



Phytochemical, antioxidant and antibacterial properties in different concentrations of *Physalis alkekengi* L. extract

Simin Arian^{1*}, Seyedeh Fatemeh Habib Hosseini²

¹Assistant Professor, Department of Microbiology, Faculty of Biological Science, Tonekabon Branch, Islamic Azad University, Tonekabon, Iran, Email: Simin_Arian@yahoo.com

²M.Sc student, Department of Microbiology, Faculty of Biological Science, Tonekabon Branch, Islamic Azad University, Tonekabon, Iran

Serial 39, 10th year, Number 3, Autumn 2022 (97-109)

Abstract

Article type:
Research Full Paper

Article history
Received: 02-12-2021
Revised: 10-03-2022
Accepted: 14-03-2022

Keywords
Antioxidant
Antimicrobial
Extract
Phytochemical
Physalis alkekengi L.

With the increasing resistance of bacteria to antibiotics and their side effects, the use of medicinal plants in the treatment of bacterial infections is increasing. The aim of this study was to evaluate the phytochemical, antioxidant, and antibacterial properties of different concentrations of methanolic extract of *Physalis alkekengi*. For this purpose, the calyx and fruit of the *P. alkekengi* L. were collected from an area near the city of Tonekabon in the summer of 2019 from a height of 120 meters and the antimicrobial activity of the extracts on pathogenic bacteria was determined by disk diffusion methods, MIC, and MBC. Total phenol and flavonoid contents were measured by folin-ciocalteu reagent and aluminum chloride colorimetric method, respectively. In addition, total anthocyanin was measured by spectrophotometry as well as antioxidant activity of extract using DPPH method. Based on the results, the highest total phenol content at a concentration 50 mg⁻¹ ml of calyx extract was 32.92±1.738 mgEGA g⁻¹ DW. Also, the content of flavonoid and anthocyanin compounds in the calyx extract was more than that of the fruit extract. Based on the results of antioxidant activity also showed that the highest DPPH radical inhibitory effect were obtained at concentrations of 100 and 150 mg/ml of calyx extract 51.43% and 51.58%, respectively. In addition, calyx and fruit extracts showed significant inhibitory activity against the studied bacteria as the highest inhibitory effect on *Staphylococcus aureus* was obtained at a concentration of 1000 mg⁻¹ml of calyx and fruit extracts. The results of this study indicated that the calyx and fruit extracts of *P. alkekengi* are rich in antioxidant compounds, especially phenolic compounds, and the antimicrobial activity of the extracts showed a significant positive correlation with total phenol content. Therefore, the antimicrobial properties of the calyx and fruit extracts may be attributed to their phenolic compounds and these extracts can be recommended for medicinal applications.



بررسی و مقایسه فیتوشیمیایی، آنتی اکسیدانی و ضد باکتریایی غلظت‌های مختلف عصاره اندام‌های گیاه دارویی *Physalis alkekengi* L.

سیمین آرین*^۱، سیده فاطمه حبیب حسینی^۲

۱. استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، واحد تنکابن، دانشگاه آزاد اسلامی، تنکابن، ایران، رایانامه: simin_Arian@yahoo.com

۲. دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، واحد تنکابن، دانشگاه آزاد اسلامی، ایران

سال دهم، شماره ۳۹، پاییز ۱۴۰۱ / صفحات: ۹۷-۱۰۹

نوع مقاله:	چکیده
مقاله کامل علمی-پژوهشی	
تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۹/۱۱	
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۰/۱۲/۱۹	
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۲/۲۳	
واژه‌های کلیدی:	
آنتی اکسیدان	
آنتی باکتریال	
فیتوشیمی عصاره	
عروسک پشت پرده	
	با افزایش روز افزون مقاومت باکتری‌ها به انواع آنتی بیوتیک و عوارض جانبی آنها، استفاده از گیاهان دارویی در درمان عفونت‌های باکتریایی رو به افزایش است. هدف از این مطالعه بررسی فیتوشیمیایی، آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتریایی غلظت‌های مختلف عصاره متانولی گیاه عروسک پشت پرده (<i>Physalis alkekengi</i> L.) بود. بدین منظور، غلاف گل و میوه عروسک پشت پرده از منطقه‌ای در نزدیکی شهر تنکابن در تابستان سال ۱۳۹۹ از ارتفاع ۱۲۰ متری، جمع آوری شد و فعالیت ضد میکروبی عصاره‌ها بر روی باکتری‌های بیماری‌زا به روش‌های انتشار دیسک، MIC و MBC سنجیده شد. محتوای فنل و فلاونوئید کل به ترتیب توسط معرف فولین-سیوکالچو و روش رنگ‌سنجی آلومینیوم کلراید اندازه‌گیری شدند. همچنین آنتوسیانین کل براساس روش اسپکتروفتومتری و فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH اندازه‌گیری شد. بر اساس نتایج، بیشترین محتوای فنل کل در غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در عصاره غلاف گل 1.738 ± 0.32 میلی‌گرم معادل گالیک اسید بر گرم وزن خشک گیاه بدست آمد. همچنین، محتوای ترکیبات فلاونوئیدی و آنتوسیانینی نیز در عصاره غلاف گل بیشتر از عصاره میوه بدست آمد. نتایج فعالیت آنتی‌اکسیدانی نیز نشان داد که بیشترین اثر مهاري رادیکال DPPH در غلظت‌های ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره غلاف گل به ترتیب ۵۱/۴۳ و ۵۱/۵۸ درصد بدست آمد. علاوه بر این عصاره‌های غلاف گل و میوه فعالیت مهاري قابل ملاحظه‌ای بر علیه باکتری‌های مورد بررسی از خود نشان دادند به طوری که بیشترین اثر مهاري بر روی باکتری <i>استافیلوکوکوس اورئوس</i> در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره غلاف گل و میوه بدست آمد. طبق نتایج عصاره غلاف گل و میوه سرشار از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی خصوصاً ترکیبات فنلی است و فعالیت ضد میکروبی عصاره‌ها با محتوای فنل کل همبستگی مثبت معنی‌داری نشان داد. بنابراین می‌توان خاصیت ضد میکروبی عصاره‌های غلاف گل و میوه را به ترکیبات فنلی آنها نسبت داد و این عصاره‌ها را برای کاربردهای دارویی توصیه کرد.

