



Research Article

Antibacterial Activity of Methanolic Extract of Some Native Medicinal Herbs of North Khorasan Province on *Staphylococcus aureus*Peiman Alesheikh ¹ , Pouyan Feyzi ², Parastoo Zarghami Moghaddam ³, Ameneh Mohammadi ⁴, Jamal Kasaian ⁵, Asma Asad Nezhad ^{6,*} , Mahsa Taheri Bazkhane ^{6,*} ¹ Ph.D of Chinese Medicine, Natural Products and Medicinal Plants Research Center, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran² Ph.D of Chemical Engineering, Chemical and Petroleum Engineering Department, Sharif University of Technology, Tehran, Iran³ Ph.D Student of Microbiology, Natural Products and Medicinal plants Research Center, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran⁴ Ms of Phytochemistry, Natural Products and Medicinal Plants Research Center, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran⁵ Ph.D of Biotechnology, Natural Products and Medicinal Plants Research Center, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran⁶ BS of Laboratory Science, Natural Products and Medicinal Plants Research Center, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran*** Corresponding authors:** Asma Asad Nezhad, BS of Laboratory Science, Natural Products and Medicinal Plants Research Center, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran. E-mail: asma.asadnezhad7272@gmail.com AND Mahsa Taheri Bazkhane, BS of Laboratory Science, Natural Products and Medicinal Plants Research Center, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran. E-mail: mahsataheri613@gmail.comDOI: [10.29252/nkjmd-110209](https://doi.org/10.29252/nkjmd-110209)**How to Cite this Article:**Alesheikh P, Feyzi P, Zarghami Moghaddam P, Mohammadi A, Kasaian J, et al. Antibacterial Activity of Methanolic Extract of Some Native Medicinal Herbs of North Khorasan Province on *Staphylococcus aureus*. *J North Khorasan Univ Med Sci*. 2019; **11**(2):59-65. DOI: 10.29252/nkjmd-110209**Received:** 11 Sep 2018**Accepted:** 19 Feb 2019**Keywords:**Antibacterial Activity
Medicinal Plants
endocarp of walnut
Scutellaria pinnatifida
Staphylococcus aureus

© 2019 North Khorasan Medical Sciences

Abstract**Introduction:** Due to the increased antibiotic resistance of bacteria due to the uncontrolled use of antibiotics and the self-permeability of antibiotics, finding effective drugs with less complications is very important. Since traditional plants have good antibacterial properties, we decided to investigate the effect of methanolic extract of some samples from herbal plants of North Khorasan Province on *Staphylococcus aureus*.**Methods:** Plants were collected from different parts of North Khorasan and dried in shade. After being powdered in a solvent of methanol soaked for 48 hours, the solvent was evaporated by rotary device. After drying, the extracts were dissolved in DMSO and added to the blanc discs and prepared wells. Then, the discs containing the extract were placed on the medium of the Mueller Hinton agar culture medium, cultured with *Staphylococcus aureus*, from DMSO as negative control and gentamicin as positive control and incubated for 24 hours and finally, the diameter of the bacterial inhibition zone Measured in millimeters.**Results:** The studied plants showed antibacterial properties against gram positive bacteria of *Staphylococcus aureus*, among which *Scutellaria pinnatifida* and *endocarp of walnut* had the most antibacterial activity.**Conclusions:** Comparison of the results showed that the diameter of the no-growth zone of *Scutellaria* and interstitial wood of walnut was the highest in comparison with others, which can be used for the antibacterial properties of these two herbs as an alternative to antibiotics and also natural food preservatives Made.



فعالیت ضد باکتریایی عصاره متانولی چند نمونه از گیاهان دارویی بومی استان خراسان

شمالی بر روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس

پیمان آل‌شیخ^۱، پویان فیضی^۲، پرستو ضرغامی‌مقدم^۳، آمنه محمدی^۴، جمال کسائیانی^۵،
 اسما اسدنزاد^{۶*}، مهسا طاهری بازخانه^۶

^۱ دکتری تخصصی طب چینی، مرکز تحقیقات فرآورده‌های طبیعی و گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران

^۲ دکتری تخصصی مهندسی شیمی، دانشکده مهندسی شیمی و نفت، دانشگاه صنعتی شریف، تهران، ایران
^۳ دانشجوی دکتری تخصصی میکروبیولوژی، مرکز تحقیقات فرآورده‌های طبیعی و گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران

^۴ کارشناسی ارشد فیتوشیمی، مرکز تحقیقات فرآورده‌های طبیعی و گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران

^۵ دکتری تخصصی زیست فناوری، مرکز تحقیقات فرآورده‌های طبیعی و گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران

^۶ کارشناسی علوم آزمایشگاهی، مرکز تحقیقات فرآورده‌های طبیعی و گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران

* نویسندگان مسئول: اسما اسدنزاد، کارشناسی علوم آزمایشگاهی، مرکز تحقیقات فرآورده‌های طبیعی و گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران. ایمیل: asma.asadnezhad7272@gmail.com و مهسا طاهری بازخانه، کارشناسی علوم آزمایشگاهی، مرکز تحقیقات فرآورده‌های طبیعی و گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران. ایمیل: mahsataheri613@gmail.com

