

بررسی خواص ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدانی و فیتوشیمیایی، عصاره بابونه، سیاه‌دانه، شاه‌تره و مورد بر روی باکتری‌های بیماری‌زای جدا شده از نمونه‌های کشت خون و ادرار

ابوذر لطفی‌وناشی^۱، فاطمه قمری^۲، سمیه فرهمند^۳، آمنه جمشیدی^۳

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

۲- نویسنده مسئول: استادیار گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران، پست الکترونیکی: fatemehghamari@pnu.ac.ir

۳- استادیار گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۰/۱۷

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱/۲۵

چکیده

سابقه و هدف: گیاهان دارویی به عنوان یکی از منابع مهم دارویی در جهان هستند. عفونت ادراری از رایج‌ترین عفونت‌های بشری و عفونت خون از عوامل مهم مرگ و میر در جهان است. مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها در سال‌های اخیر به عنوان یک مشکل اساسی جهان مطرح است. گیاهان دارویی آنتی‌اکسیدان طبیعی هستند. بابونه دارویی، شاه‌تره گل‌ریز، سیاه‌دانه و مورد از مهم‌ترین گیاهان در طب سنتی می‌باشند که در این تحقیق مورد بررسی قرار گرفته‌اند.

مواد و روش‌ها: گیاهان ابتدا توسط دستگاه آسیاب برقی پودر شده و سپس به روش ماسراسیون عصاره هیدروالکی آن تهیه و پس از الکل پراکنی، لیوفیلیز گردید و از آن سه غلظت ۶۴، ۱۶۰ و ۲۲۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر تهیه شد. اثر ضد میکروبی به روش دیسک دیفیوژن و آنتی‌اکسیدان به روش DPPH بررسی شد.

یافته‌ها: بیشترین درصد مهار نسبت به دیسک دارویی جنتامایسین، برای گیاه مورد در برابر باکتری *اشریشیاکلی* (۸۶ درصد) و *سودوموناس آئروژینوزا* (۱۰۰ درصد) بود و برای *استافیلوکوکوس اورئوس* نسبت به دیسک اریترومایسین نیز ۱۰۰ درصد مشاهده شد. گیاه سیاه‌دانه بیشترین میزان اثر آنتی‌اکسیدانی (حدود ۶۰ درصد) و مورد با ۴۳ درصد کمترین میزان اثر آنتی‌اکسیدانی را داشت. با انجام تست GC-MS مشخص شد بیشترین ماده مؤثره در گیاهان مورد، سیاه‌دانه، شاه‌تره گل‌ریز و بابونه دارویی به ترتیب بنزنتریول (Benzenetriol) (۳۰/۹۷ درصد)، اکتادکادینوئیک‌اسید (Octadecadienoic acid) (۴۴/۳۵ درصد)، پیران (Pyran) (۱۳/۲۶ درصد) و بنزوپیران (Benzopyran) (۵۰/۲۴ درصد) بود.

نتیجه‌گیری: گیاه مورد دارای بیشترین اثر ضد میکروبی و گیاه سیاه‌دانه دارای بیشترین اثر آنتی‌اکسیدانی می‌باشد.

واژگان کلیدی: آنتی‌اکسیدان، انتشار دیسک، عفونت ادراری، عفونت خونی، گیاهان دارویی، DPPH

• مقدمه

گیاهان دارویی، ترکیبات فنولی هستند که خواص آنتی-اکسیدانی زیادی دارند (۲). چهار گونه بابونه مثل بابونه شیرازی، بابونه معطر، بابونه دشتی و بابونه رومی در ایران یافت می‌شود (۳). از کاربردهای درمانی بابونه شیرازی می‌توان به درمان دیابت، آگزما، زخم‌ها و بیماری‌های گوارشی، خاصیت ضد التهابی و خاصیت ضد استرسی آن اشاره نمود. همچنین این گیاه دارویی دارای فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروبی، ضد قارچی و ضد پلاکتی قابل توجهی می‌باشد (۴).

بخش عظیمی از موجودات طبیعت را گیاهان تشکیل می‌دهند و از دیرباز برای مصارف غذایی و درمان بیماری‌ها مورد توجه انسان بوده‌اند. با ورود داروهای سنتزی به زندگی انسان به جهت راحتی مصرف، توجه انسان به گیاهان کم‌تر شد. اما امروزه به دلیل اثرات جانبی داروهای سنتزی، استفاده از گیاهان به عنوان دارو و غذاهای فراسودمند چه در ایران و چه در کشورهای اروپایی گسترش یافته است (۱). شناخته شده‌ترین آنتی‌اکسیدان‌های مشتق شده از

بالای لاکتات می‌باشد که به عنوان یک عفونت خونی محاسبه می‌شود (۱۴).

مقاومت آنتی‌بیوتیکی یک تهدید دائمی سلامت جهانی است و تلاش‌ها جهت رفع این مشکل گسترده است. الگوی مقاومت به چند دارو در باکتری‌های گرم مثبت و منفی منجر به عفونت‌های سخت درمان و غیرقابل درمان می‌شود. بر این اساس سازمان بهداشتی جهانی، یکی از روزهای بهداشتی جهانی را با موضوع مبارزه با مقاومت دارویی نام‌گذاری کرده است (۱۵).

• مواد و روش‌ها

تهیه گیاهان دارویی: چهار گیاه دارویی شاه‌تره گل‌ریز (*Myrtus parviflora* Lam. F01004)، مورد (*Matricaria communis* L. M01-025)، بابونه دارویی (*Nigella sativa* L. N01-026) و سیاه‌دانه (*recutita* L. M01-026) (018) از ارتفاعات استان البرز تهیه و پس از تأیید نوع و گونه گیاه، کد هرباریوم توسط دانشکده داروسازی علوم پزشکی البرز صادر شد.

عصاره گیری: ابتدا ۱۰ گرم از گیاه (برگ گیاه مورد، برگ و ساقه گیاه شاه‌تره گل‌ریز، برگ، گل و ساقه گیاه بابونه و دانه گیاه سیاه‌دانه)، خشک و آسیاب شد. سپس با ۱۰۰ میلی‌لیتر الکل متانول ۷۰ درصد، مخلوط و کاملاً هم زده شد. در ادامه ۲۴ ساعت در دمای اتاق (حدوداً ۲۳ درجه) انکوبه گردید. سپس با کاغذ صافی واتمن عصاره در ظرف جدید برای سه مرتبه صاف شد.

پس از تهیه عصاره آبی-الکلی نمونه‌ها، در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد به کمک دستگاه تبخیر کننده چرخان تحت خلأ (شرکت Heidolph)، حلال پراکنی انجام شد و پودر هر یک از گیاهان توسط دستگاه فریزدرایر شرکت Christ مدل Alpha 2-4 LDplus تهیه شد (۱۶).

نمونه‌های بالینی: ۱۹ حلقه پلیت حاوی کشت ادرار و دو حلقه پلیت حاوی کشت خون به دست آمده از بیماران مراجعه کننده به آزمایشگاه بیمارستان شهدای آبیگ و سه گونه باکتری اشریشیاکلی (*Escherichia coli*) ATCC25922، سودوموناس آئروژینوزا ATCC27853 و استافیلوکوکوس اورئوس (*Staphylococcus aureus*) ATCC25923 از شرکت دارویش تهیه و مورد بررسی قرار گرفت.