استاد: سیمین آرین، سیده فاطمه حبیب حسینی. (۱۴۰۱). بررسی و مقایسه فیتوشیمیایی، آنتی اکسیدانی و ضد باکتریایی غلظت‌های مختلف

عصاره اندام‌های گیاه دارویی *Physalis alkekengi* L. فصلنامه اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی، ۱۰ (۳)، ۹۷-۱۰۹.

مقدمه

فنل‌ها، فلاونوئیدها، آنتوسیانین‌ها و کاروتنوئیدها به‌طور گسترده در طی دو دهه گذشته گزارش شده است (Farhadi et al., 2016; Zarei-Yazdi et al., 2015; Sharma et al., 2020). این ترکیبات علاوه بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی دارای فعالیت ضد میکروبی نیز هستند (Admczak et al., 2020). مکانیسم‌هایی که به واسطه آن ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی برای باکتری‌ها سمیت ایجاد می‌کنند شامل جذب سطحی و شکستن غشای سلول، واکنش با آنزیم‌ها و کاهش یون‌های فلزی مورد نیاز باکتری‌ها می‌باشد. بنابراین استفاده از ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی در مواد غذایی نه تنها منجر به محافظت از مواد غذایی می‌گردد و زمان ماندگاری آنها را افزایش می‌دهد و بیماری‌های مرتبط با منابع میکروبی را نیز به خوبی کنترل می‌نماید (Majhenic et al., 2007).

ایران منبع سرشاری از گونه‌های مختلف گیاهان دارویی است که در نقاط مختلف ایران به صورت خودرو رشد می‌کنند. از بین حدود ۳۰۰۰ گونه از گیاهان دارویی که در دنیا شناخته شده حدود ۱۴۰ گونه خاص ایران است (Koohsari et al., 2015). گیاه عروسک پشت پرده با نام علمی *Physalis L. alkekngi* متعلق به خانواده سیب زمینی، دارای ۸۰ گونه در دنیا و ۲ گونه در ایران است. گیاهی علفی، یک ساله یا چند ساله به ارتفاع ۳۰ تا ۶۰ سانتی‌متر به‌صورت خودرو در استان‌های مازندران، گیلان و گلستان می‌روید. از این گیاه برای درمان بیماری‌هایی نظیر سنگ کلیه، مجاری ادراری، نقرس و هپاتیت استفاده می‌شود (Amini, 2004; Hoshani et al., 2012). در این گیاه ترکیباتی مانند فلاونوئیدها، فلاون‌ها، آلکالوئیدها و ترکیبات کاروتنوئیدی مانند زه‌آزانتین و کریپتو زانتین شناسایی شده‌است (Hoshani et al., 2012). همچنین این گیاه شامل بعضی ترکیبات استروئیدی است که فیزالین نامیده

هر ساله به دلیل مقاومت‌های باکتریایی و ظهور سویه‌های جدید باکتری‌های مختلف، از میزان اثر بخشی آنتی‌بیوتیک‌ها کاسته شده است (Almoulah et al., 2013; Jouda et al., 2017). با توجه به مقاومت باکتری‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های موجود و عوارض ناشی از مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها کشف و توسعه مواد ضد میکروبی جدید علیه باکتری‌هایی با شیوع بالا نظیر *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشرشیا کلی* و *سودوموناس آئروژینوزا* که از عوامل شایع عفونت‌های باکتریایی هستند ضروری به نظر می‌رسد (Dosti et al., 2021; Ebrahimabadi et al., 2010). علاوه بر این برخی از این باکتری‌ها نظیر *اشرشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* باعث ایجاد مسمومیت غذایی نیز می‌شوند (Palmieri et al., 2010). بنابراین با افزایش روز افزون مقاومت باکتری‌ها به آنتی‌بیوتیک‌ها، تلاش در پی جایگزین کردن ترکیبات ضد میکروبی جدید در سراسر دنیا در حال انجام است (Gholami et al., 2016). در همین راستا برخی از گیاهان دارویی با اثرات ضد میکروبی که دارند، می‌توانند در جهت مقابله با برخی میکروب‌های بیماری‌زا خاص از آنها استفاده نمود تا جایگزینی بی‌ضرر برای بعضی آنتی‌بیوتیک‌ها باشند (Chandra et al., 2017). بنابراین، تحقیقات زیادی در زمینه یافتن عوامل ضد میکروبی به‌ویژه ترکیبات ضد میکروبی طبیعی در دهه‌های گذشته انجام شده است و استفاده از گیاهان و محصولات گیاهی نظیر اسانس‌ها و عصاره‌ها بسیار مورد مطالعه قرار گرفته‌اند (Bahmani et al., 2016; Mujeeb et al., 2014; Burt, 2004). مطالعات نشان داده‌اند که رادیکال‌های آزاد یکی از علل اصلی بسیاری از بیماری‌ها و نارسایی‌ها از جمله بیماری‌های قلبی و عروقی، کبدی و سرطان‌ها به شمار می‌روند (Jena et al., 2012). اثرات مثبت آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی مثل

تنکابن در تابستان سال ۱۳۹۹ از ارتفاع ۱۲۰ متری، جمع‌آوری و نمونه‌های غلاف گل و میوه آن در سایه و در مجاورت هوا خشک و سپس آسیاب گردیدند. مقدار ۵ گرم از هر نمونه در ۲۰۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد خیسانده و به مدت ۴۸ ساعت در دمای اتاق نگهداری گردید. پس از طی شدن زمان مورد نظر، عصاره‌ها صاف شدند. سپس حلال در دمای کمتر از ۴۰ درجه سانتی‌گراد توسط دستگاه روتاری تبخیر گردید. باقیمانده برای انجام آزمایشات در یخچال با ۴ درجه حرارت ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (Pourmorad et al., 2006).

اندازه‌گیری محتوای فنل، فلاونوئید و آنتوسیانین عصاره‌ها: برای اندازه‌گیری محتوای فنل کل به ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره گیاه، ۲ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۲٪، ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر و ۱۰۰ میکرولیتر معرف فولین سیوکالچو ۵۰٪ اضافه شد. بعد از گذشت نیم ساعت جذب آنها در طول موج ۷۲۰ نانومتر نسبت به شاهد ثبت گردید. اسید گالیک به عنوان استاندارد برای رسم منحنی استاندارد استفاده شد. محتوای فنل کل عصاره‌ها بر اساس میلی‌گرم معادل اسید گالیک بر گرم وزن خشک گیاه گزارش شد (Meda et al., 2005).