DOI: 10.29252/nkjms-110209

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۶/۲۰	چکیده
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۱/۳۰	مقدمه: با توجه به افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری‌ها به دلیل استفاده بی‌رویه و خود سرانه آنتی‌بیوتیک‌ها، یافتن داروهای مؤثر با عوارض کمتر بسیار حائز اهمیت است. از آنجایی که گیاهان سنتی دارای خواص ضد باکتریایی خوبی هستند بر آن شدیم تأثیر عصاره متانولی چند نمونه از گیاهان دارویی استان خراسان شمالی را بر باکتری بیماری‌زای استافیلوکوکوس اورئوس بررسی کنیم.
واژگان کلیدی: فعالیت ضد باکتریایی گیاهان دارویی چوب بینابینی گردو <i>Scutellaria pinnatifida</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	روش کار: گیاهان از مناطق مختلف خراسان شمالی جمع آوری و در سایه خشک شدند. پس از پودر کردن به مدت ۴۸ ساعت در حلال متانول خیسانده، سپس حلال توسط دستگاه روتاری تبخیر شد. پس از خشک شدن، عصاره‌ها در DMSO حل شده و به دیسک‌های بلانک و چاهک‌های آماده شده افزوده شد. سپس دیسک‌های حاوی عصاره روی محیط مولر هینتون اگر کشت داده شده توسط باکتری استافیلوکوکوس اورئوس قرار داده شد، از DMSO به عنوان کنترل منفی و جنتامایسین به عنوان کنترل مثبت استفاده گردید و به مدت ۲۴ ساعت انکوبه و در نهایت قطر هاله عدم رشد باکتری بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری شد.
تمامی حقوق نشر برای دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی محفوظ است.	یافته‌ها: گیاهان بررسی شده خواص آنتی‌بیوتیکی قابل قبولی در برابر باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس از خود نشان دادند که از این میان <i>Scutellaria pinnatifida</i> و چوب بینابینی گردو دارای بیشترین فعالیت ضد باکتریایی بودند.
	نتیجه‌گیری: مقایسه نتایج نشان داد که قطر هاله عدم رشد گیاه اسکوتلاریا و چوب بینابینی گردو بالاترین میزان را نسبت به سایرین داشته که می‌توان از خواص ضد باکتریایی این دو گیاه به عنوان جایگزین آنتی‌بیوتیک‌ها و همچنین نگهدارنده‌های طبیعی مواد غذایی استفاده نمود.

مقدمه

معمولاً میکروب‌های عامل عفونتهای بیمارستانی به درمان مقاومند. از سال ۱۹۸۰ میکروارگانیزم‌های گرم مثبت به خصوص استافیلوکوکوس اورئوس/ها به عنوان عامل اصلی عفونتهای بیمارستانی پدیدار شدند [۱]. استافیلوکوکوس اورئوس (*Staphylococcus aureus*) به عنوان

عفونت بیمارستانی یکی از دلایل اصلی مرگ و همچنین افزایش دوران نقاهت می‌باشد. بر اساس تحقیقی که سازمان بهداشت جهانی در ۵۵ بیمارستان در ۱۴ کشور به انجام رسانده نشان می‌دهد که میانگین ۸٫۶٪ از بیماران بستری شده، مبتلا به عفونت بیمارستانی شده‌اند.

یک پاتوزن چند ظرفیتی و از عوامل ایجاد کننده بیماری در بیمارستانها و سطح جامعه می باشد [۲]. این باکتری قادر است از عفونت های نسبتاً خفیف تا عفونت های سیستمیک تهدید کننده حیات را ایجاد کند. با توجه به ساختار ژنوم این باکتری، سویه های مقاوم و بیمارزا در حال گسترش می باشند. *استافیلوکوکوس اورئوس* در ایجاد عفونت های بیمارستانی و جامعه طیف گسترده ای را در بر می گیرد [۳]. این عفونت ها شامل عفونت های بافت نرم، عفونت های پوستی، کورک، کفگیرک، اندوکاردیت، استنومیلیت و مسمومیت های غذایی می باشد [۴]. علاوه بر بیماری های ذکر شده، از دیگر دلایل اهمیت این باکتری، مقاومت های آنتی بیوتیکی شاخص آن است که این امر به دلیل استفاده بی رویه از آنتی بیوتیک ها، وجود توانایی بالا در تبادلات ژنتیکی و حضور انواع پلاسمیدهای مقاومتی است [۵]. در اوایل دهه ۱۹۸۰ سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین (MRSA) به عنوان یکی از مهمترین عوامل ایجاد کننده عفونت های بیمارستانی مطرح گردید [۶]. در حال حاضر روز به روز مقاومت های آنتی بیوتیکی در بین جوامع در حال افزایش می باشد و یافتن جایگزین مناسبی با عوارض جانبی پایین از اهمیت زیادی برخوردار است. به همین دلیل استفاده از عصاره های گیاهی مختلف که دارای خواص ضد باکتریایی هستند بسیار رواج یافته است [۷]. به گزارش سازمان جهانی بهداشت، ۸۰٪ مردم جهان جهت درمان اولیه بیماری های خود از گیاهان دارویی سنتی استفاده می کنند [۸]. در ایران از دیر باز استفاده از گیاهان دارویی جهت درمان بسیاری از بیماری ها کاربرد داشته است و امروزه در بسیاری از جوامع پیشرفته نیز از ترکیبات گیاهی مختلف جهت مقابله با میکروارگانیسم های بیماری زا استفاده می گردد [۹]. لذا در مطالعه حاضر بر آن شدیم تا اثر ضد باکتریایی چند گیاه دارویی جمع آوری شده از منطقه خراسان شمالی (که تعدادی از آنها بومی ایران به ویژه منطقه خراسان شمالی می باشد)، را بررسی کنیم. گیاهان مورد بررسی شامل *Euphorbia monostyla*, *Cleome coluteoides*, *Scutellaria pinnatifida*, *Rubia*, *Dracocephalum kotschy*, *Vincetoxicum nigrum*, *Cyperus Longus Florida* و چوب بینابینی گردو می باشد.