در نمونه‌های کشت ادرار بیمار، پس از بررسی اسلایدهای میکروسکوپی، نمونه‌های حاوی بیش از پنج گلبول سفید (پیوری)، به عنوان نمونه هدف انتخاب شد. نمونه‌های کشت خونی که بیمار دارای علائم بالینی نظیر

گیاه سیاه‌دانه دارای تاریخچه غنی طبی و مذهبی است و از گیاهان بومی اروپای جنوبی، آفریقای شمالی و آسیا است. سیاه‌دانه به طور وسیع در درمان آسم، سردرد، اسهال خونی، عفونت‌ها، چاقی، کمر درد، فشار خون و مشکلات گوارشی در خاورمیانه و خاور دور استفاده می‌شود و به صورت موضعی در درمان آبسه‌ها، زخم‌های بینی و روماتیسم کاربرد دارد (۵).

در ایران ۷ گونه گیاه علفی یک ساله از جنس شاه‌تره وجود دارد. گونه دارویی آن به نام *Fumaria officinalis* شناخته می‌شود. گونه *F. parviflora* گیاه شاه‌تره موجود در ایران است که خواص دارویی شبیه *Fumaria officinalis* دارد. از خواص درمانی آن می‌توان به این موارد اشاره کرد: خلط آور، مدر (ادرار آور)، معرق (عرق آور)، مقوی معده، تصفیه کننده خون، اشتها آور، ملین (مسهل روده)، سمیت زدا، قابض (رفع اسهال)، آرام‌بخش و مؤثر در رفع بیماری‌های پوستی (۶).

گیاه مورد با نام علمی *Myrthus communis* L، گیاهی درختچه‌ای و همیشه سبز است و از خانواده میرتاسه (*Myrtaceae*) دارای گل‌های سفید و معطر است که در رده دولپه‌ای‌ها قرار دارد (۷). برگ‌های آن به شکل بیضی و نیزه‌ای شکل است (۸) و در نقاط خشک و استپی ایران می‌روید. این گیاه به عنوان ماده ضد عفونی کننده، قابض (رفع اسهال)، ضد التهاب، ضد درد، ضد باکتری و ضد ویروس استفاده می‌شود (۹).

عفونت ادراری از شایع‌ترین عفونت‌ها در جهان است که در بانوان شیوع بالاتری دارد. در زنان جوان ۳۰ تا ۴۰ درصد موارد پس از بهبودی، عود می‌کند (۱۰). جهت درمان عفونت ادراری از آنتی‌بیوتیک‌های مختلف استفاده می‌شود هرچند مقاومت روز افزون باکتری‌ها به آنتی‌بیوتیک‌ها درمان را پیچیده کرده است (۱۱).

عفونت خون یکی از سندرم‌ها و ناهنجاری‌های فیزیولوژیکی، پاتولوژیکی و بیوشیمیایی عفونی است که از عوامل اصلی بیماری‌های بحرانی در سراسر جهان است. کشت خون به همراه آزمایشات التهابی مثل CRP از روش‌های تشخیص رایج است (۱۲). عفونت خونی از عوامل مهم مرگ و میر است و سالانه بیش از ۱۸ میلیون نفر را در سراسر جهان تحت تأثیر قرار می‌دهد. نرخ مرگ و میر در این عفونت ۳۰ الی ۴۰ درصد می‌باشد (۱۳). گونه‌های رشد یافته در محیط‌های کشت خون، به همراه علائم سیستمیک عفونت شواهدی نظیر تب یا هیپوترمی، لرز، افت فشار خون، الیگوری یا سطح

نیم میکرولیتر از آن به دستگاه تزریق شد. دمای انژکتور روی ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. GC مدل Agilent 6890 series و Mass مدل Agilent 5973 Network Mass selective detector بود. کتابخانه این دستگاه به برنامه جستجوی NIST MS Spectral و کتابخانه طیفی جرمی ویلی مجهز بود.

آنالیز آماری: اختلافات و تفاوت‌های بین داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS، تست ANOVA و T-test تعیین گردید. با استفاده از این نرم‌افزار Pvalue و نیز SE داده‌ها، مشخص شد. $P \leq 0/05$ به عنوان تفاوت معنی‌دار در نظر گرفته شد. نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel به دست آمد.

• یافته‌ها

میزان درصد مهار گیاهان دارویی نسبت به جنتامایسین برای باکتری‌های گرم منفی و اریترومایسین برای باکتری گرم مثبت محاسبه شد. بدین شکل که میزان هاله عدم رشد گیاه دارویی تقسیم بر میزان هاله استاندارد دیسک‌های جنتامایسین و اریترومایسین گردید و نتیجه در ۱۰۰ ضرب گردید.

میزان هاله عدم رشد در سه غلظت ۶۴، ۱۶۰ و ۲۲۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر مورد بررسی قرار گرفت. در غلظت ۶۴ میلی‌گرم در میلی‌لیتر تنها در برابر باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* دو گیاه مورد و بابونه دارویی به ترتیب هاله عدم رشد به قطر ۱۰ میلی‌متر و حدود یک میلی‌متر ایجاد کردند.

در غلظت ۱۶۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر گیاهان مورد، بابونه دارویی و سیاه‌دانه در برابر باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* به ترتیب هاله عدم رشد به قطر ۱۴، ۲ و ۲ میلی‌متر ایجاد کردند. همچنین برای گیاه مورد در برابر باکتری‌های *شریشیاکلی* و *سودوموناس آئروژینوزا* به ترتیب هاله عدم رشد به میزان ۶ و ۴ میلی‌متر مشاهده شد. گیاه شاه‌تره گل‌ریز در غلظت‌های ۶۴ و ۱۶۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر فاقد هاله عدم رشد در برابر تمامی باکتری‌های مورد مطالعه بود. میزان هاله عدم رشد گیاهان مورد، بابونه دارویی، سیاه‌دانه و شاه‌تره گل‌ریز در غلظت ۲۲۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر در برابر باکتری *شریشیاکلی* و باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* نسبت به دیسک جنتامایسین در جدول زیر بر حسب سطح معنی‌دار $P \leq 0/05$ نمایش داده شده است. گیاهان سیاه‌دانه و شاه‌تره گل‌ریز در برابر باکتری *شریشیاکلی* و گیاه شاه‌تره گل‌ریز در برابر باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* فاقد اثر مهارتی بودند.

تب، یا هیپوترمی، لرز، افت فشار خون، الیگوری می‌باشند و کشت خون آنها روی محیط‌های کشت انتخابی و افتراقی رشد کرده است، به عنوان نمونه‌های آماری این تحقیق انتخاب شد.

بررسی خواص ضد میکروبی عصاره آبی - الکی به روش دیسک دیفیوژن: پس از تهیه‌ی کدورت نیم مک فارلند، باکتری‌ها روی محیط کشت مولر هینتون آگار، کشت داده شدند. ۵۰ میکرولیتر از عصاره گیاه دارویی بر روی دیسک‌های استریل ریخته شد. پس از خشک شدن عصاره‌ی آبی - الکی، دیسک‌ها با فاصله‌ی مناسب روی پلیت قرار گرفتند. از دیسک‌های حاوی متانول به عنوان شاهد استفاده شد. پلیت‌ها در انکوباسیون ۳۵ تا ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۸ تا ۲۴ ساعت انکوبه شدند سپس از لحاظ رشد و میزان هاله عدم رشد مورد بررسی قرار گرفتند (۱۷).

بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره آبی الکی به روش DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl): برای تعیین اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاهان فوق، از روش ۲ و ۲- دی فنیل ۱- پیکریل هیدرازیل (DPPH) استفاده شد. به هر کپسول R1 (حاوی پنج کپسول ۱۰۰ میلی‌گرمی از پودر DPPH) ده میلی‌لیتر از معرف R2 (شامل محلول الکی ۵۰ میلی‌لیتری) اضافه شد. پس از تهیه‌ی استاندارد، غلظت‌های ۶۴، ۱۶۰ و ۲۲۰ میکروگرم در میلی‌لیتر از گیاهان دارویی تهیه شد و معرف DPPH به آن‌ها اضافه گردید. پس از ۱۵ دقیقه دقیق انکوباسیون، میزان جذب نوری به وسیله دستگاه الیزاریدر شرکت RYTO مدل RT-200c در طول موج ۴۹۱ نانومتر اندازه گیری شد. در نهایت با فرمول زیر میزان درصد جذب محاسبه گردید (۱۸):

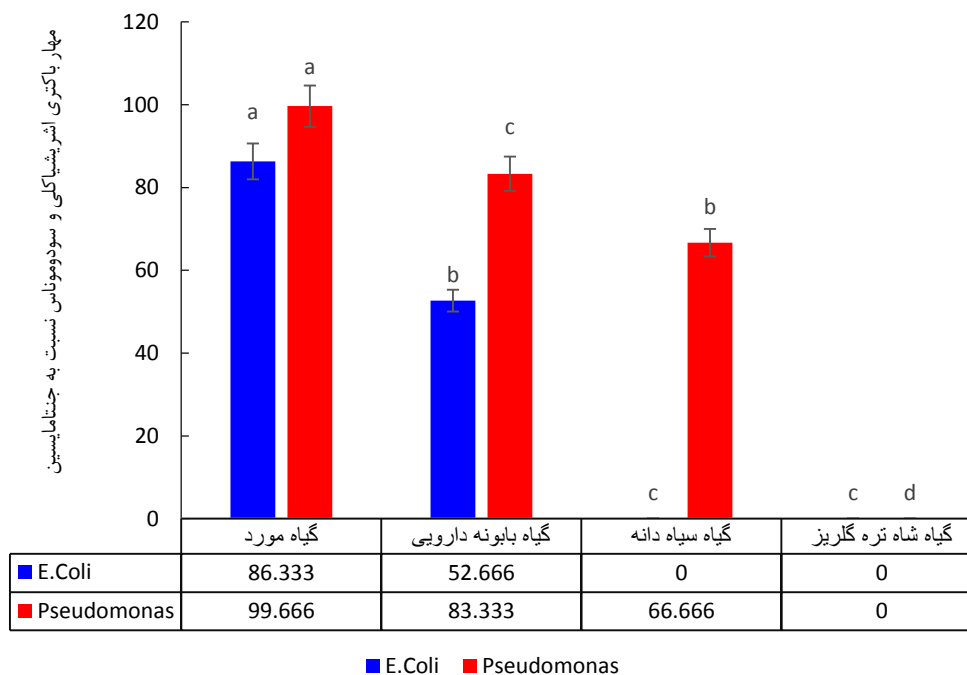
$$\text{DPPH radical - scavenging activity (\%)}: (\text{OD blank} - \text{OD sample}) / \text{OD blank}$$

اثر هم افزایی: گیاه شاه‌تره گل‌ریز و سیاه‌دانه، گیاه مورد و بابونه دارویی، گیاه شاه‌تره گل‌ریز و مورد و در نهایت گیاه سیاه‌دانه و بابونه دارویی به شکل ترکیبی ۲۵ میکرولیتر از یک گیاه با ۲۵ میکرولیتر از گیاه دوم در غلظت ۲۲۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر روی دیسک تزریق شد. پس از خشک شدن دیسک‌گذاری روی محیط مولر هینتون آگار انجام شد. پس از ۱۸ تا ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۵ تا ۳۷ درجه، پلیت‌ها مورد بررسی قرار گرفتند.

کروماتوگرافی گازی - طیف سنجی جرمی (GC-MS): جهت تعیین میزان مواد مؤثره‌ی عصاره چهار گیاه شاه‌تره گل‌ریز، سیاه‌دانه، مورد و بابونه دارویی، کروماتوگرافی گازی - طیف سنجی جرمی انجام شد. پس از آماده سازی نمونه‌ها،

جدول ۱. میزان هاله عدم رشد گیاهان در غلظت ۲۲۰ میلی گرم در میلی لیتر در برابر باکتری *اشریشیاکلی* و *سودوموناس آئروژینوزا* (با سطح معنی داری $P \leq 0.05$)

| عنوان | مورد | بابونه دارویی | سیاه دانه | شاه تره گل ریز |
|-----------------------------|--------------|---------------|--------------|----------------|
| <i>اشریشیاکلی</i> | ۸۶/۳۳۳±۱/۰۰۰ | ۵۲/۶۶۶±۱/۰۰۰ | ۰ | ۰ |
| <i>سودوموناس آئروژینوزا</i> | ۹۹/۶۶۶±۱/۰۰۰ | ۸۳/۳۳۳±۱/۰۰۰ | ۶۶/۶۶۶±۱/۰۰۰ | ۰ |



نمودار ۱. درصد مهار باکتری *اشریشیاکلی* و *سودوموناس آئروژینوزا* در عصاره گیاهان مورد، بابونه دارویی، سیاه دانه و شاه تره گل ریز نسبت به دیسک جنتامایسین در غلظت ۲۲۰ میلی گرم در میلی لیتر (با سطح معنی داری $P < 0.05$).

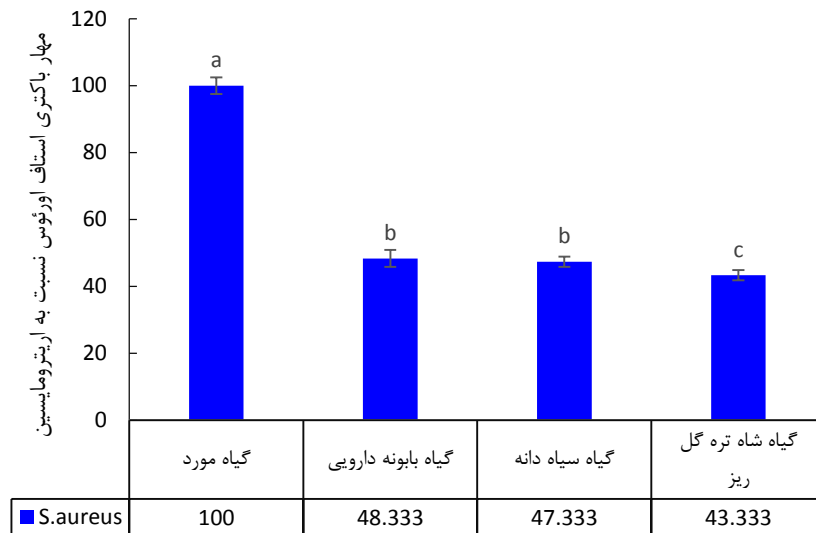
گیاه شاه تره گل ریز و مورد، گیاه مورد و بابونه و در نهایت گیاه شاه تره گل ریز و سیاه دانه در برابر باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* دارای اثر هم افزایی می باشند. نتایج با سطح معنی دار $P \leq 0.05$ در جدول زیر نمایش داده شده است.