برای سنجش میزان فلاونوئید کل به ۵۰۰ میکرولیتر از هر عصاره ۱/۵ میلی‌لیتر متانول ۸۰٪، ۱۰۰ میکرولیتر محلول آلومینیوم کلرید ۱۰٪، ۱۰۰ میکرولیتر محلول استات پتاسیم ۱ مولار و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد. جذب مخلوط بعد از گذشت ۴۰ دقیقه در طول موج ۴۱۵ نانومتر نسبت به شاهد اندازه‌گیری گردید. برای رسم منحنی استاندارد از کوئرستین استفاده شد. میزان فلاونوئید کل عصاره‌ها بر اساس میلی‌گرم معادل کوئرستین بر گرم وزن خشک گیاه گزارش شد (Chang et al., 2002).

می‌شود. که تقریباً ۱۶ نوع فیزالین در این گیاه شناسایی است (Saki, 2014). نتایج مطالعات ارتورک و همکاران (Erturk et al., 2017) نشان داد که بذر و میوه عروسک پشت پرده دارای خاصیت ضد میکروبی بالایی بوده و بیشترین و کم‌ترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی به ترتیب مربوط به بذر و ریشه این گیاه می‌باشد. در مطالعه‌ای دیگر، دوستی و همکاران (Dosti et al., 2021) نیز گزارش کردند که اثرات ضد باکتریایی میوه بیشتر از برگ بود و به طور کلی عصاره برگ و میوه گیاه عروسک پشت خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی مناسبی داشته است (Dosti et al., 2021). اثرات ضد توموری فیزالین‌ها به ویژه فیزالین F در محیط آزمایشگاه و محیط زنده بر چندین رده سرطانی سلول‌های خونی و بافتی انسانی و همین طور بر سلول‌های سرطانی بافت حیوانی نیز گزارش شده است (Bahmani et al., 2016). بنابراین با توجه به اینکه گیاه عروسک پشت پرده در مناطق مختلفی از کشورمان به صورت خودرو می‌روید و تاکنون مطالعه مدونی در مورد اثرات ضد میکروبی بخش‌های مختلف این گیاه صورت نگرفته است و از سوی دیگر عوارض جانبی داروهای شیمیایی، هدف اصلی از انجام این تحقیق بررسی ارتباط بین محتوای آنتی‌اکسیدانی عصاره غلاف گل و میوه گیاه عروسک پشت پرده و اثر مهاری آن بر رشد تعدادی از باکتری‌های بیماری‌زا بود تا شاید بتوان بهره برداری اقتصادی از این گیاه صورت گیرد و در آینده امیدوار بود که از این گیاه به عنوان یک داروی مفید بدون داشتن عوارض جانبی بیماری‌هایی که در اثر عملکرد این پاتوژن‌ها ایجاد می‌شود، توصیه کرد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری گیاه و عصاره‌گیری به روش خیساندن: گیاه عروسک پشت پرده از منطقه ای در نزدیکی شهر

کلی (ATCC:1399) بودند که از مرکز کلکسیون فارچها و باکتری‌های صنعتی ایران خریداری شد. **آزمون ضد میکروبی به روش انتشار دیسک:** روش انتشار دیسکی به منظور ارزیابی فعالیت ضد میکروبی عصاره‌ها با استفاده از روش Chakraborty و همکاران با اندکی تغییر انجام شد. به منظور انجام آزمایش ابتدا میکروارگانسیم‌های مورد نظر در محیط کشت نوترینت برات فعال گردید. سپس از میکروارگانسیم‌های فعال شده سوسپانسیونی معادل با نیم مک فارلند تهیه شد (در هر یک سی سی معادل $10^8 \times 1/5$ سلول باکتری وجود دارد). پس از تهیه سوسپانسیون ۰/۱ میلی لیتر از آن بر روی محیط کشت مولر هیتون آگار به طور یکنواخت پخش گردید. سپس ۳۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف عصاره‌ها (۱۰۰۰، ۸۰۰، ۶۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر) بر روی دیسک‌های کاغذی اضافه شد و در ادامه دیسک‌ها بر روی محیط کشت قرار داده شد. در پایان پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور گرماگذاری شدند و سپس قطره‌اله عدم رشد بر حسب میلی متر اندازه‌گیری شد (Chakrabort et al., 2008).

تعیین حداقل غلظت مهار کنندگی (MIC): حداقل غلظت مهار کنندگی عصاره‌های متانولی گیاه با استفاده از روش رقت سازی در چاهک (میکرو برات دایلوشن) مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور از پلیت‌های استریل ۹۶ خانه‌ای استفاده شد. محلول استوک عصاره در دی متیل سولفوکساید تهیه گردید و غلظت‌های مختلف عصاره (۴۰۰ تا ۱۰۰۰ میلی گرم در میلی لیتر) با رقیق سازی محلول استوک با محیط کشت مولر هیتون برات تهیه شد. هر کدام از رقت‌های تهیه شده از عصاره به مقدار ۱۰۰ میکرولیتر درون چاهک ریخته و مقدار ۱۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون میکروبی (معادل با مقدار ۰/۵ مک

برای سنجش میزان آنتوسیانین کل مقدار ۰/۰۲ گرم از بافت خشک گیاهی با ۴ میلی لیتر محلول اسید کلریدریک ۱٪ متانول در یک‌هاون چینی ساییده شد. محلول حاصل به مدت ۲۴ ساعت در یخچال نگهداری شد. سپس، محلول به مدت ۱۰ دقیقه و در ۱۳۰۰۰ دور سانتریفوژ گردید. فاز رویی را برداشته و جذب محلول‌ها در طول موج ۵۳۰ و ۶۵۷ نانومتر نسبت به شاهد اندازه‌گیری شد. از محلول اسید کلریدریک ۱٪ متانول به عنوان شاهد استفاده گردید. میزان آنتوسیانین برای هر عصاره با استفاده از رابطه‌ی زیر محاسبه گردید (Mita et al., 1997).