جنس علف مار (Cleome) از تیره Capparidaceae گیاهان علفی یک ساله یا پایا و به صورت درختچه و غالباً با پوشش غده ای هستند. در تحقیقات انجام شده در سایر نقاط جهان مشخص شده است که برخی از گونه های این گیاه نظیر *C. hirta*, *C. drosifolia*, *C. gunandra*, *C. chrysantha*, *gynandropsis* و چندین گونه دیگر اثرات ضدباکتری داشته و بومیان از برخی گونه های آن به عنوان داروی سنتی استفاده می نمایند [۱۰]. فریفیون (*Euphorbia monostyla*) از خانواده Euphorbiaceae گیاهی یک ساله، دارای ساقه های کوتاه و نسبتاً ضخیم، ریشه آن اثر قوی آور، مسهل و دانه اش اثر مسهلی دارد. از شیرابه گیاه جهت از بین بردن زگیل استفاده می شود. به علاوه به صورت لینیمان برای تسکین دردهای عصبی و درمان روماتیسم مصرف می گردد، ریشه آن برای دفع کرم به کار می رود. فریفیون یا افوربیا یا همان شیرسگ گیاهی است خودرو که در تمام مناطق ایران بعنوان علف هرز می روید. فریفیون دارای اثر ضد لیشمانیایی بر علیه پروماستیگوت های لیشمانیا ماژور می باشد و گیاهی است که برخی از برزیلی ها معتقدند که می تواند زگیل را درمان کند. *Scutellaria*

pinnatifida از جنس اسکوتلاریا بوده که بومی ایران می باشد [۱۱]. از این جنس در درمان بیماری های مختلف از جمله سرطان استفاده می شود و فلاونوئیدهای آن اهمیت درمانی دارند و عمده ترکیبات ریشه گیاه *S. pinnatifida* مشتمل بر دو فلاونوئید wogonin و Skullcapflavone II است [۱۲]. گزارشات بسیاری راجع به اثرات آنتی اکسیدانتی [۱۳] ضد باکتری [۱۴] ضد ویروس [۱۵] ضد تومور [۱۶] ضد تشنج و ضد اضطراب از گیاهان این جنس گزارش شده است. *Dracocephalum kotschy* با نام محلی زرین گیاه و یا بادرنجبویه دنیایی از از تیره نعناعیان است که امروزه به منظور بهره برداری های تزئینی، طبی و تولید عسل، این گیاه را در باغ ها و مزارع کشت می کنند از تمامی قسمت های رویشی گیاه جهت کاربردهای دارویی استفاده می گردد. در طب سنتی ایران، گیاه به عنوان یک درمان برای اختلالات معده استفاده می شود. مفید بودن آن برای سردرد، احتقان و اختلالات کبدی نیز در اسناد پزشکی سنتی توصیف شده است [۱۷]. گیاه چند ساله روناس با نام علمی *Rubia Florida*، گیاهی عمدتاً صنعتی است که در زمان گذشته در صنعت رنگرزی مورد استفاده قرار می گرفته است [۱۸]. همچنین این گیاه دارای ویژگی های دارویی ضد سرطان و نقرس است. روناس گیاهی بسیار مقاوم در برابر شوری و گرما بوده و در این مناطق رشد بسیار خوبی دارد. بیشتر جنس ها و گونه ها در مناطق استوایی و نیمه استوایی و محدودی در مناطق معتدله سرد یافت می شوند [۱۹]. این گیاه در ناراحتی های کلیوی و مثانه مورد استفاده قرار گرفته و ضد عفونی کننده و آرامش بخش است. این گیاه اثر ضد باکتریایی بیشتری بر روی باکتری های گرم مثبت دارد [۲۰]. گیاه اویار سلام *Cyperus Longus* نیز که یک علف هرز دارویی محسوب می شود، از دیرباز توسط روستائیان جهت درمان بیماری های مختلف به ویژه درمان ناراحتی های پوستی مانند اگزما و گال و همچنین رفع خارش کاربرد فراوان داشته است. اویار سلام گیاهی یکساله است که اغلب در شالیزارها یافت می شود. ارتفاع این گیاه به ۷۰ سانتی متر می رسد، و میوه آن گندمه بیضی شکل و به رنگ قهوه ای است. این گیاه بومی آفریقا، اروپای مرکزی و جنوبی و دارای خواص متعددی است. مصرف آن بینایی را تقویت و ناراحتی های چشمی را برطرف می کند، مصرف پودر اویار سلام سیستم گوارشی را بهبود می بخشد و انگل روده را دفع می کند و بهترین گیاه برای درمان تب محسوب می شود [۲۱]. بنفشه معطر *Viola odorata* نام یک گونه از خانواده Violaceae است و به اسم بنفشه شیرین و بنفشه انگلیسی شناخته می شود [۲۲]. گیاهی علفی، پایا، با جوانه های ریشه دار و بلند است. برگ های آن دارای دمبرگی بلند و پهنک برگی به شکل قلب هستند. گل های آن معطر و به رنگ بنفش است. آن ها نیز دمبرگ های بلندی دارند. میوه ی آن به صورت کپسول است. این گیاه از قدیمی ترین گیاهان دارویی است که از آن برای مداوای ورم ها، صرع و سرفه و گلودرد استفاده می کرده اند و دارای خواص ادرار آور، ضد تب و ملین است [۲۳]. *Vincetoxicum nigrum* از خانواده Asclepiadaceae می باشد که در طب سنتی به عنوان مدر و ادرار آور و درمان کننده تب های درونی استفاده می شود. این جنس شامل آلکالوئیدها می باشد که می توانند به عنوان آنتی بیوتیک به کار روند [۲۴]. بخش های مختلف گردو با نام علمی *Juglans regia* از جمله مغز میوه آن، پوست میوه و چوب خشک شده وسط مغز میوه دارای خواص متعددی

مولر هینتون آگار (MHA) تهیه و کشت داده شد. جهت سنجش خاصیت ضد باکتریایی از روش دیسک استفاده شد. در روش دیسک، از کلنی ۲۴ ساعته باکتری کشت شده مورد آزمایش در محیط کشت به کمک لوپ برداشته و در لوله آزمایش استریل حاوی ۵ میلی لیتر سرم فیزیولوژی استریل کاملاً مخلوط گردید، سپس سوسپانسیون یکنواختی از باکتری‌های مورد آزمایش مشابه کدورت لوله استاندارد نیم مک فارلند تهیه شده و توسط سوآپ بر روی محیط‌های مولر هینتون آگار به صورت چمنی کشت داده شد. جهت تهیه دیسک‌های حاوی عصاره، ۵۰ میکرولیتر از عصاره با غلظت (۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر) را که در DMSO حل شده‌اند، بر روی دیسک‌های استریل پلانک اضافه و به مدت ۱ ساعت زمان داده شد تا عصاره‌ها کاملاً جذب دیسک‌های کاغذی شوند. سپس دیسک‌ها روی پلیت به فواصل مناسبی قرار داده شد و به مدت ۱۸ ساعت در ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه گردید. در این مطالعه از جنتامایسین به عنوان کنترل مثبت و از DMSO به عنوان کنترل منفی استفاده شد و آزمون‌ها ۳ بار تکرار شدند [۳۰].

