثر عصاره آبی بر باکتری *S. aureus* می‌توان اشاره کرد که باکتری‌های گرم‌منفی مانند *E. coli* به علت برخورداری از لایه لیپوپلی‌ساکاریدی خارجی در دیواره سلولی خود، در برابر نفوذ ترکیبات شیمیایی و زیستی مقاوم‌تر هستند. در مقابل، باکتری‌های گرم‌مثبت مانند *S. aureus* فاقد این لایه محافظ بوده و در نتیجه نفوذپذیری بیشتری نسبت به عوامل ضد میکروبی دارند.

این تفاوت ساختاری سبب می‌شود که *S. aureus* در مقایسه با *E. coli* حساسیت بالاتری به ترکیبات گیاهی نشان دهد. نتایج مشابه در پژوهش‌های دیگر نیز این تفاوت را تأیید کرده‌اند؛ به‌طوری‌که وجود دو لایه لیپیدی در باکتری‌های گرم‌منفی نوعی سد حفاظتی مؤثر در برابر ترکیبات ضد میکروبی ایجاد می‌کند، در حالی که دیواره سلولی باکتری‌های گرم‌مثبت تنها از یک لایه پپتیدوگلیکانی تشکیل شده است (۱۳). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که قطر هاله عدم رشد در غلظت‌های ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ µg/mL به ترتیب برابر با ۲۰، ۲۵ و ۳۳ میلی‌متر بود. عصاره‌های گیاهان عروسک پشت پرده و سنا نیز تنها در غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ µg/mL بر رشد *S. aureus* مؤثر بودند. بر این اساس اثر ضد میکروبی عصاره گیاهان مورد مطالعه علیه باکتری استافیلوکوکوس اورئوس با افزایش غلظت آنها، افزایش می‌یابد و نیز غلظت و نوع عصاره بر میزان اثر ضد میکروبی ترکیبات مورد بررسی نقش مهمی دارد. این موضوع را می‌توان ناشی از آن دانست که در غلظت‌های بالاتر، میزان ترکیبات فعال زیستی بیشتر بوده و این ترکیبات با آزادسازی الکترون‌ها و در نتیجه مهار واکنش‌های زنجیره‌ای رادیکال‌های آزاد، موجب توقف رشد میکروارگانیسم‌ها می‌شوند. افزون بر این، ترکیبات لیپوفیل موجود در عصاره‌های گیاهی در غلظت‌های بالا قادرند از غشای سیتوپلاسمی عبور کرده و با تخریب ساختار لایه‌های پلی‌ساکاریدی، فسفولیپیدی و اسیدهای چرب، موجب افزایش نفوذپذیری غشا شوند (۱۴). مقادیر حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) عصاره‌های زنیان، عروسک پشت پرده و سنا بر علیه *S. aureus* به ترتیب ۶۴، ۶۴ و ۱۲۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر تعیین گردید. در حالیکه عصاره گیاهان مورد مطالعه ۲۴ ساعت بعد از تیمار، هیچ تاثیری بر این باکتری اشریشیاکلی نداشت. Arian و Habib Hosseini فعالیت آنتی‌باکتریایی عصاره‌های الکلی و آبی عروسک پشت را روی تعدادی پاتوژن در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار دادند و نتایج آنها نشان داد این گیاه دارای ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی قابل توجهی است و اثر بازدارندگی بر رشد عصاره آبی این گیاه علیه باکتری‌های اشریشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس ۳۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر بدست آمد (۱۵ و ۱۶).

مطالعات متعدد نشان داده‌اند که عصاره آبی زنیان دارای فعالیت ضد میکروبی قابل توجهی است. برای مثال، در مطالعه‌ای، حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) عصاره آبی زنیان علیه *S. aureus* و *E. coli* به ترتیب  $7/8$  و  $10/6$  میکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش شده است. این نتایج اثرات ضد میکروبی قابل توجه عصاره آبی زنیان را نشان می‌دهد (۸). در مطالعه‌ای، حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره آبی سنا علیه *S. aureus* و *E. coli* به ترتیب  $64$  و  $128$  میکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش شده است که اثر ضد میکروبی عصاره آبی سنا در برابر باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی را بیان می‌کند (۱۷). این نتایج با یافته‌های مطالعه تا حدودی مطابقت دارد و علت تفاوت اندک در مقادیر MIC نیز می‌تواند به عوامل مختلفی مانند شرایط آزمایش، متدهای آزمون و شرایط کشت اشاره نمود. بررسی اثر ترکیبی عصاره‌ها در غلظت تحت مهاری نیز نشان داد که این ترکیب در برابر *E. coli* بی‌تأثیر، اما بر علیه *S. aureus* دارای اثر مهاری قابل توجهی است. اثر ضد میکروبی عصاره‌های آبی گیاهان، سنا و عروسک پشت پرده عمدتاً ناشی از ترکیبات فعال زیستی خاص هر گیاه است. در زنیان، ترکیبات فنولی شاخص مانند تیمول و کارواکرول مسئول