$$A = A_{530} - (0.25 \times A_{657})$$

A: جذب محلول (اعداد اندیس نشانگر طول موج‌هایی است که جذب در آنها اندازه‌گیری شد).
اندازه‌گیری فعالیت آنتی اکسیدانی به روش DPPH: غلظت‌های مختلف عصاره با ۲ میلی لیتر محلول متانولی ۰/۰۰۴ درصد DPPH مخلوط شد. محلول کنترل شامل ۲ میلی لیتر DPPH و ۲ میلی لیتر متانول است. محلول‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی و در دمای اتاق نگهداری شدند. سپس جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر نسبت به شاهد اندازه‌گیری شد. درصد مهار رادیکال آزاد (%I) هر عصاره به کمک فرمول زیر تعیین شد (Miliauskas et al., 2005).

$$\%I = (A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{control}} \times 100$$

ارزیابی فعالیت ضد میکروبی عصاره

تهیه سویه‌های میکروبی: میکروارگانسیم‌های مورد بررسی در این مطالعه شامل باکتری‌های گرم مثبت، استافیلوکوکوس اورئوس (ATCC: 1112) باسیلوس سرئوس (ATCC:1015) و باکتری‌های گرم منفی سودوموناس آئروژینوزا (ATCC:1074) و اشرشیا

آنالیز آماری

داده‌ها بر اساس میانگین سه تکرار \pm خطا استاندارد گزارش شدند. بررسی تمامی نتایج با استفاده از آنالیز واریانس و بر اساس آزمون دانکن و با استفاده نرم افزار SPSS صورت گرفت و تفاوت‌های با سطح احتمال ۵٪ معنی دار شناخته شدند. رسم نمودارها با استفاده از نرم افزار Excel 2010 انجام گرفت.

نتایج

بررسی میزان فنل، فلاونوئید و آنتوسیانین کل عصاره‌ها: نتایج نشان داد که عصاره‌های غلاف گل و میوه غنی از ترکیبات فنل، فلاونوئید و آنتوسیانین می‌باشد به طوری که بیشترین میزان این ترکیبات در عصاره گل به ترتیب $۳۲/۹۲ \pm ۰/۷۳۸$ ، $۱/۱۰ \pm ۰/۵۶۸$ و $۰/۰۳ \pm ۰/۰۷۱$ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک گیاه بدست آمد (جدول ۱).

فارلند) به آنها اضافه شد. سپس مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از محیط کشت مولر هیتتون براث افزوده و به‌عنوان کنترل مثبت ۱۵۰ میکرولیتر از محیط کشت مولر هیتتون براث و سوسپانسیون باکتریایی به آن اضافه شد. سپس میکروپلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ سانتی‌گراد قرار داده شد و بعد از طی این دوره میزان کدورت آنها بررسی شد. اولین چاهکی که در آن کدورتی دیده نشد به عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) تعیین شد (NCCLS, 2000).

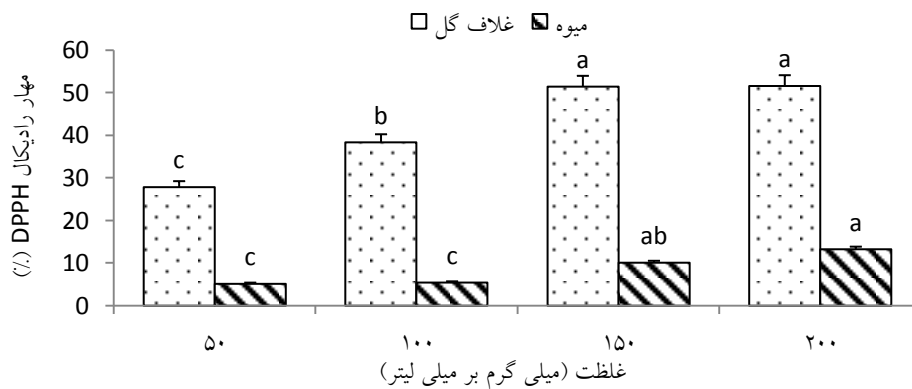
تعیین حداقل غلظت کشندگی (MBC): ۵ میکرولیتر از چاهک‌هایی که در آنها کدورتی مشاهده نشد، در سطح محیط کشت مولر هیتتون آگار ریخته و کشت داده شد. پلیت به مدت یک شب در دمای 37°C نگهداری شد. اولین غلظتی که در آن هیچ رشدی دیده نشد به عنوان حداقل غلظت کشندگی (MBC) در نظر گرفته شد (Oroojalian et al., 2010).

جدول ۱: محتوای فنل، فلاونوئید و آنتوسیانین کل عصاره غلاف گل و میوه عروسک پشت پرده. داده‌ها به صورت میانگین \pm خطا استاندارد می‌باشد.

عصاره‌های گیاهی	فنل کل (میلی‌گرم بر گرم وزن خشک گیاه)	فلاونوئید کل (میلی‌گرم بر گرم وزن خشک گیاه)	آنتوسیانین (میلی‌گرم بر گرم وزن خشک گیاه)
غلاف گل	$۳۲/۹۲ \pm ۰/۷۳۸$	$۱/۱۰ \pm ۰/۵۶۸$	$۰/۰۳ \pm ۰/۰۷۱$
میوه	$۲۰/۵۱ \pm ۰/۰۱۳$	$۰/۲۷۷ \pm ۰/۰۸۲$	$۰/۰۳ \pm ۰/۰۱۷$

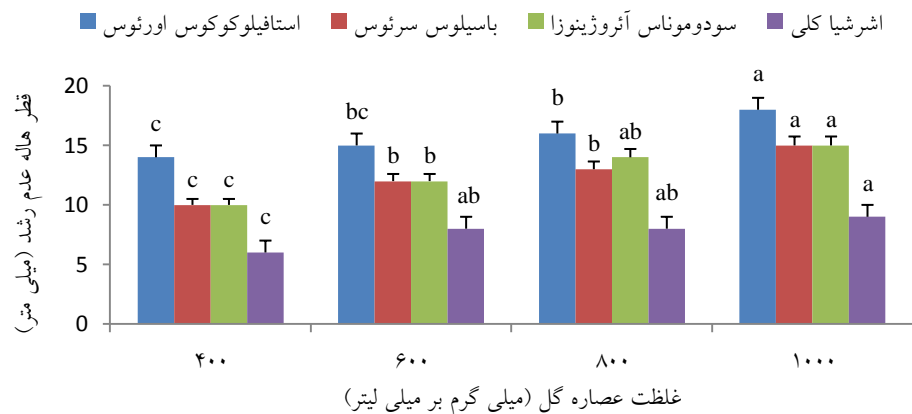
مهاررادیکال DPPH دارد به طوری که با افزایش غلظت عصاره‌ها فعالیت آنتی‌اکسیدانی افزایش یافت و بیشترین اثر مهارری در غلظت‌های ۲۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از عصاره غلاف گل به ترتیب $۵۱/۴۳$ و $۵۱/۵۸$ درصد بدست آمد (شکل ۱).

بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH: فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH بر اساس توانایی دهندگی الکترون یا اتم هیدروژن است. نتایج نشان داد که غلظت‌های مختلف عصاره غلاف گل و میوه گیاه عروسک پشت پرده تاثیر معنی‌داری بر

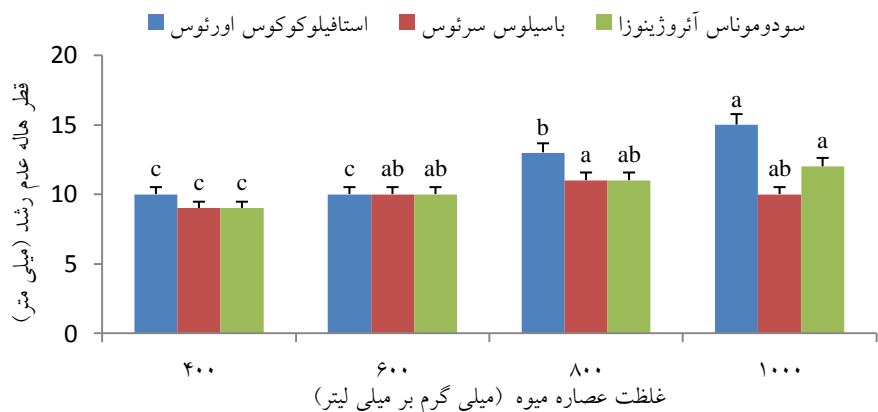


شکل ۱: فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره گل و میوه عروسک پشت پرده به روش DPPH. داده‌ها میانگین سه تکرار \pm خطا استاندارد هستند و حروف یکسان نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ است.

(الف)



(ب)



شکل ۲: بررسی فعالیت ضد میکروبی عصاره عروسک پشت پرده به روش دیسک. الف) عصاره گل (ب) عصاره میوه. داده‌ها میانگین سه تکرار \pm خطا استاندارد هستند و حروف یکسان نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ است.

نداشت. طبق نتایج بدست گزارش شده بیشترین‌هاله عدم رشد در استافیلوکوکوس اورئوس در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر برابر $0/531 \pm 15$ میلی‌متر گزارش شد (شکل ۲-ب).

بررسی حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) عصاره‌ها: بر اساس نتایج بدست آمده عصاره غلاف گل و میوه عروسک پشت پرده بر همه باکتری‌های مورد بررسی اثر ضد میکروبی داشته و نتایج نشان داد که حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی عصاره‌ها برای باکتری‌های گرم مثبت کمتر از باکتری‌های گرم منفی می‌باشد و کمترین MIC برای استافیلوکوکوس اورئوس بدست آمد. همچنین اشرشیا کلی به عصاره غلاف گل نسبت به سودوموناس آئروژینوزا حساسیت بیشتری داشت (جدول ۲ و ۳).

ارزیابی فعالیت ضد میکروبی عصاره غلاف گل و میوه به روش دیسک: فعالیت ضد میکروبی عصاره متانولی غلاف گل و میوه عروسک پشت پرده بر روی تعدادی از باکتری‌های پاتوژن شامل استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سرئوس، سودوموناس آئروژینوزا و اشرشیاکلی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که افزایش غلظت‌های مختلف عصاره گل بر رشد باکتری‌های مورد آزمایش به طور معنی‌داری تاثیرگذار است به طوری بیشترین‌هاله عدم رشد $0/12 \pm$ (۱۸ میلی‌متر) در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و کمترین‌هاله عدم رشد در باکتری اشرشیا کلی مشاهده شد (شکل ۲-الف). در مورد عصاره میوه افزایش غلظت‌های مختلف عصاره تاثیر معنی‌دار بر روی باکتری‌های گرم مثبت مورد بررسی و باکتری گرم منفی سودوموناس آئروژینوزا داشت اما غلظت‌های مختلف عصاره میوه هیچ گونه اثر بازدارندگی روی باکتری اشرشیا کلی

جدول ۲: حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) بر حسب میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره متانولی غلاف گل

باکتری	شماره باکتری	نوع باکتری	MIC (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)	MBC (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)
استافیلوکوکوس اورئوس	۱۱۱۲	گرم مثبت	۰/۳۹	۰/۷۸
باسیلوس سرئوس	۱۰۱۵	گرم مثبت	۰/۷۸	۱/۵۶
سودوموناس آئروژینوزا	۱۰۷۴	گرم منفی	۱۰۰	۲۰۰
اشرشیا کلی	۱۳۹۹	گرم منفی	۰/۳۹	۰/۷۸

جدول ۳: حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) بر حسب میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره متانولی میوه

باکتری	شماره باکتری	نوع باکتری	MIC (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)	MBC (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)
استافیلوکوکوس اورئوس	۱۱۱۲	گرم مثبت	۰/۳۹	۰/۷۸
باسیلوس سرئوس	۱۰۱۵	گرم مثبت	۰/۷۸	۱/۵۶
سودوموناس آئروژینوزا	۱۰۷۴	گرم منفی	۱۰۰	۲۰۰
اشرشیاکلی	۱۳۹۹	گرم منفی	۰/۳۹	۱۰۰

بررسی ارتباط بین فعالیت ضد میکروبی با ترکیبات آنتی اکسیدانی اندازه گیری شده: جدول همبستگی نشان داد که فعالیت ضد میکروبی عصاره غلاف گل گیاه عروسک پشت پرده با محتوای فنل کل در سطح یک درصد و با عصاره میوه در سطح ۵ درصد همبستگی مثبت معنی دار دارد. همچنین فعالیت ضد میکروبی عصاره غلاف گل و میوه با ترکیبات فلاونوئیدی و آنتوسیانینی نیز همبستگی مثبت دارد ولی معنی دار نمی باشد (جدول ۴ و ۵).