روش چاهک: بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره به روش چاهک پلیت انجام شد. در این روش هم از پلیت‌های حاوی محیط کشت مولر هینتون آگار که آغشته به میکروارگانیسم بودند استفاده شد. توسط یک پیپت پاستور استریل که مخصوص ایجاد چاهک است، یک حفره در محیط کشت ایجاد کرده و داخل هر چاهک با سمپلر ۵۰ لاندا از عصاره‌ها به طور جداگانه افزوده شد. سپس پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتیگراد قرار داده شدند. عملیات مذکور در مورد هر نمونه سه بار تکرار گردید، پس از آن میزان مناطق مهارى مورد ارزیابی قرار گرفت و بر اساس میلی متر محاسبه گردید [۳۰].

در علوم دارویی و خصوصیات ضد باکتریایی و ضد اکسایشی می‌باشند، مغز گردو باعث کاهش تری گلیسرید و افزایش HDL خون می‌شود [۲۶، ۲۷]. اثر ضد التهابی، ضد اکسیدانی، ضد سرطان، مدر و ملینى عصاره‌ی پوست درخت گردو در تعدادی از مطالعات بررسی شده است [۲۸]. پوست سخت و تیره داخلی گردو که مغز آن را به چهار قسمت تقسیم می‌کند. در طب سنتی ایران برای درمان افزایش تری گلیسرید خون استفاده می‌شده است [۲۹].

روش کار

تهیه گیاهان دارویی: در بررسی حاضر چند گیاه دارویی از مناطق مختلف خراسان شمالی جمع آوری گردید و پس از شناسایی، یک نمونه هر بار بیومی در هر بار بیوم مرکز تحقیقات فرآورده‌های طبیعی و گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، نگهداری شد که در جدول ۱، ویژگی‌های آن‌ها ذکر گردیده است.

تهیه عصاره متانولی گیاهان دارویی: پس از جمع آوری گیاهان از مناطق مختلف استان خراسان شمالی، گیاهان در سایه خشک شده، سپس پودر گردیده و به مدت ۴۸ ساعت در حلال متانول خیسانده شدند، سپس عصاره حاصل صاف شده و مجدداً بر روی گیاه حلال متانول ریخته و بعد از ۲۴ ساعت، عصاره آن جدا شد. سپس عصاره حاصل توسط دستگاه روتاری حذف حلال شده و جهت بررسی‌های بعدی در ظروف استریل در یخچال نگهداری گردید.

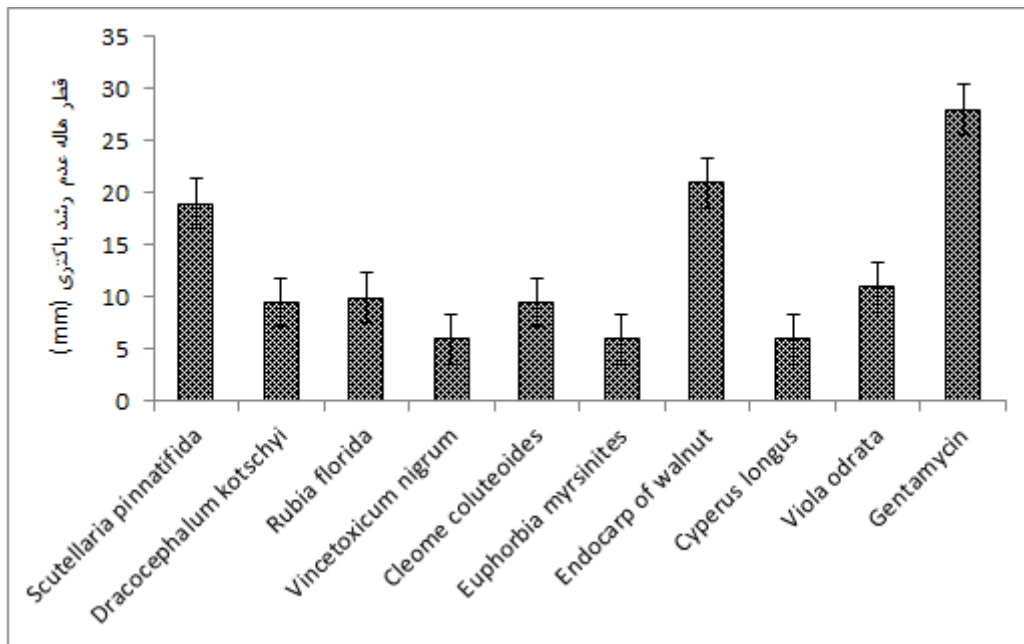
بررسی ممانعت کنندگی رشد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس: روش دیسک دیفیوژن: در این مطالعه باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس (PTCC 1431) از مرکز پژوهش‌های علمی صنعتی ایران تهیه گردید و از ۲۴ ساعت قبل از تست، به طور تازه در محیط کشت