میزان هاله عدم رشد گیاهان مورد، بابونه دارویی، سیاه دانه و شاه تره گل ریز در غلظت ۲۲۰ میلی گرم در میلی لیتر در برابر باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* نسبت به دیسک اریترومایسین مورد بررسی قرار گرفت که این میزان با سطح معنی داری $P \leq 0.05$ در جدول ۲ قابل مشاهده است. همچنین اثرات هم افزایی این گیاهان مورد بررسی قرار گرفت. در این بررسی مشخص شد گیاه سیاه دانه و مورد،

جدول ۲. میزان هاله عدم رشد گیاهان در غلظت ۲۲۰ میلی گرم در میلی لیتر در برابر باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* (با سطح معنی داری $P \leq 0.05$)

| عنوان | مورد | بابونه دارویی | سیاه دانه | شاه تره گل ریز |
|-----------------------------|--------------|---------------|--------------|----------------|
| <i>استافیلوکوکوس اورئوس</i> | ۹۹/۰۰۰±۱/۰۰۰ | ۴۸/۳۳۳±۰/۳۴۷ | ۴۷/۳۳۳±۰/۳۴۷ | ۴۳/۳۳۳±۱/۰۰۰ |

همه این گیاهان در برابر باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* نسبت به دیسک اریترومایسین دارای هاله عدم رشد بودند.



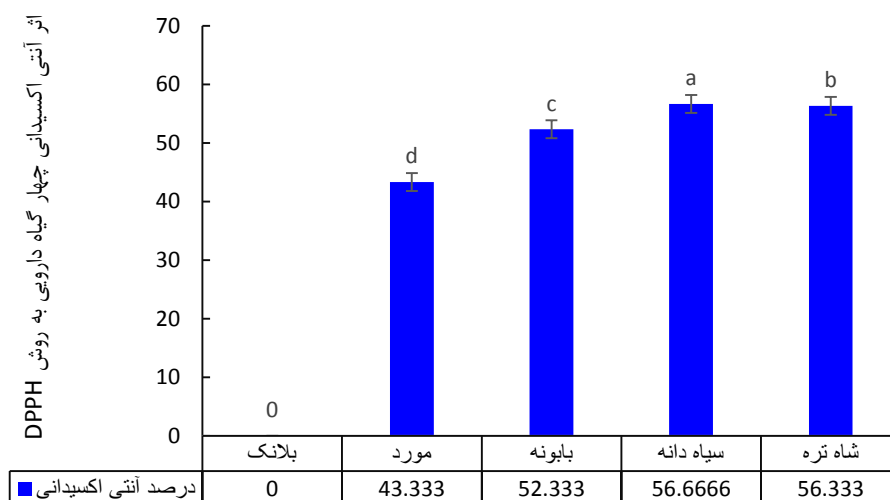
نمودار ۲. درصد مهار باکتری استافیلوکوک در عصاره گیاهان مورد، بابونه دارویی، سیاه دانه و شاه تره گل ریز نسبت به دیسک اریتروماپسین در غلظت ۲۲۰ میلی گرم در میلی لیتر (با سطح معنی داری $P \leq 0.05$).

جدول ۳. بررسی اثر هم افزایی ونکی چهار گیاه دارویی مورد، بابونه دارویی، سیاه دانه و شاه تره گل ریز (اعداد به میلی متر) بر باکتریهای بیماریزای اشریشیا کلی و سودوموناس آيروژینوزا و استافیلوکوکوس اورئوس

| عنوان | اشریشیاکلی | سودوموناس آيروژینوزا | استافیلوکوکوس اورئوس |
|---------------------|--------------|----------------------|----------------------|
| شاه تره و سیاه دانه | b. | c. | ۱۵/۶۶۶±۰/۴۶۴ |
| مورد و بابونه | ۵/۰۰۰±۱/۰۰۰ | ۱۳/۶۶۶±۱/۰۰۰ | ۲۴/۰۰۰±۰/۲۱۵ |
| شاه تره و مورد | a. | ۱۰/۳۳۳±۱/۰۰۰ | ۲۱/۶۶۶±۰/۲۱۵ |
| سیاه دانه و بابونه | b. | c. | ۱۴/۳۳۳±۰/۴۶۴ |
| مورد | ۱۳/۳۳۳±۱/۰۰۰ | ۱۴/۰۰۰±۱/۰۰۰ | ۲۴/۰۰۰±۱/۰۰۰ |
| بابونه دارویی | ۷/۰۰۰±۱/۰۰۰ | ۱۰/۳۳۳±۰/۸۲۹ | ۱۰/۶۶۶±۰/۵۸۸ |
| سیاه دانه | c. | ۱۰/۰۰۰±۰/۸۲۹ | ۱۰/۶۶۶±۰/۵۸۸ |
| شاه تره گل ریز | c. | d. | ۹/۶۶۶±۰/۵۸۸ |

۵۰۰، برابر با ۳۷ درصد، غلظت ۲۵۰، برابر با ۱۸ درصد، غلظت ۱۲۵، برابر با ۹ درصد، غلظت ۶۲/۵، برابر با یک درصد و برای غلظت ۳۱/۲۵، برابر با صفر درصد بود که با افزایش غلظت استانداردها میزان آنتی اکسیدان افزایش می یابد. GC-MS: در بررسی GC-MS برای گیاهان شاه تره گل ریز، مورد، سیاه دانه و بابونه به ترتیب ۲۱، ۱۴، ۱۵ و ۱۶ ماده مؤثره شناسایی شد. نتایج در جدول ۲ نشان داده شده است. پیک های کروماتوگرافی گیاهان بابونه دارویی، شاه تره گل ریز، سیاه دانه و مورد به ترتیب در شکل های ۱، ۲، ۳ و ۴ آمده است.