مهار رشد باکتری‌ها هستند؛ این ترکیبات با افزایش نفوذپذیری غشای سلولی، ایجاد نشت یون‌ها و ATP و اختلال در متابولیسم انرژی میکروب‌ها موجب مرگ سلولی می‌شوند. در سنا، حضور سنوزیدها، فلاونوئیدها و تانن‌ها باعث اثرات ضد میکروبی می‌شود، به طوری که این ترکیبات می‌توانند با تعامل با پروتئین‌ها و لیپیدهای غشای سلولی، نفوذپذیری سلول را افزایش داده و رشد باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی را مهار کنند. در عروسک پشت پرده، ترکیباتی مانند فیزالین‌ها و فلاونوئیدهای کلسالی مسئول بخشی از فعالیت ضد میکروبی هستند و با تداخل در دیواره و غشای سلولی و مهار واکنش‌های زنجیره‌ای رادیکال‌های آزاد باعث کاهش رشد باکتری‌ها می‌شوند. شدت اثرات ضد میکروبی در این سه گیاه متفاوت است؛ زنیان به دلیل غلظت بالای ترکیبات فنولی و ساختار لیپوفیل قوی، بیشترین اثر را نشان می‌دهد، در حالی که عصاره آبی عروسک پشت پرده به دلیل غلظت کمتر ترکیبات فعال و نفوذپذیری محدود، اثر ضعیف‌تری دارد، و سنا در حد متوسط قرار می‌گیرد. این یافته‌ها نشان می‌دهد که نوع ترکیبات فعال و توانایی آنها در نفوذ به غشای سلولی باکتری‌ها عامل اصلی تفاوت در اثرات ضد میکروبی این عصاره‌ها است (۱۷ و ۱۸).

### نتیجه گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که عصاره آبی گیاهان سنا، عروسک پشت پرده و زنیان دارای اثرات مهاری قابل توجهی بر رشد باکتری گرم مثبت *Staphylococcus aureus* است و می‌توان از آن‌ها به صورت منفرد و ترکیبی به عنوان عوامل ضد میکروبی طبیعی، علیه عفونت‌های ناشی از این باکتری استفاده نمود. از دلایل عدم تأثیر عصاره‌های گیاهی مورد مطالعه علیه باکتری اشریشیاکلی می‌توان به نوع عصاره انتخاب شده در این مطالعه اشاره نمود که از نوع عصاره آبی بود. عصاره‌های آبی نسبت به عصاره‌های آلی (الکلی) دارای ترکیبات مؤثره کمتری هستند. شناسایی و تخلیص ترکیبات فعال مسئول اثر

ضد باکتریایی این گیاهان و انجام مطالعات *In vivo* (روی مدل‌های حیوانی) برای تأیید نتایج بدست آمده، گام بعدی تحقیق است. بررسی اثر ضد باکتریایی عصاره‌های اتانولی و متانولی این گیاهان و نیز ترکیب این عصاره‌ها با آنتی‌بیوتیک‌های رایج برای یافتن اثر سینرژیستیک پیشنهاد می‌گردد. بهره‌گیری از این ترکیبات گیاهی می‌تواند به توسعه فرآورده‌های نوین با کاربردهای دارویی، بهداشتی و زیست محیطی منجر شود و نقش مهمی در کاهش مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها و کنترل روند فزاینده مقاومت میکروبی ایفا نماید.