جدول ۱: مشخصات گیاهان جمع آوری شده در مطالعه

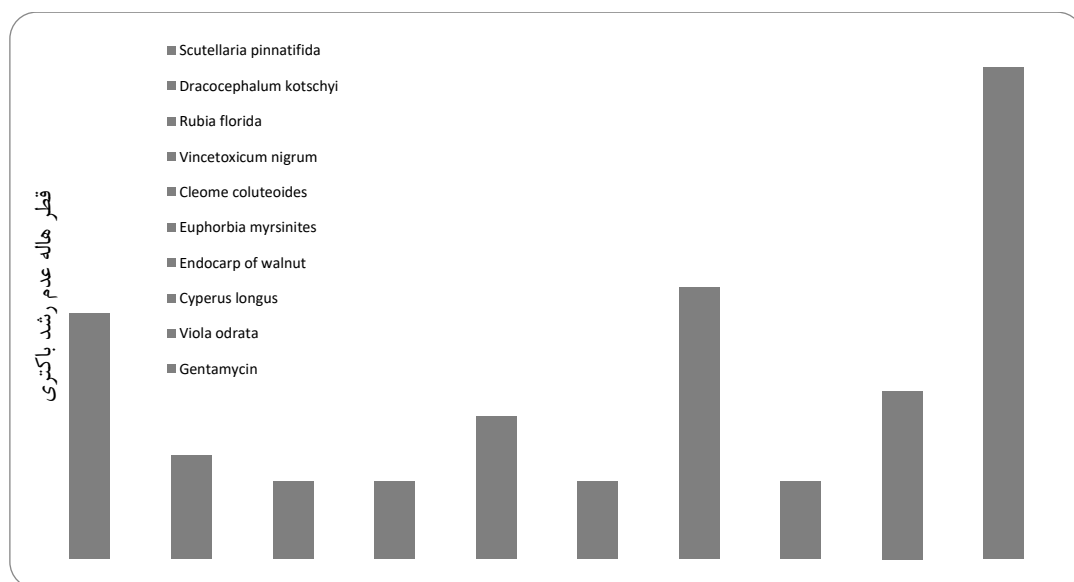
نام علمی گیاه	نام فارسی	مرحله رشد گیاه	کاربرد گیاه در طب سنتی منطقه
<i>Scutellaria pinnatifida</i>	بشقابی سنبله‌ای	گلدهی	ضد التهاب، سم زدا
<i>Dracocephalum kotschy</i>	زرین گیاه	گلدهی	درمان اختلالات معده و کبد
<i>Rubia florida</i>	روناس صخره زی	قبل گلدهی	صنعت رنگرزی، درمان ناراحتی کلیه و مثانه
<i>Vincetoxicum nigrum</i>	تریاقی خراسانی	قبل گلدهی	مدر، و درمان کننده تب
<i>Cleome coluteoides</i>	علف مار	بعد گلدهی	مدر، مقوی معده و ضد کرم
<i>Euphorbia myrsinites</i>	فرفیون	گلدهی	ضد لیشمانیا و از بین برنده زگیل
<i>Endocarp of walnut</i>	چوب بینابینی گردو	میوه	درمان افزایش تری گلیسرید خون
<i>Cyperus longus</i>	اویارسلام	گلدهی	درمان ناراحتی‌های پوستی
<i>Viola odrata</i>	بنفشه معطر	گلدهی	سرفه و گلودرد

جدول ۲: اندازه قطر هاله عدم رشد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در دو روش دیسک و چاهک بر حسب میلی متر

عصاره متانولی گیاه	قطر هاله عدم رشد در روش دیسک دیفیوژن	قطر هاله عدم رشد در روش چاهک
<i>Scutellaria pinnatifida</i>	۱۹±۰/۵۷	۱۹±۰/۴۴
<i>Dracocephalum kotschy</i>	۹/۵±۰/۴۸	۸±۰/۳۸
<i>Rubia florida</i>	۱۰±۰/۳۹	۶±۰/۳
<i>Vincetoxicum nigrum</i>	۶±۰/۳۲	۶±۰/۰
<i>Cleome coluteoides</i>	۹/۵±۰/۶	۱۱±۰/۵۷
<i>Euphorbia myrsinites</i>	۶±۰/۵۱	۶±۰/۳۲
<i>Endocarp of walnut</i>	۲۱±۰/۴۴	۲۱±۰/۳۹
<i>Cyperus longus</i>	۶±۰/۳۸	۶±۰/۰
<i>Viola odrata</i>	۱۱±۰/۶۱	۱۳±۰/۵۷
<i>Gentamycin</i>	۲۱±۰/۵۴	۲۸±۰/۵۴



تصویر ۱: مقایسه عصاره متانولی گیاهان مختلف بر روی رشد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در روش دیسک دیفیوژن



تصویر ۲: مقایسه عصاره متانولی گیاهان مختلف بر روی رشد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در روش چاهک

بحث

با توجه به نتایج به دست آمده مشاهده می‌شود که خاصیت ضد باکتریایی *Scutellaria pinnatifida* و چوب بینابینی گردو بیشتر از سایر گیاهان می‌باشد که علت را باید در ترکیبات این دو جست و جو کرد. در تحقیقات انجام شده بر روی گونه‌های مختلف *Scutellaria* مشخص شده است که فلاونوئیدهای باپکالین، باپکالین، آپی ژنین و لوتنولین موجود در این جنس، مسئول اثرات ضد میکروبی آنها هستند [۳۱]. بنابراین شاید بتوان بروز اثرات ضد میکروب در گونه مورد مطالعه در این تحقیق را نیز به ترکیبات فلاونوئیدی و پلی فنولی آن نسبت داد، چرا که در مطالعات انجام شده بر روی ریشه این گیاه دو فلاونوئید و گونین و نئوبایکالین جدا شده است و احتمالاً به دلیل حضور این دو فلاونوئید در اندام هوایی گیاه، این خاصیت بالای ضد باکتریایی مشاهده

یافته‌ها

با توجه به هاله عدم رشد باکتری در روش دیسک در جدول ۲ و تصویر ۱، خواص ضد باکتریایی گیاهان فوق در مقایسه با جنتامایسین به عنوان کنترل مثبت به ترتیب:

endocarp of walnut > *Scutellaria pinnatifida* > *Viola odrata* > *Rubia florida* > *Dracocephalum kotschyi* = *Cleome coluteoides* > *Vincetoxicum nigrum* = *Euphorbia myrsinites* می‌باشد.

با توجه به هاله عدم رشد باکتری در روش چاهک در جدول ۲ و تصویر ۲، مشاهده شد بیشترین خاصیت آنتی باکتریال مربوط به گیاهان *Scutellaria pinnatifida* و *endocarp of walnut* است. نتایج حاصل از دو روش دیسک و چاهک با یکدیگر مطابقت دارند.