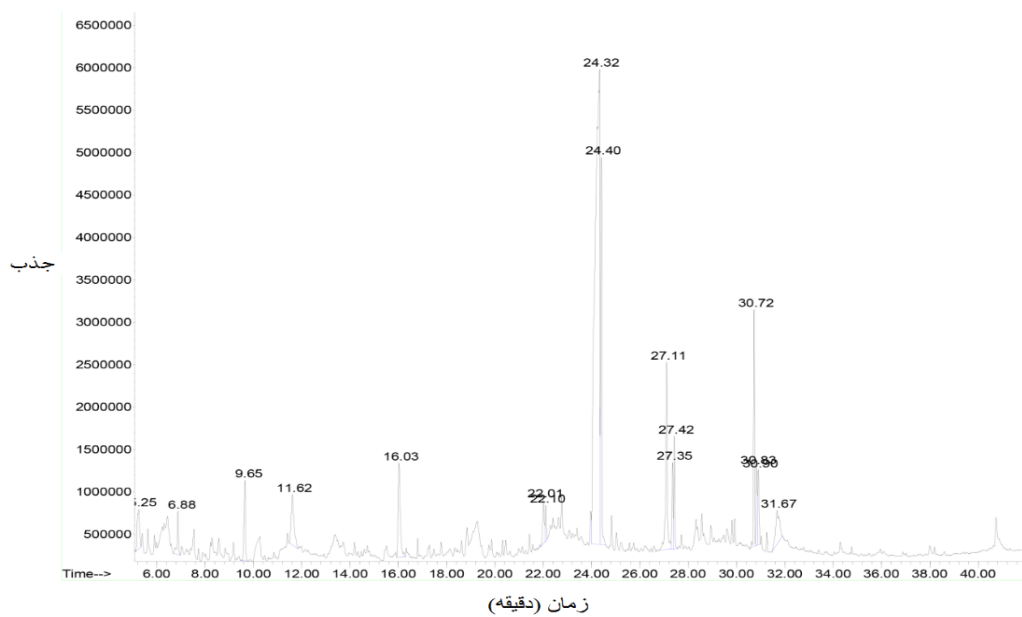
اثر آنتی اکسیدانی گیاهان دارویی نیز مورد بررسی قرار گرفت. در این بررسی (با سطح معنی داری $P \leq 0.05$) گیاه سیاه دانه با $59/666 \pm 1/000$ درصد بالاترین درصد آنتی اکسیدانی را به خود اختصاص داد و گیاهان شاه تره گل ریز، بابونه و مورد به ترتیب با $52/333 \pm 1/000$ درصد، $56/333 \pm 1/000$ درصد و $43/333 \pm 1/000$ درصد اثر آنتی اکسیدانی داشتند. اثر آنتی اکسیدانی در برابر نمودار استاندارد ۵ میلی مولار ترولاکس در غلظت های ۱۰۰۰، ۵۰۰، ۲۵۰، ۱۲۵، ۶۲/۵، ۳۱/۲۵، و درصد آنتی اکسیدانی برای هر یک از گیاهان در غلظت ۲۲۰ میلی گرم در میلی لیتر تعیین گردید. درصد آنتی اکسیدان برای استانداردها برای غلظت ۱۰۰۰، برابر با ۶۸ درصد، غلظت



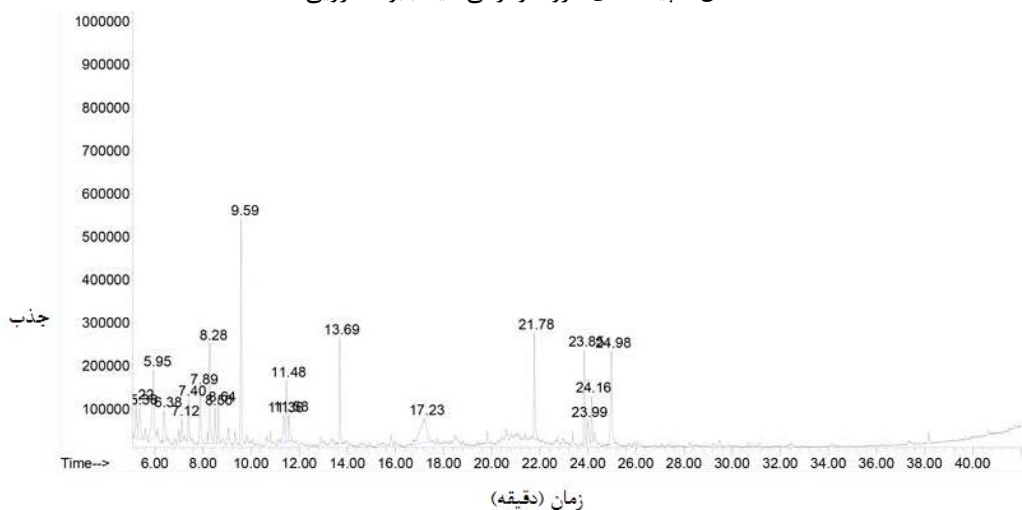
نمودار ۳. درصد آنتی‌اکسیدان چهار گیاه دارویی به روش DPPH. (با سطح معنی‌داری $P \leq 0.05$).

جدول ۴. مواد شناسایی شده به روش GC-MS

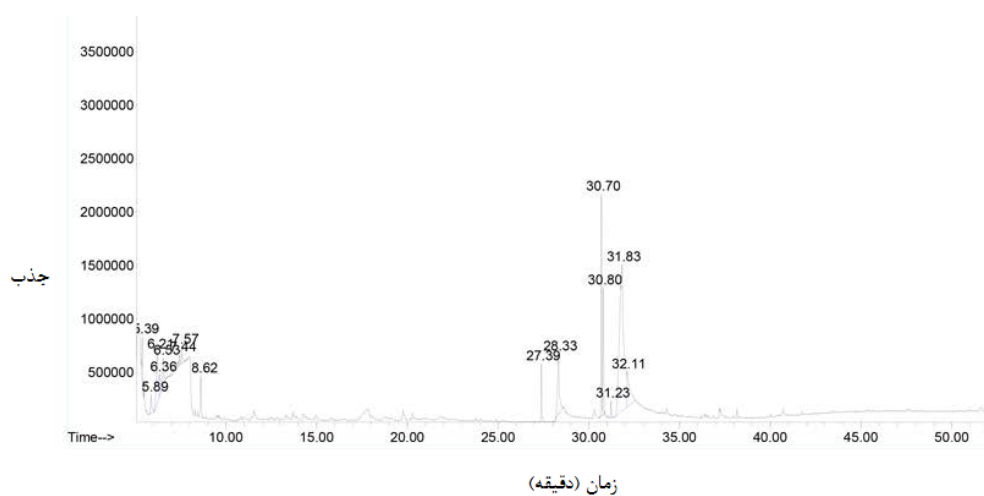
| ردیف | شاه‌تره گل‌ریز | مورد | سیاه‌دانه | بابونه شیرازی |
|------|------------------------------------|----------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------|
| ۱ | Butyrolactone | 2-Furancarboxaldehyde | Diaziridine,1,3,3-trimethyl-Heptane | Butyrolactone |
| ۲ | Methyl 5-piperidino-4-Ketocaproate | 2,4,5-Trihydroxypyrimidine | Hexanoicacid | Ethanone |
| ۳ | Glycerin | 2-Furancarboxaldehyde | Phenol | 4H-pyran-4-one |
| ۴ | 2-Hydroxy-gamma-butyrolactone | 1,2,3-Benzenetriol | Glycerin | Phenol |
| ۵ | Piperazine | 1,2,3-Benzenetriol | Glycerin | 2-Methoxy-5-methylbenzaldehyde |
| ۶ | 2,4,5-Trihydroxypyrimidine | 2-carbamoyl-4,6-dimethylpyridine | Glycerin | Imidazo |
| ۷ | 1,3,5-triazine-2 | Durohydroquinone | Glycerin | 2-Furanmethanol |
| ۸ | 1,2,3-propanetriol monoasetate | 1,6-Anhydro-.beta.-D-glocopyran | 1,3-Propanediamine | 2H-1-Benzopyran-2-one |
| ۹ | Pentanal | Ethyl.beta.-d-glocopyranoside | Hexadecanoic acid | 2H-1-Pyran-2-3-o1 |
| ۱۰ | Acetamide | 4(1H)-Pyrimidinone | n-Hexadecanoic acid | 1,6-Dioxaspiro(4.)non-3-ene |
| ۱۱ | 4H-pyran-4-one | Benzamide | 8,11-Octadecadienoic acid | 1,6-Dioxaspiro(4.)non-3-ene |
| ۱۲ | Benzofuran | Oxalic acid, heptyl | 9-Octadecenoic acid | Hexadecanoic Acid |
| ۱۳ | 2-Furancarboxaldehyde | Dibutylphosphate | Octadecenoic acid | 8,11-Octadecadienoic Acid |
| ۱۴ | 1,2,3-Propanetriol | 4,4-(P-phenylendiisopropylide) | 9,12-Octadecadienoic acid | 9-Octadecenoic Acid |
| ۱۵ | 2-Methoxy-4-vinylphenol | - | 9,17-Octadecadienal | Isoquinoline |
| ۱۶ | Chloroacetic acid | - | - | 9,12-Octadecadienoic acid |
| ۱۷ | 1,3-Dioxolo | - | - | - |
| ۱۸ | Isoquinoline | - | - | - |
| ۱۹ | 2H-1-Benzopyran-2-one | - | - | - |
| ۲۰ | 1(3H)-Isobenzofuranone | - | - | - |
| ۲۱ | 2H-1,4-Benzoxazin-3(4H)-one | - | - | - |