## References

1. Yong AL, Ooh KF, Ong HC, Chai TT, Wong FC. Investigation of antibacterial mechanism and identification of bacterial protein targets mediated by antibacterial medicinal plant extracts. Food Chem. 2015;186:32-6. doi:10.1016/j.foodchem.2014.08.103.
2. Álvarez-Martínez FJ, Barraón-Catalán E, Herranz-López M, Micol V. Antibacterial plant compounds, extracts and essential oils: An updated review on their effects and putative mechanisms of action. Phytomedicine. 2021;90:153626. doi:10.1016/j.phymed.2021.153626.
3. Pezeshki A, Nourafcan H, Oraei M, Mohebalipour N, Assadi A. The Effect of Foliar Application of Urea and Salicylic Acid on the Antibacterial Properties of *Physalis alkekengi* L. In vitro condition. Herb Med J. 2021;6(3):102-12.
4. Ghasemi M, Govahi M, Ranjbar M. Evaluation of antibacterial activity of aqueous and hydroalcoholic extracts of *Physalis alkekengi* fruit against four standard strains in vitro. J Ardabil Univ Med Sci. 2023;22(4):323-32.
5. Roy J, Choudhuri BN, Guchhait P, Das S. Antibacterial Activities of *Cassia angustifolia* Leaf Ethanolic Extract against Various Multiple Drug Resistant Microorganisms. Sch Acad J Pharm. 2023;7:187-90.
6. Thaker K, Patoliya J, Rabadiya K, Reddy NR, Joshi R. Senna (*Cassia angustifolia* Vahl.): A comprehensive review of ethnopharmacology and phytochemistry. Pharmacol Res-Nat Prod. 2023;1:100003. doi:10.1016/j.prenap.2023.100003.
7. Azizkhani M, Karbakhsh Ravari R. Antimicrobial potential of probiotic cell-free and *Carum copticum* L. seed extracts co-nanoencapsulated in cellulose acetate fibers. Food Sci Nutr. 2022;10(9):2969-79. doi:10.1002/fsn3.2893.
8. Dabowl AE, Mohsenzadeh M. Physicochemical, antioxidant, antibacterial and antibiofilm activity of *Carum copticum* essential oil nanoemulsion on *Escherichia coli* O157: H7 and *Listeria monocytogenes*. Vet Res Forum. 2021;12(4):437-44. doi:10.30466/vrf.2020.121078.2867.
9. Wang L, Li T, Wu C, Fan G, Zhou D, Li X. Unlocking the potential of plant polyphenols: advances in extraction, antibacterial mechanisms, and future applications. Food Sci Biotechnol. 2025;34(6):1235-59. doi:10.1007/s10068-024-01727-3.
10. Banu CA, Manogem EM, Cheruparambath P. Antibacterial Screening of Medicinal Plant Extracts against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. Uttar Pradesh J Zool. 2024;45(10):125-34. doi:10.56557/upjoz/2024/v45i103856.
11. Ebadi P, Azizkhani M. Evaluation of antimicrobial and antioxidant activity of *Carum copticum* L. essential oil encapsulated in electrospun cellulose acetate nanofibers. J Essent Oil Res. 2023;35(6):579-88. doi:10.1080/10412905.2023.2257601.
12. Mahdavi Ourtakand M, Khodayi M, Honarmand Jahromy S. Antibacterial effect of *Zataria multiflora* Essential oil against biofilms of *Staphylococcus aureus* Clinical Isolates. Iran J Biol Sci. 2018;13(1):1-8.
13. Mirnurollahi SM, Mohammadi Alocheh R, Alizadeh-Oori P. Comparison of antimicrobial activity of biosynthesized zinc oxide nanoparticles with *Allium jesdianum* extract and chemically synthesized. Iran J Biol Sci. 2025;18(4):11-29.
14. Çeker S, Ögütçü H, Açar G, Köseoğlu MŞ. Antimicrobial and Antimutagenic Properties of *Physalis alkekengi* L. East Anatol J Sci. 2024;10(1):7-13.
15. Arian S, Habib Hosseini SF. Phytochemical, Antioxidant and Antibacterial properties in Different Concentrations of *Physalis alkekengi* L. extract. Eco-Phytochem J Med Plants. 2022;10(3):97-109.
16. Habib Hosseini SF. Phytochemical, antioxidant and antibacterial properties in different concentrations of *Physalis alkekengi* L. extract. Eco-Phytochem J Med Plants. 2022;(3):97-109.
17. Ahmadi DM, Mojtavavi S, Ghadami S, Eftekhari M, Ardekani MR, Faramarzi MA, et al. *Cassia angustifolia* Vahl. Leaves: determination of total phenolic and sennoside contents of different fractions in comparison with their  $\alpha$ -glucosidase and tyrosinase inhibitory effects. Iran J Pharm Res. 2024;23(1):e140914. doi:10.5812/ijpr-140914.
18. Maheshwari M, Althubiani AS, Abulreesh HH, Qais FA, Khan MS, Ahmad I. Bioactive extracts of *Carum copticum* L. enhances efficacy of ciprofloxacin against MDR enteric bacteria. Saudi J Biol Sci. 2019;26(7):1848-55. doi:10.1016/j.sjbs.2019.10.001.