جدول ۴: الف. همبستگی بین فعالیت ضد میکروبی و برخی ترکیبات آنتی اکسیدانی غیر آنزیمی عصاره غلاف گل عروسک پشت پرده.

محتوای فنل	محتوای فلاونوئید	محتوای آنتوسیانین	فعالیت آنتی اکسیدانی	فعالیت ضد میکروبی
۰/۷۸۲ ^{**}	۰/۳۱۰ ^{NS}	۰/۲۸۴ ^{NS}	۰/۹۸۱۶ ^{**}	۱
۰/۹۸۱ ^{**}	۰/۶۳۵ [*]	۰/۸۱۲ ^{**}	۱	
۰/۹۰۹ ^{**}	۰/۷۶۵ [*]	۱		
۰/۴۱۷ ^{NS}	۱			
۱				

^{**} همبستگی در سطح ۱ درصد معنی دار است. ^{*} همبستگی در سطح ۵ درصد معنی دار است. ^{NS} همبستگی بین صفات معنی دار نیست.

جدول ۵: همبستگی بین فعالیت ضد میکروبی و برخی ترکیبات آنتی اکسیدانی غیر آنزیمی عصاره میوه عروسک پشت پرده.

محتوای فنل	محتوای فلاونوئید	محتوای آنتوسیانین	فعالیت آنتی اکسیدانی	فعالیت ضد میکروبی
۰/۶۴۸ [*]	۰/۴۲۰ ^{NS}	۰/۳۶۷ ^{NS}	۰/۸۲۱ ^{**}	۱
۰/۸۲۱ ^{**}	۰/۷۳۵ ^{**}	۰/۷۱۲ ^{**}	۱	
۰/۸۵۷ ^{**}	۰/۷۶۵ [*]	۱		
۰/۳۸۱ ^{NS}	۱			
۱				

^{**} همبستگی در سطح ۱ درصد معنی دار است. ^{*} همبستگی در سطح ۵ درصد معنی دار است. ^{NS} همبستگی بین صفات معنی دار نیست.

بحث

از ترکیبات آنتی اکسیدان به ویژه ترکیبات فنلی است است که بیشترین مقدار آن در عصاره غلاف گل بدست آمد (جدول ۱). مطابق نتایج آنالیز همبستگی (جدول ۴ و ۵) فعالیت ضد میکروبی بالای عصاره غلاف گل و میوه عروسک پشت پرده را می توان به مقادیر بالای ترکیبات فنلی نسبت داد. همچنین افزایش ترکیبات آنتی اکسیدان در عصاره غلاف گل و میوه سبب افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی به روش DPPH شده که به دنبال آن افزایش فعالیت

نتایج پژوهش حاضر نشان داد (شکل ۲ و جدول ۲) که عصاره متانولی غلاف گل عروسک پشت پرده تاثیر معنی داری بر روی مهار رشد باکتری های گرم مثبت / استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سرئوس و باکتری های گرم منفی سودوموناس آئروژینوزا و اشرشیا کلی داشت اما عصاره میوه بر روی باکتری اشرشیا کلی تاثیری نداشت. همچنین نتایج نشان داد که عصاره غلاف گل و میوه عروسک پشت پرده غنی

در مورد باکتری‌های گرم منفی نسبت به انواع مثبت توجیه می‌شود (Negi et al., 2003; Khosravi et al., 2020). از سوی دیگر با توجه به نتایج بدست آمده از جدول همبستگی (جدول ۴ و ۵) که نشان داد که خاصیت ضد باکتریایی عصاره‌های غلاف گل و میوه با محتوای ترکیبات فنلی همبستگی مثبت معنی‌دار دارد. بنابراین می‌توان گفت که ترکیبات فنلی از طریق واکنش با گروه‌های سولفیدریل یا بر هم کنش‌های غیر اختصاصی با پروتئین‌ها، از فعالیت آنزیمی جلوگیری به عمل آورده و بدین ترتیب فعالیت ضد میکروبی خود را اعمال می‌کنند. از سوی دیگر تعداد و موقعیت گروه‌های هیدروکسیل فاکتور کلیدی در فعالیت ضد میکروبی ترکیبات فنلی به شمار می‌آید و با افزایش تعداد گروه‌های هیدروکسیل، فعالیت میکروبی افزایش می‌یابد (Mianabadi et al., 2015). در بیان مکانیسم ضد باکتریایی عصاره‌های گیاهی، مشخص شده است که پلی‌فنل‌ها قادرند با پروتئین‌ها کمپلکس‌های محلول سنگینی تشکیل دهند و از این طریق به باکتری‌ها متصل شده و پذیرنده‌های موجود در سطح سلول باکتری را تخریب نمایند. (Mirzaie et al., 2016). در پژوهشی، فعالیت ضد میکروبی پوسته بلوط (Khosravi and Behzadi, 2006) و برگ و گل گیاه بیلهر (Mianabadi et al., 2015) به حضور ترکیبات تاننی و فنلی در آن نسبت داده شد و همبستگی مثبت معنی‌داری با محتوای ترکیبات فنلی نشان دادند. امروزه اجزای سازنده بسیاری اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی شناسایی شده‌اند و محققان اثر ضد میکروبی هر یک از اجزا موجود در ترکیبات سازنده آنها را مورد پژوهش قرار دادند. این پژوهش‌ها نشان می‌دهد که اجزای اسانس‌ها و عصاره‌ها اثرات ضد میکروبی متفاوتی دارند. شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد مکانیسم اصلی فعالیت ضد میکروبی اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی از طریق تغییر ساختار و عمل