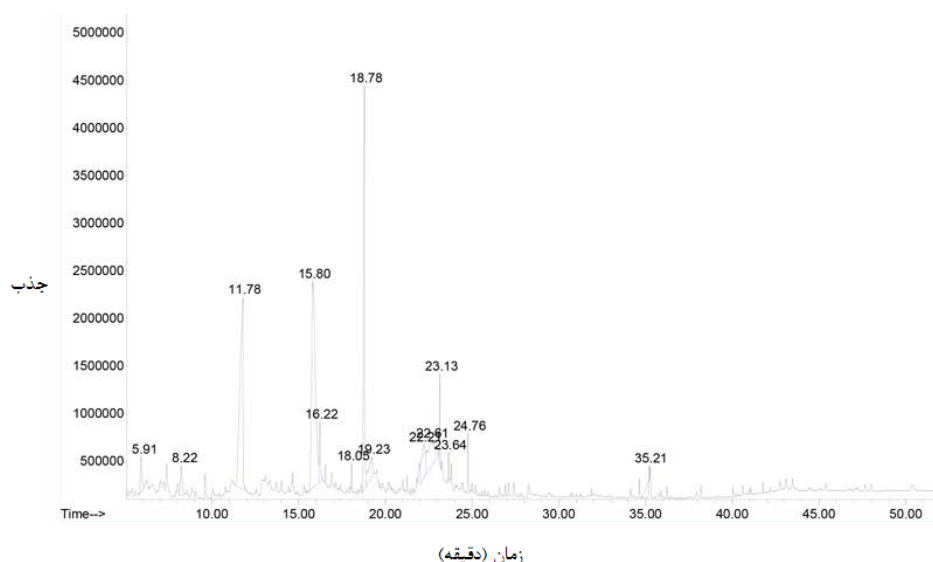
شکل ۱. پیک های کروماتوگرافی گیاه بابونه دارویی



شکل ۲. پیک های کروماتوگرافی گیاه شاه تره گل ریز



شکل ۳. پیک های کروماتوگرافی گیاه سیاه دانه



شکل ۴. پیک های کروماتوگرافی گیاه مورد

• بحث

عصاره رزماری در مهار باکتری /شریشیاکلی و عصاره مورد در مهار باکتری های لیستریا مونوسیتوژنز، سالمونلا تیفی موریوم و استافیلوکوکوس اورئوس بیشترین اثر را داشتند. نتایج آنها با نتایج تحقیق حاضر همخوانی دارد (۱۶).

علیدوست و همکاران به بررسی اثر ضد میکروبی گیاه بابونه پرداختند، نتایج نشان داد که عصاره الکلی بابونه با حداکثر میانگین قطر هاله عدم رشد ۱۴ میلی متر علیه کلبسیلا پنومونیه بهترین اثر را نشان داد. باکتری مورد نظر نسبت به عصاره گیاهان بارهنگ آبی و الکلی مقاومت نشان داد (۱۹). این اثرات با تحقیق حاضر همخوانی داشت.

Bhargava و همکاران به بررسی اثرات ضد میکروبی گیاه شاه تره روی باکتری های /شریشیاکلی، سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس اورئوس پرداختند. نتایج نشان از اثرات ضد میکروبی این گیاه داشت. (۲۰) در حالی که در تحقیق حاضر تنها اثرات ضد میکروبی این گیاه بر علیه باکتری استافیلوکوک اثبات شد.

Bakal و همکاران از لحاظ خاصیت ضد میکروبی روی گیاه سیاه دانه تحقیق کردند. نتایج بیانگر اثر قابل توجهی از مهار باکتری های سالمونلا، هلیکوباکتر پیلوری و /شریشیاکلی توسط عصاره ی این گیاه بود. در حالی که باکتری سودوموناس آئروژینوزا نسبت به این عصاره مقاوم بود. نتایج تحقیق Bakal با نتایج مطالعه ی حاضر تطابق کامل نداشت (۲۱).

معصومیان و همکاران به بررسی مقایسه بازدارندگی عصاره مورد و ۱۴ گیاه دیگر با پنی سیلین پرداختند. در این تحقیق در نهایت با بررسی نتایج دیسک آنتی بیوگرامی

درصد مهار باکتری *E.coli* در برابر دیسک دارویی جنتامایسین برای گیاهان مورد و بابونه دارویی با غلظت ۲۲۰ میلی گرم در میلی لیتر به ترتیب ۸۶ درصد و ۵۶ درصد و برای سیاه دانه و شاه تره گل ریز صفر درصد بود. همچنین درصد مهار باکتری سودوموناس آئروژینوزا در برابر دیسک جنتامایسین برای گیاهان مورد، بابونه و سیاه دانه با غلظت ۲۲۰ میلی گرم در میلی لیتر به ترتیب ۱۰۰ درصد، ۶۷ درصد و ۸۶ درصد و برای شاه تره گل ریز صفر درصد بود. میزان درصد مهار باکتری گونه های /استافیلوکوکوس اورئوس در برابر دیسک اریترومایسین برای گیاهان مورد، بابونه دارویی، سیاه دانه و شاه تره گل ریز در غلظت ۲۲۰ میلی گرم در میلی لیتر به ترتیب ۱۰۰ درصد، ۴۸ درصد، ۴۷ درصد و ۴۳ درصد بود.

در بررسی اثر هم افزایی مشخص شد گیاه مورد دارای اثر هم افزایی نسبت به تمام گیاهان کار شده در تحقیق بود، به طوری که ۲۵ میکرولیتر از مورد و ۲۵ میکرولیتر از بابونه، هاله ای حدود ۲۴ میلی متر برای مهار باکتری استافیلوکوکوس اورئوس ایجاد کرد. این در حالی است که گیاه مورد به تنهایی با حجم ۵۰ میکرولیتر دارای هاله عدم رشد ۲۴ میلی متر و بابونه با حجم ۵۰ میکرولیتر هاله عدم رشد ۱۱ میلی متر برای مهار باکتری استافیلوکوکوس اورئوس ایجاد کردند. در واقع با نصف شدن حجم نمونه ها بر روی دیسک و ترکیب دو دیسک اثری افزایشی در هاله های عدم رشد کامل مشهود است.