شده است [۳۲]. طی بررسی‌های انجام شده توسط فضلی بزاز و همکاران در سال ۲۰۱۱ بر روی عصاره‌های مختلف این گیاه مشاهده شد که عصاره متانولی دارای بیشترین مقدار ترکیبات فنلی می‌باشد و پس از آن عصاره اتیل استاتی و در نهایت عصاره دی کلرومتانی دارای بالاترین میزان ترکیبات فنلی می‌باشند. مطالعات نشان دهنده این است که در اندام هوایی گیاه، عصاره اتیل استاتی که دارای محتوای فنلی کمتری از عصاره متانولی است، نسبت به سایر عصاره‌ها بیشترین اثر را داشته و عصاره دی کلرومتانی کمترین اثر را نشان داد. که نتایج این آزمایش با مطالعات بر روی گونه *Scutellaria Litwinowii* مطابقت داشت، به طوریکه مشخص شده بود که عصاره‌های اتیل استات و متانولی این گیاه خاصیت ضد باکتریایی بیشتری از عصاره دی کلرومتانی دارا بودند [۳۳]. لذا در مطالعه حاضر نیز عصاره متانولی مورد بررسی قرار گرفت، که در این مطالعه عصاره متانولی گونه *pinnatifida* S. نسبت به دیگر گیاهان بالاترین خاصیت ضد باکتریایی بر روی باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* دارا بود. دومین گیاهی که از بالاترین خاصیت را نشان داد، عصاره متانولی چوب بینابینی گردو بود که طبق مطالعات انجام شده بر روی این گیاه، عصاره متانولی اندام چوب بینابینی نسبت به سایر عصاره‌ها از بیشترین خاصیت ضد باکتریایی برخوردار بوده است. در حالیکه در پوست سبز گردو، عصاره اتیل استاتی بیشترین خاصیت ضد باکتریایی است. در بررسی دیگری بر روی پوست سبز گردو، بیشترین خاصیت ضد باکتریایی آن مربوط به عصاره اتانولی بود [۳۴]. نتایج تست ضد باکتریایی انجام شده بر روی اسانس گیاه *cleom.L* توسط دکتر مظفری به این شرح است: اثرات باز دارندگی به میزان ۴۶ میلی‌متر روی باکتری *باسیلوس سرئوس* و ۱۸ میلی‌متر اثر روی باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* مشاهده شد، احتمالاً این میزان اختلاف در نتایج به دست آمده در تحقیق ما و دکتر مظفری به دلیل تفاوت مواد موثره گیاه و ناشی از تفاوت جغرافیایی می‌باشد. در بررسی ضد باکتریایی عصاره‌های مختلف گونه دیگری از جنس *Euphorbia* به نام *Euphorbia milii* بر روی باکتری‌های گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* و *باسیلوس سوبتیلیس* و باکتری‌های گرم منفی *اشرشیا کلای* و *پروتئوس و لگاریس* نشان داد که عصاره‌های هگزان، متانولی و استونی اثر مهاری بیشتری نسبت به عصاره‌های آبی و اتیل استاتی روی باکتری های گرم مثبت و گرم منفی دارند [۳۵]. طبق تحقیقات مهدی مریدی و همکاران گیاه *Dracocephalum kotschyi* با حداقل میزان غلظت مهاری 2 mg mL^{-1} اثر مهاری خوبی بر روی *استافیلوکوکوس اورئوس* دارد که مطابق با نتایج ما می‌باشد [۳۶]. طی تحقیقات انجام شده در مورد فعالیت ضد باکتریایی گیاه *Dracocephalum Moldavica* بر روی باکتری‌های *سالمونلا تیفی*، *اشرشیا کلای*، *لیستریا مونوسیتوزنز* و *استافیلوکوکوس اورئوس* مشاهده شد که *استافیلوکوکوس اورئوس* حساس‌ترین و *اشرشیا کلی* مقاوم‌ترین باکتری نسبت به این گیاه هستند [۳۷]. بهمن گرمه و همکارش در سال ۱۳۹۷ فعالیت ضد باکتری عصاره اتیل استاتی گیاه *Rubia Florida* را بر علیه باکتری

استافیلوکوکوس اورئوس بررسی کردند، طبق این تحقیق هاله عدم رشد عصاره اتیل استاتی این گیاه ۱۰ میلی متر اندازه گیری شد [۳۸]. در مطالعه ما عصاره متانولی مورد بررسی قرار گرفت. در بررسی ضد باکتریایی بر روی *Rubia Cordifolia* مشخص شد که عصاره اتانولی این گیاه خاصیت بالایی بر روی باکتری گرم منفی *اشرشیاکلی* دارد. مطالعات بسیاری بر روی گونه‌های مختلف جنس *Rubia* صورت گرفته است [۳۹]. طبق مطالعات انجام شده، عصاره اتانولی *Rubia cordifolia* دارای خاصیت ضد باکتریایی خوبی روی باکتری *اشرشیاکلی* می‌باشد. در بررسی فیتوشیمیایی گیاه *Rubia cordifolia* حضور فلاونوئیدها، آنتوسیانین‌ها، فنل‌ها، استروئیدها و آنتراکینون‌ها به اثبات رسیده است [۴۰]. در بررسی دیگری مشخص شد که عصاره متانولی ریشه این گیاه از خاصیت ضد باکتریایی بالایی برخوردار است [۴۱]. در سال ۲۰۰۸، بهمن نیک‌آور و همکاران، مواد تشکیل دهنده اسانس و اثرات ضد میکروبی ریزوم گیاه *Cyperus rotundus Linn* را مورد بررسی قرار دادند و مشاهده کردند که تنها روی باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* و میکروکوکوس *لوتئوس* مؤثر می‌باشد [۴۲]. *Viola Odorata* دارای خواص ضد باکتریایی در برابر پاتوژن‌های دستگاه تنفسی از جمله: هموفیلوس *انفلونزا*، *استرپتوکوکوس پنومونیه*، *سودوموناس اثرئوزنوا*، *استافیلوکوکوس اورئوس* (۱۶ میلی متر) و *استرپتوکوکوس پیوژنز* می‌باشد (۲۴ میلی متر) که با نتایج حاصل از مطالعه مذکور اندکی تفاوت دارد که احتمالاً به دلیل تأثیر تفاوت جغرافیایی بر روی ساختار شیمیایی مواد مؤثره می‌باشد. زیدی و همکاران اثر آنتی باکتریال و ضد قارچی عصاره متانولی *Vincetoxicum stocksii* را بر روی ۱۲ گونه قارچ و ۱۲ گونه باکتری بررسی کردند. طبق نتایج به دست آمده این گیاه دارای اثرات ضد میکروبی قابل توجه در برابر *باسیلوس سوبتیلیس* و *کاندیدا آلبیکنز* و فعالیت متوسط در برابر *اشرشیاکلی* است در حالی که هیچ اثری روی *استافیلوکوکوس* ندارد [۴۳].