ضد میکروبی نیز گزارش شد. در پژوهشی گزارش شد که عصاره عروسک پشت پرده در غلظت‌های ۱۵۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر فعالیت ضد باکتریایی مقابل *استافیلوکوکوس اورئوس*، *باسیلوس سوبتیلیس* و *اشرشیا کلی* نشان داد و این خاصیت ضد باکتریایی به ترکیب کلروژنیک به عنوان نوعی ترکیب فنلی نسبت داده شد (Zhang et al., 2016). همچنین، مطالعه شو و همکاران (Shu et al., 2016) نیز نشان داد که ترکیبات فیتوشیمیایی گیاه عروسک پشت خاصیت ضد باکتریایی مناسبی بر علیه باکتری‌های *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس*، *استرپتوکوکوس نومونیا* و *سودوموناس آئروژینوزا* داشتند. علاوه بر این محققین مختلف نیز گزارش کردند که گیاهان دارویی به دلیل داشتن ترکیبات آنتی‌اکسیدان مختلف و اسانس‌ها بر روی باکتری‌های بیماری‌زای مختلف اثر مهاری دارند (Mianabadi et al., 2015; Fazeli-Nasab et al., 2017; Khosravi et al., 2020). طبق نتایج بدست آمده (شکل ۲ الف و ب) علت حساسیت بیشتر باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی ممکن است ناشی از این باشد که این باکتری‌ها دیواره سلولی یک لایه دارند و در حالی که باکتری‌های گرم منفی دیواره سلولی چند لایه دارند (Ghasemi-Pirbalouchi et al., 2010). باکتری‌های گرم منفی علاوه بر لایه پپتیدوگلیکان، دارای یک غشای خارجی در دیواره سلولی خود می‌باشند که این غشا غنی از مولکول‌های لیپوپلی‌ساکاریدی می‌باشد به عنوان مانع در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها عمل می‌کند. اما باکتری‌های گرم مثبت فاقد این غشا خارجی هستند و مواد ضد میکروبی به راحتی دیواره سلولی و غشای سیتوپلاسمی را تخریب کرده که منجر به نشت سیتوپلاسم و انعقاد آن می‌شوند (Duffy et al., 2001; Ghasemi-Pirbalouchi et al., 2010). بنابراین با توجه به موارد گفته شده علت MIC و MBC بالاتر

گیاه عروسک پشت پرده در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد اثر ضد میکروبی قابل قبولی بر باکتری‌های گرم مثبت / استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سرئوس در مقایسه با باکتری‌های گرم منفی داشت. علت حساسیت بیشتر باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی ممکن است ناشی از این باشد که این باکتری‌ها دیواره سلولی یک لایه دارند و در حالی که باکتری‌های گرم منفی دیواره سلولی چند لایه دارند. بنابراین با توجه به اثرات نامطلوب ترکیبات نگهدارنده بر سلامت انسان و نیز مقاومت سویه‌های باکتریایی به آنتی‌بیوتیک‌ها، انجام مطالعات بیشتر در زمینه کاربرد عصاره این گیاه در مواد غذایی فاسد شدنی پیشنهاد می‌گردد.

غشای سلولی اعمال می‌شود. بررسی‌های صورت گرفته نشان داده است که ترکیبات مشتق شده از گیاهان نفوذپذیری غشای سلولی میکروارگانیزم‌های تحت بررسی را افزایش می‌دهند و از این طریق تعادل یون‌های مختلف در دو سوی غشا را بر هم می‌زنند (Melo et al., 2014).

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج بدست آمده از این پژوهش نشان داد که گیاه عروسک پشت پرده می‌تواند به عنوان یک منبع قابل دسترس از ترکیبات آنتی‌اکسیدان می‌باشد؛ بنابراین، این گیاه می‌تواند مورد مناسبی برای کاربردهای دارویی باشد. همچنین در این مطالعه عصاره متانولی

References

- Adamczak, A., Ozarowski, M. and Karpiński, T.M. 2020. Antibacterial activity of some Flavonoids and organic aids widely distributed in plants. *Journal of Clinical Medicine*, 9(1): 109-118.
- Almoulah, N.F., Voynikov, Y., Gevrenova, R., Schohn, H., Tzanova, T., Yagi, S. and Laurain-mattar, D. 2017. Antiproliferative and antioxidant activity of leaf extracts of selected Solanaceae species. *South African Journal of Botany*, 112: 368-374.
- Amini, A. 2004. *Dictionary of therapeutic plants*. Tehran University, Tehran, 157-159.
- Bahmani, M., Rafieian-Kopaei, M., Naghdi, N., Mozaffari Nejad, A.S. and Afsordeh, O. 2016. *Physalis alkekengi*: A review of its therapeutic effects. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Sciences*, 3: 1472-1475.
- Burt, S. 2004. Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods. *International Journal Food Microbiology*, 94: 223-253.
- Chakraborty, M. and Mitra, A. 2008. The antioxidant and antimicrobial properties of the methanolic extract from *Cocos nucifera* mesocarp. *Food Chemistry*, 107: 994-999.
- Chandra, H., Bishnoi P., Yadav, A., Patni, B., Mishra, A.P. and Nautiyal, A.R. 2017. Antimicrobial resistance and the alternative resources with special emphasis on plant-based antimicrobials- A review. *Plants*, 6(2): 16-25.
- Chang, C., Yang, M., Wen, H. and Chern J. 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10: 178-182.
- Dosti, B., Samiei, K. and Zarrinzadeh, S. 2021. Evaluation of antibacterial, antioxidant effects and determination of phenolic and flavonoid content of *Physalis peruviana* L. *Journal of Plant Research*. 34 (1): 249-262.
- Duffy, C.F. and Power, R.F. 2001. Antioxidant and antimicrobial properties of some Chinese plant extracts. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 17: 527-529.
- Ebrahimabadi, A.H., Ebrahimabadi, E.H., Jafari-Bidgoli, Z., Jookar Kashi, F., Mazoochi, A. and Batooli, H. 2010. Composition and antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and extracts of *Stachys inflata* Benth from Iran. *Food Chemistry*, 119: 452-458.
- Ertürk, Ö., Çol Ayvaz, M., Can, Z., Karaman, Ü. and Korkmaz, K. 2017. Antioxidant, antimicrobial activities and phenolic and chemical contents of *Physalis peruviana* L. from Trabzon, Turkey. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, 53: 213-217.
- Farhadi, Kh., Esmaeilzadeh, F., Hatami, M., Forough, M. and Molaie, R. 2016. "Determination of phenolic compounds