فاضلی نسب و همکاران گیاه مورد و رزماری را مورد بررسی قرار دادند. نتایج بیانگر این مطلب بود که

اقلیمی محل رشد گیاهان، نوع عصاره گیری و تکنیک‌های استفاده شده در پژوهش‌های مختلف می‌تواند در نتایج مؤثر باشد.

در پایان به روش کروماتوگرافی گازی- طیف سنجی جرمی، میزان مواد مؤثره‌ی این گیاهان مورد بررسی قرار گرفت. در گیاهان مورد، سیاه‌دانه، شاه‌تره گل‌ریز و بابونه دارویی به ترتیب ترکیبات بنزنتریول، اکتادکادینوئیک‌اسید، پیران و بنزوپیران بالاترین مقدار را در عصاره‌ی آبی - الکلی این گیاهان داشتند.

طبق امیری و همکاران موادی که حاوی ترکیبات باارزش از جمله پلی‌فنل‌ها، تانن‌ها، فلاونوئیدها هستند، دارای فعالیت ضد میکروبی می‌باشند (۲۶).

گیاه مورد حاوی مقدار زیادی از ماده‌ی بنزنتریول است. از آنجایی که بنزن‌ها ساختاری شبیه به فنل دارند، در نتیجه به احتمال زیاد خاصیت ضد میکروبی این گیاه مربوط به این ماده است.

گیاه بابونه دارویی علاوه بر بنزوپیران (۵۰/۲۴ درصد)، حاوی پیران (۲/۳۸ درصد) و فنول (۳/۱۳ درصد) نیز می‌باشد. با توجه به شباهت ساختاری این سه ترکیب به احتمال زیاد هر سه می‌توانند روی عدم رشد باکتری‌ها مؤثر باشند.

در گیاه دارویی شاه‌تره گل‌ریز احتمالاً متوکسی ۴ وینیل‌فنول و کلرواستیک اسید به عنوان ماده مؤثر ضد- میکروبی این گیاه می‌باشد. وینیل‌فنول ساختاری فنلی داشته و دارای OH آزاد در ساختار خود می‌باشد و مانند فنول دارای اثر ضد میکروبی است و اسید استیک هم بدلیل دارا بودن هیدروژن فعال در ساختار خود دارای اثر ضد میکروبی است. به‌نظر می‌رسد در گیاه سیاه‌دانه فنل (۷ درصد) دارای خاصیت ضد میکروبی جهت مهار رشد باکتری باشد.

گیاه مورد دارای بیشترین میزان فعالیت آنتی باکتریال بوده به طوری که در برابر باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی بیشترین هاله عدم رشد را نشان داده است. ترکیباتی مانند بنزنتریول، اکتادکادینوئیک‌اسید، پیران، بنزوپیران و فنل موجود در این گیاهان، اثر ضد میکروبی مؤثری جهت مهار رشد باکتری‌های گرم مثبت و منفی داشتند. گیاه سیاه‌دانه بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را دارد.

پنی‌سیلین عصاره مورد با غلظت بازدارندگی ۳۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر نسبت به همه عصاره‌ها و حتی پنی‌سیلین درصد بازدارندگی بیشتری دارد. نتایج این پژوهش با نتایج تحقیق حاضر همخوانی داشت (۲۲).

در تحقیق حاضر مشخص شد گیاه سیاه‌دانه بالاترین میزان آنتی‌اکسیدان را دارد. بطوری که در غلظت ۲۲۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر، میزان اثر آنتی‌اکسیدانی آن حدود ۶۰ درصد بود. در حالی که گیاه مورد در این غلظت با ۴۳ درصد دارای کمترین اثر آنتی‌اکسیدانی بود.

سوری و همکاران ۲۵ گیاه دارویی را از لحاظ آنتی‌اکسیدان مورد بررسی قرار دادند که سیاه‌دانه یکی از این گیاهان بود. گیاه سیاه‌دانه دارای اثر آنتی‌اکسیدانی زیادی بود (۲۳). نتایج تحقیق سوری و همکاران با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد.

Kumar و همکاران در سال ۲۰۱۸ میزان اثر آنتی‌اکسیدانی گیاه شاه‌تره را در غلظت ۱۲۵ تا ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر در برگ، ساقه، میوه و ریشه بررسی کرده‌اند. نتایج نشان می‌دهد عصاره هیدروالکلی برگ این گیاه بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی را دارد. بر این اساس می‌توان یکی از دلایل تفاوت میزان نتایج در تحقیقات مختلف را استفاده از قسمت‌های مختلف ساختار گیاهان، در آن تحقیقات عنوان کرد (۲۴).

حاجی محمدی و همکاران پس از بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی گیاه بابونه به این نتیجه رسیدند که این گیاه دارای کمترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی در بین سایر گیاهان کارشده در آن تحقیق است (۲۵).

بررسی نتایج مقالات مختلف نشان دهنده‌ی این مطلب بود که از لحاظ خاصیت آنتی‌اکسیدان با مطالعه‌ی حاضر تطابق دیده می‌شود.

اما از لحاظ خاصیت ضد میکروبی، تنها گیاه مورد و بابونه با این پژوهش مطابقت داشتند و گیاه سیاه‌دانه بجز در خصوص مهار باکتری *شریشیاکلی* در مابقی موارد دارای تطابق بود. همچنین در خصوص شاه‌تره گل‌ریز جز در خصوص مهار باکتری استافیلوکوک در مابقی موارد تطابق دیده نشد.

درخصوص علت عدم تطابق‌ها یکی از مهم‌ترین دلایل استفاده از نمونه بالینی بیماران بود و دلایلی چون شرایط