نتیجه‌گیری

در مجموع با توجه به نتایج حاصل از بررسی فعالیت ضد باکتریایی گیاهان دارویی مختلف در این پژوهش، *Scutellaria pinnatifida* و سپس چوب بینابینی گردو *Juglans regia* از بیشترین میزان فعالیت ضد باکتریایی برخوردار بودند که مطالعه بر روی سایر زمینه‌های علمی پیشنهاد می‌گردد.

سپاسگزاری

از همکاری کارشناسان محترم مرکز تحقیقات فرآورده‌های طبیعی و گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی در اجرای این آزمایش کمال تشکر را داریم. این مقاله برگرفته شده از طرح‌های پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی با کدهای ۸۶۶، ۹۴، ۷۴۵، ۹۲، ۹۶۹ پ ۹۶ می‌باشد.

References

- Silva EC, Antas M, Monteiro BNA, Rabelo MA, Melo FL, Maciel MA. Prevalence and risk factors for *Staphylococcus aureus* in health care workers at a university hospital of Recife-PE. *Braz J Infect Dis*. 2008;12(6):504-8. [pmid: 19287839](#)
- Shittu AO, Okon K, Adesida S, Oyedara O, Witte W, Strommenger B, et al. Antibiotic resistance and molecular epidemiology of *Staphylococcus aureus* in Nigeria. *BMC Microbiol*. 2011;11:92. [doi: 10.1186/1471-2180-11-92](#) [pmid: 21545717](#)
- Hamdan-Partida A, Sainz-Espunes T, Bustos-Martinez J. Characterization and persistence of *Staphylococcus aureus* strains isolated from the anterior nares and throats of healthy carriers in a Mexican community. *J Clin Microbiol*. 2010;48(5):1701-5. [doi: 10.1128/JCM.01929-09](#) [pmid: 20335416](#)
- Lowy FD. Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Invest*. 2003;111(9):1265-73. [doi: 10.1172/JCI18535](#) [pmid: 12727914](#)
- Chambers HF, Deleo FR. Waves of resistance: *Staphylococcus aureus* in the antibiotic era. *Nat Rev Microbiol*. 2009;7(9):629-41. [doi: 10.1038/nrmicro2200](#) [pmid: 19680247](#)
- Espinal MA, Laszlo A, Simonsen L, Boulhbal F, Kim SJ, Reniero A, et al. Global trends in resistance to antituberculosis drugs. World Health Organization-International Union against Tuberculosis and Lung Disease Working Group on Anti-Tuberculosis Drug Resistance Surveillance. *N Engl J Med*. 2001;344(17):1294-303. [doi: 10.1056/NEJM200104263441706](#) [pmid: 11320389](#)
- Majnooni M, Abiri R, Afanzade N, Malek Khatabi P. [Study of antibacterial effects of hydro- alcoholic extract of 8 medicinal herbs against vancomycin resistant *staphylococcus aureus*]. *J Med Plants*. 2012;1(103-110).
- Vashist H, Jindal A. Antimicrobial activities of medicinal plants - Review. *Int J Res Pharma Biomed Sci*. 2012;3(222-230).
- Almasi H. Antioxidant, Antibacterial and Therapeutic Properties of Some Endemic Medicinal Plants of Iran: A Review. *Adv Plants Agricul Res*. 2015;2(3). [doi: 10.15406/apar.2015.02.00053](#)
- Sadegh M. [Iran's herbs]. Iran 1981.
- Ghahreman A, Attar F. [Biodiversity of Plant Species in Iran]. Iran: Tehran University; 1999.
- Bruno M, Piozzi F, Rosselli S. Natural and hemisynthetic neoclerodane diterpenoids from *scutellaria* and their antifeedant activity. *Nat Prod Rep*. 2002;19(3):357-78. [pmid: 12137282](#)
- Han J, Ye M, Xu M, Sun J, Wang B, Guo D. Characterization of flavonoids in the traditional Chinese herbal medicine-Huangqin by liquid chromatography coupled with electrospray ionization mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2007;848(2):355-62. [doi: 10.1016/j.jchromb.2006.10.061](#) [pmid: 17118721](#)
- Zhang DY, Wu J, Ye F, Xue L, Jiang S, Yi J, et al. Inhibition of cancer cell proliferation and prostaglandin E2 synthesis by *Scutellaria baicalensis*. *Cancer Res*. 2003;63(14):4037-43. [pmid: 12874003](#)
- Hahm D-H, Yeom M-J, H Lee E-J, Shim I-S, Lee H-J, Kim H-Y. Effect of *Scutellariae radix* as a novel antibacterial herb on the ppk (Polyphosphate kinase) mutant of *Salmonella typhimurium*. *J Microbiol Biotechnol*. 2001;11(6):1061-5.
- Ahn HC, Lee SY, Kim JW, Son WS, Shin CG, Lee BJ. Binding aspects of baicalin to HIV-1 integrase. *Mol Cells*. 2001;12(1):127-30. [pmid: 11561722](#)
- Huang WH, Lee AR, Yang CH. Antioxidative and anti-inflammatory activities of polyhydroxyflavonoids of *Scutellaria baicalensis* GEORGL. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2006;70(10):2371-80. [doi: 10.1271/bbb.50698](#) [pmid: 17031041](#)
- Mirheydar H. [Maaref Giah]. Tehran: Daftare Nashre Farhange Esلامي; 1995.
- Rasooli I. [A biopreservation approach]. Global Science Books; 2007.
- Halliwell B, Aeschbach R, Loliger J, Aruoma OI. The characterization of antioxidants. *Food Chem Toxicol*. 1995;33(7):601-17. [doi: 10.1016/0278-6915\(95\)00024-v](#) [pmid: 7628797](#)