- content and antioxidant activity in skin, pulp, seed, cane and leaf of five native Grape cultivars in west Azerbaijan province, Iran. Food Chemistry, 199: 847-855.
14. Fazeli-Nasab, B., Rahnama, M. and Mazarei, A. 2017. Correlation between antioxidant activity and antibacterial activity of nine medicinal plant extracts. Journal of Mazandaran University Medical Science, 27 (149): 63-78.
15. Ghasemi-Pirbalouchi, A., Jahanbazi, P. and Enteshari, S. 2010. Antimicrobial activity of some Iranian medicinal plants. Archives of Biological Sciences, 62(3): 633-642.
16. Gholami, A., Arabestani, M.R. and Ahmadi, M. 2016. Evaluation of antibacterial activity of aqueous and methanol extracts of *Allium jesdianum* plant on a number of pathogenic bacteria resistant to antibiotics. Pajouhan Scientific Journal, 14 (4): 18-26.
17. Hoshani, M., Mianabadi, M., Aghdasi, M. and Azim Mohseni, M. 2012. An investigation of antioxidant activity of *Physalis alkekengi* methanolic extracts in different phenological stages. Journal of Plant Biology, 4: 101-14.
18. Jena, P., Mohanty, S., Mallick, R., Jacob, B. and Sonawane, A. 2012. Toxicity and antibacterial assessment of chitosan-coated silver nanoparticles on human pathogens and macrophage cells. International Journal of Nanomedicine, 7: 1805-1818.
19. Jouda, M.M. 2013. The antibacterial effect of some medicinal plant extracts and their synergistic effect with antibiotic and non-antibiotic drugs. World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 5(2): 23-33.
20. Khosravi, A.D. and Behzadi, A. 2006. Evaluation of the antibacterial activity of the seed hull of *Quercus branti* on some gram negative bacteria. Pakistan Journal Medical Sciences, 22: 429-32.
21. Khosravi, S., rezayatmand, Z. and Ghiasian, M. 2020. Study of antioxidant and antimicrobial effects of aqueous and alcoholic extract of plant (*Lawsonia inermis*, *punica granatum*, *walnut*, *Myrtus*) on gram positive and gram negative bacteria. Applied Biology, 10 (3): 1-17.
22. Koohsari, H., Ghaemi, E.A., Sheshpoli, M.S., Jahedi, M. and Zahiri, M. 2015. The investigation of antibacterial activity of selected native plants from north of Iran. Journal of Medicine and life, 8: 38-42.
23. Majhenic, L., Skerget, M., and Knez, Z. 2007. Antioxidant and antimicrobial activity of guarana seed extracts. Food Chemistry, 104: 1258-1268.
24. Meda, A., Lamien, C.E., Romito, M., Millogo, J. and Nacoulma, O.G. 2005. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Faso honey, as well as their scavenging activity. Food Chemistry, 91: 571-577.
25. Melo, J.O., Fachin, A.L., Rizo, W.F., Jesus, H.C., Arrigoni-Blank, M.F. and Alves, P.B. 2014. Cytotoxic effects of essential oils from three *Lippia gracilis* Schauer genotypes on HeLa, B16, and MCF-7 cells and normal human fibroblasts. Genetics and Molecular Research, 13(2): 2691-7.
26. Mianabadi, M., Hoshani, M. and Salmanian, S. 2015. Antimicrobial and anti-oxidative effects of methanolic extract of *Dorema aucheri* Boiss. Journal of Agriculture Science Technology, 17: 623-634.
27. Miliauskas, G., Venskutonis, P.R. and Vanbeek, T.A. 2005. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. Food Chemistry, 85: 231-237.
28. Mirzaie, A., Shandiz, S., Ataollah, S. and Noorbazargan, H. 2016. Evaluation of chemical composition, antioxidant, antibacterial, cytotoxic and apoptotic effects of *Aloysia citrodora* extract on colon cancer cell line. Tehran University of Medicinal Journal, 74(3): 168-176.
29. Mita, S., Murano, N., Akaike, M. and Nakamura, K. 1997. Mutants of *Arabidopsis thaliana* with pleiotropic effects on the expression of the gene for beta-amylase and on the accumulation of anthocyanin that is inducible by sugars. Plant Journal, 11: 841-851.
30. Mujeeb, F., Bajpai, P. and Pathak, N. 2014. Phytochemical evaluation, antimicrobial activity, and determination of bioactive components from leaves of *Aegle marmelos*. BioMed Research International, 1-12.
31. National committee for clinical laboratory standards. 2000. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically (5th Ed.). Approved standard, M7-A5. Pennsylvania: Wayne.
32. Negi, P.S., Jayaprakasha, G.K. and Jena, B.S. 2003. Antioxidant and anti-mutagenic activities of pomegranate peel extracts. Food Chemistry, 80: 393-397.
33. Oroojalian, F., Kermanshahi, K., Azizi, M. and Bassami, M.R. 2010. Phytochemical composition of the essential oils from three Apiaceae species and their antibacterial effects on food-borne pathogens. Food Chemistry, 120: 765-770.

34. Palmieri, A.B., Amaral, A.M., Homem, R.A., and Machado, M.A. 2010. Differential expression of pathogenicity and virulence-related genes of *Xanthomonas axonopodis* pv. citri under copper stress. *Genetics and Molecular Biology*, 33(2): 348-353.
35. Pourmorad, F., Hosseinimehr, S.J. and Shahabimajd, N. 2006. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. *African Journal of Biotechnology*, 5: 1142-1145.
36. Saki, K., Bahmani, M. and Rafieian-Kopaei, M. 2014. The effect of most important medicinal plants on two important psychiatric disorders (anxiety and depression)-a review. *Asian Pac Journal Trop of Medicinal*, 7: 34-42.
37. Sharma, N., Bano, A., Dhaliwal, S.H., and Sharma, V. 2015. Perspectives and possibilities of Indian species of genus (*Physalis*) a comprehensive review. *European Journal of Pharmaceutical and Medical Research*, 2(2): 326-35.
38. Shu, Z., Xing, N., Wang, Q., Li, X., Xu, B., Li, Z. and Kuang, H. 2016. Antibacterial and anti-Inflammatory activities of *Physalis alkekengi* var. *franchetii* and its main constituents. *Evidence - Based Complementary and Alternative Medicine*, 1: 1-10.
39. Zarei-Yazdeli, M., Seyed Ebrahimi, S.A., Alipanah, H. and Noori, M. 2020. Evaluation of antibacterial activity of ethanoloic and methanoloic extracts of *Dracocephalum kotschyi* and Mazouj galls. *Journal of Kashan University of Medical Sciences*, 24(3): 293-301.
40. Zhang, C.Y., Luo, J.G., Liu, R.H., Lin, R., Yang, M.H. and Kong, L.Y. 2016. H NMR spectroscopy-guided isolation of newsucrose esters from *Physalis alkekengi* var. *franchetii* and their antibacterial activity. *Fitoterapia*, 114: 138-143.