• References

- Ahmad I, Ahmad Khan M.S, Cameotra S.S. Quality assessment of herbal drugs and medicinal plant products. Encyclopedia of Analytical Chemistry: Applications, Theory and Instrumentation. 2014;1-17.
- Mekonnen A, Atlabachew M, Kassie B. Investigation of antioxidant and antimicrobial activities of *Euclea schimperii* leaf extracts. Chemical and Biological Technologies in Agriculture. 2018;5(1):1-2.
- Amin G, Khatamsaz M, Khanavi M, Zolfaghari B, Rahimi R, Soltani A et al. *Matricaria*. Journal of Traditional Medicine of Islam and Iran. 2011;161-64[in Persian].
- Hosseinpour M, Mobini-Dehkordi M, Saffar B, Teimori H. Antiproliferative effects of *Matricaria chamomilla* on *Saccharomyces cerevisiae*. Journal of HerbMed Pharmacology. 2013;2(2):49-51.
- Fallah hoseani H, Mohtashami R, Sadeghi Z, Saidi Y, Fallah hoseani A. A review of the pharmacological effects of *Nigella sativa*. Journal of medicinal plants. 2011;10(38):1-18. [in Persian].
- Jameel M, Ali A, Ali M. New phytoconstituents from the aerial parts of *Fumaria parviflora* Lam. Journal of advanced pharmaceutical technology & research. 2014;5(2):64.
- Azarbakht M, Ziaiihezarjeribi H, Abdollahi F, Shabankhani B, The effect of essential oil and methanolic extract of the plant on *Trichomonas vaginalis*. Journal of Gilan University of Medical Sciences. 2003;12(48) :8-13 [in Persian].
- Nassar MI, Aboutabl ES, Ahmed RF, El-Khrisy ED, Ibrahim KM, Sleem AA. Secondary metabolites and bioactivities of *Myrtus communis*. Pharmacognosy research. 2010;2(6):325.
- Vafadar Z, Malekmehdi R, Sabzalian M, Nikbakht A. Effect of salinity stress and harvesting time on morphological and physiological characteristics plant of *Myrtus communis*. Journal of plant process and function. 2018;6(23):23-33.[in Persian].
- Nozohor Y, Rasolifard M, RahmaniKahanmooi J, Faramarzi P. The effect of the antibacterial properties of the alcoholic extract of pine leaves on the bacteria isolated from the urine samples of people with urinary-genital infection. Journal of Infectious and Tropical Diseases of Iran. 2005;29:53-58.[in Persian].
- Woodford HJ, George J. Diagnosis and management of urinary infections in older people. Clinical medicine. 2011;11(1):80.
- Watanabe Y, Oikawa N, Hariu M, Fuke R, Seki M. Ability of procalcitonin to diagnose bacterial infection and bacteria types compared with blood culture findings. International Journal of General Medicine. 2016;9(1):325.
- Kang DK, Ali MM, Zhang K, Huang SS, Peterson E, Digman MA, Gratton E, Zhao W. Rapid detection of single bacteria in unprocessed blood using Integrated Comprehensive Droplet Digital Detection. Nature communications. 2014; 5(1): 5427.
- Di Franco S, Alfieri A, Pace MC, Sasone P, Pota V, Fittipaldi C, Fiore M, Passavanti MB. Blood stream infections from MDR bacteria. Life. 2021;11(6):575.
- Frieri M, Kumar K, Boutin A. Antibiotic resistance. Journal of infection and public health. 2017; 10(4):369-378.
- Fazelinasab B, Rahnama M, Mazarei A. Evaluation of the relationship between antioxidant properties and antimicrobial properties of extracts of 9 medicinal plants. Journal of Mazandaran University of Medical Sciences. 2017;27(149):63-78.[in Persian].
- Balouri M, Sadiki M, Ibsouda SK. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. Journal of pharmaceutical analysis. 2016;6(2):71-9.
- Holo A, Nazeri S. Evaluation of the antioxidant and antibacterial effects of the alcoholic extracts of the stem and leaves of the Black Guinea plant. Microbial world journal. 2015;7(4):289-298. [in Persian].
- Azizi Alidoust F, Anvari M, Ataei Jaliseh S. Antimicrobial Activity of Aqueous and Alcoholic Extracts of Chamomile, Fleawort, Aquatic Pennyroyal and Nettle Plants on *Klebsiella pneumoniae* and Comparing Their Effects with Common Antibiotics. Iranian Journal of Medical Microbiology. 2020;14 (4):361-373. [in Persian].
- Bhargava A, Shrivastava P, Tilwari A. investigation of antioxidant and antimicrobial activity of *fumaria parviflora* lam. Journal of Advanced Scientific Research. 2022;13(03):146-50.
- Bakal SN, Bereswill S, Heimesaat MM. Finding novel antibiotic substances from medicinal plants—antimicrobial properties of *Nigella sativa* directed against multidrug resistant bacteria. European Journal of Microbiology and Immunology. 2017;7(1):92-8.
- Masoumian M, Zandi M. Antimicrobial activity of some medicinal plant extracts against multidrug resistant bacteria. Zahedan Journal of Research in Medical Sciences. 2017;19(11).
- Sori E, Farsam H, Hasani M, Azimikharabadi Z. Evaluation of antioxidant activity of 25 plant seeds used in traditional Iranian medicine. Journal of medicinal plants. 2003;2(8): 27-33.[in Persian].
- Kumar S, Kamboj A, Sharma AK. Antioxidant evaluation of ethanolic extract of *Fumaria parviflora* Lam. obtained from root, stem, leaf and fruit and measurement of their total phenols and flavonoids. The Pharma Innovation Journal. 2018;7(4):577-9.
- Hajimohamadi M, Bagheri M. Comparison of the antioxidant activity of *Echium amoenum* Fisch and C.A. Mey, *Chamaemelum nobile* (L.) All and *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze on oleic acid photooxidation using water soluble porphyrin complexes as catalyst. Journal of new technologies in the food industry. 2017;4(4): 66-57. [in Persian].
- Amiri S, Rajabi M. An overview of the application of natural antimicrobial compounds from plant, animal and microbial origin in foods. FSCT. 2022;18(119):143-156. [in Persian].

Study of Antimicrobial and Antioxidant Effects and Phytochemical Characteristics of *Matricaria recutita* L., *Nigella sativa* L., *Fumaria parviflora* Lam and *Myrtus communis* L. Extracts on Pathogenic Bacteria from Human Blood and Urine Cultures

Lotfi Vanashi A¹, Ghamari F^{*2}, Farahmand S³, Jamshidi A³

1- MSc Student in Biology, Payame noor University, Tehran, Iran

2- *Corresponding author: Assistant Professor, Dept. of Biology, Payame noor University, Tehran, Iran
Email: fatemehghamari@pnu.ac.ir

3- Assistant Professor, Dept. of Biology, Payame noor University, Tehran, Iran

Received 7 Jan, 2023

Accepted 14 Apr, 2023

Background and Objectives: Medicinal plants are some of the most important sources of medicine in several countries. Urinary tract infection is one of the most common infections and blood infection is an important cause of death worldwide. Antibiotic resistance has increased as a fundamentally global problem that needs appropriate alternatives. *Fumaria parviflora* Lam, *Myrtus communis* L., *Matricaria recutita* L. and *Nigella sativa* L. are some of the most important plants in traditional medicine.

Materials & Methods: First, plants were powdered using electric grinder and then the hydroalcoholic extract was prepared using maceration method. After dispersing alcohol, this was lyophilized and three concentrations of 64, 160, and 220 mg/ml were prepared. Antimicrobial effects were assessed using disk diffusion method and antioxidants were investigated using DPPH method.

Results: The highest percentage of inhibition for the *Myrtus* was against *Escherichia coli* bacteria (86%) and *Pseudomonas aeruginosa* (100%) compared to gentamicin and 100% resistance was observed for *Staphylococcus aureus* compared to erythromycin. *Nigella sativa* included the highest antioxidant effect (nearly 60%) and *Myrtus* with 43% had the lowest antioxidant effect. Using Gas chromatography-mass spectrometry, it was detected that the most effective substances in *Myrtus*, *Nigella sativa*, *Fumaria parviflora* and *Matricaria* respectively were benzotriol (30.97%), octadecadienoic acid (44.35%), pyran (13.26%) and benzopyran (50.24%).

Conclusion: *Myrtus* plant includes the most antimicrobial effects and *Nigella sativa* includes the most antioxidant effects.

Keywords: Antioxidant, Diffusion disk, Blood infection, Urinary tract infections, Herbal medicine, DPPH