- Ranju P. Antioxidant and free radical scavenging activity of ethanolic extract of the root of *Morinda citrifolia* (Rubiaceae). *Afr J Pharm Pharmacol*. 2012;6(5). [doi: 10.5897/ajpp10.310](#)
- Riddle JM. Contraception and Abortion from the Ancient World to the Renaissance. Cambridge, MA: Harvard University Press; 1992.
- Gautam SS, Navneet, Kumar S, editors. The Antibacterial and Phytochemical Aspects of *Viola odorata* Linn. Extracts Against Respiratory Tract Pathogens. National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences; 2012.
- Ganapaty S, Dash GK, Subburaju T, Suresh P. Diuretic, laxative and toxicity studies of *Cocculus hirsutus* aerial parts. *Fitoterapia*. 2002;73(1):28-31. [pmid: 11864760](#)
- Nourian S, Sani AM, Golmakani E, Feizi P, Roghani K. Determination of antioxidant activity by high performance liquid chromatography, phenolic and flavonoid contents of *Vincetoxicum nigrum*. *Sphinx Knowledge House*. 2016;9(3):157-0.
- Zibaenezhad MJ, Rezaiezadeh M, Mowla A, Ayatollahi SM, Panjehshahin MR. Antihypertriglyceridemic effect of walnut oil. *Angiology*. 2003;54(4):411-4. [doi: 10.1177/000331970305400404](#) [pmid: 12934760](#)
- Zibaenezhad MJ, Shamsnia SJ, Khorasani M. Walnut consumption in hyperlipidemic patients. *Angiology*. 2005;56(5):581-3. [doi: 10.1177/000331970505600509](#) [pmid: 16193197](#)
- Bhatia K, Rahman S, Ali M, Raisuddin S. In vitro antioxidant activity of *Juglans regia* L. bark extract and its protective effect on cyclophosphamide-induced urotoxicity in mice. *Redox Rep*. 2006;11(6):273-9. [doi: 10.1179/135100006X155030](#) [pmid: 17207309](#)
- Shariat Panahi Z, Shahbazi S. [Effect of walnut shell skin on high-density lipoprotein (TG) triglyceride and lipoprotein in people with high blood triglycerides]. *J Trad Med Islam Iran*. 2013;2:97-103.
- Moghaddam PZ, Mohammadi A, Feyzi P, Alesheikh P. In vitro antioxidant and antibacterial activity of various extracts from exocarps and endocarps of walnut. *Pak J Pharm Sci*. 2017;30(5):1725-31. [pmid: 29084695](#)
- Yang J-H, Lin H-C, Mau J-L. Antioxidant properties of several commercial mushrooms. *Food Chem*. 2002;77(2):229-35.
- Mohammadi A, Asili J, Emami SA, Mighani H, Bibak B. Phytochemical investigation on *Scutellaria pinnatifida* roots. *J North Khorasan Univ Med Sci* 2013;4(5):93-101. [doi: 10.29252/jnkums.4.5.S5.93](#)
- Sedigheh Fazly Bazzaz B, Hassanzadeh Khayat M, Ahmad Emami S, Asili J, Sahebkar A, Javadi Neishabory E. In vitro antioxidant and antibacterial activity of various extracts from exocarps and endocarps of walnut. *ScienceAsia*. 2011;37(4):327. [doi: 10.2306/scienceasia1513-1874.2011.37.327](#)
- Namedra D, Mounisha A, Bhavani B, Sireesha G. Antimicrobial studies on *euphorbia milii*. 2015;7:196-204.
- Moridi Farimani M, Mirzania F, Sonboli A, Moghaddam FM. Chemical composition and antibacterial activity of *Dracocephalum kotschyi* essential oil obtained by microwave extraction and hydrodistillation. *Int J Food Prop*. 2017;20(sup1):306-15. [doi: 10.1080/10942912.2017.1295987](#)
- Ehsani A, Alizadeh O, Hashemi M, Afshari A, Aminzare M. Phytochemical, antioxidant and antibacterial properties of *Melissa officinalis* and *Dracocephalum moldavica* essential oils. *Veterinary Research Forum*. Urmia: Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University; 2017. p. 223.
- Gamehei B, Mahdian E. Evaluation the antimicrobial activity of *rubia florida* alcoholic extract on some pathogenic bacteria in foods. 2018;75(15):259-66.
- Sawhney R, Berry V, Kumar A. Inhibitory Activity of *Rubia cordifolia* plant extract against ESBL producing Urinary *E. coli* isolates. *J Pharm Res*. 2012;5:1328-30.
- Mohammed AMA, Coombes PH, Crouch NR, Mulholland DA. Chemical Constituents from *Fadogia homblei* De Wild (Rubiaceae). *Int Letters Chem Phys Astron*. 2013;14:116-24. [doi: 10.18052/www.scipress.com/ILCPA.14.116](#)
- Pendli S, Talari S, Nemali G, Azmeera S. Phytochemical analysis of root, stem and leaf extracts in *Rubia cordifolia* L. an important medicinal plant. *World J Pharm Pharmacol Sci*. 2014;3:826-38.
- Naidu K, Lalam R, Bobbarala V. Antimicrobial agents from *Rubia cordifolia* and *Glycyrrhiza glabra* against phytopathogens of *Gossypium*. *Int J Pharm Tech Res*. 2009;1:1512-8.
- Nikavar B, Mojab F, Vahidi H, Kamalinejad M. Study of Essential oil's components and antimicrobial activities in rhizomes of *Cyperus rotundus* L. *Jo Med Plants*. 2008;8(32):91.
- Zaidi MA, Crow SA, Jr. Biologically active traditional medicinal herbs from Balochistan, Pakistan. *J Ethnopharmacol*. 2005;96(1-2):331-4. [doi: 10.1016/j.jep.2004.07.023](#) [pmid: 15588685](#)