ORIGINAL ARTICLE

Antibacterial Activity of Methanol Extracts from Different Parts of Prangos crossoptera and their Synergistic Effect on Some Antibiotics

Mokhtar Nosrati[1],
Mandana Behbahani[2]

[1] MSc in Microbial Biotechnology, Department of Biotechnology, Faculty of Advanced Sciences and Technologies, University of Isfahan, Isfahan, Iran
[2] Assistant Professor, Department of Biotechnology, Faculty of Advanced Sciences and Technologies, University of Isfahan, Isfahan, Iran

(Received April 22, 2015 Accepted August 24, 2015)

Abstract

Background and purpose: Resistance to antibiotics has decreases the performance of antibiotics and has dramatically increased over the past few years. This has led to increasing interest towards discovery and introduction of new antibiotic compounds, especially plant-derived compounds. The aim of this study was to investigate the antibacterial activity of the methanol extracts from different parts of *Prangos crossoptera* against pathogenic bacteria and their drug synergistic and antagonistic with standard antibiotics.

Materials and methods: Antibacterial activity of methanol extracts from different parts of *Prangos crossoptera* was investigated against *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Streptococcus sobrinus*, and *Staphylococcus saprophyticus* in 250 to 3000 µg/ml concentrations by disc diffusion and micro-broth dilution methods. Then, the MIC and MBC values and inhibition zone of all extracts were measured. The synergistic effects of the most efficient concentration were studied on four common antibiotics.

Results: All tested extracts, especially the flower, exhibited significant antibacterial activity against studied bacteria. The flower extract also showed synergistic effect on penicillin and ampicillin activity but did not influence the performance of gentamicin and streptomycin.

Conclusion: The *P.crossoptera* has significant antibacterial effect and could increase the activity of penicillin and ampicillin.

Keywords: Antibiotic, Synergy, bacteria, *Prangos crossoptera*

J Mazandaran Univ Med Sci 2015; 25(129): 92-101 (Persian).

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و پنجم شماره ۱۲۹ مهر سال ۱۳۹۴ (۱۰۱-۹۲)

بررسی خواص ضد باکتریایی عصاره متانولی بخش های مختلف جاشیر زاگرسی [*Prangos crossoptera*] و اثرات متقابل دارویی آن‌ها با آنتی بیوتیک ها

مختار نصرتی[1]
ماندانا بهبهانی[2]

چکیده

سابقه و هدف: کاهش کارایی آنتی‌بیوتیک‌ها به علت گسترش مقاومت‌های میکروبی طی سال‌های اخیر موجب رشد پژوهش‌های صورت گرفته در حوزه شناسایی و معرفی ترکیبات آنتی‌بیوتیکی جدید ویا افزاینده عملکرد آنتی بیوتیک ها شده است که در این بین ترکیبات گیاهی از جایگاه ویژه‌ای برخور دارند. هدف از این پژوهش بررسی خواص ضد باکتریایی عصاره متانولی بخش‌های مختلف جاشیر زاگرسی بر باکتری‌های پاتوژن و اثرات متقابل دارویی آن ها با آنتی‌بیوتیک ها می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این بررسی قابلیت ضد باکتریایی عصاره حاصل از بخش‌های مختلف جاشیر زاگرسی در غلظت‌های ۳۰۰۰-۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر با روش انتشار دیسک و ریز رقت‌سازی علیه پروتئوس میرابیلیس، پروتئوس ولگاریس، استرپتوکوکوس سوبرینوس و استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس_مورد بررسی قرار گرفته است. حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی مربوط به آن‌ها تعیین گردید. سپس اثرات متقابل دارویی عصاره ی موثرترین بخش بر ۴ آنتی بیوتیک رایج مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که عصاره بخش‌های مختلف گیاه مذکور به ویژه عصاره مربوط به گل دارای اثرات ضد باکتریایی قابل توجهی بر باکتری‌های مورد مطالعه است. نتیجه بررسی اثرات متقابل با آنتی‌بیوتیک‌ها نیز نشان داد که عصاره مذکور موجب افزایش اثر پنی‌سیلین و آمپی‌سیلین شده اما اثر قابل توجهی بر عملکرد استرپتومایسین و جنتامایسین ندارد.

استنتاج: بر اساس نتایج حاصل از این پژوهش، عصاره متانولی گیاه جاشیر دارای خاصیت ضد باکتریایی قابل توجهی بوده و می‌تواند موجب افزایش عملکرد پنی‌سیلین و آمپی‌سیلین شود.

واژه های کلیدی: آنتی بیوتیک، اثرات متقابل دارویی، باکتری، جاشیر زاگرسی

مقدمه

شیوع روز افزون عفونت‌های باکتریایی و گسترش مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی از مشکلات مهم پیش روی جوامع مختلف خصوصاً کشور های در حال توسعه است(۱).گسترش عفونت‌های میکروبی و عدم یا کاهش

مولف مسئول: ماندانا بهبهانی– اصفهان، خیابان هزارجریب، دانشگاه اصفهان، دانشکده علوم و فناوری های نوین E-mail: ma_behbahani@yahoo.com
۱. کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی میکروبی، دانشکده علوم و فن آوری های نوین، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران
۲. استادیار، گروه بیوتکنولوژی میکروبی، دانشکده علوم و فن آوری های نوین، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران
تاریخ دریافت : ۱۳۹۴/۲/۲ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۳۹۴/۲/۵ تاریخ تصویب : ۱۳۹۴/۶/۲

کارایی آنتی‌بیوتیک‌ها در سال‌های اخیر از یک سو و معرفی اثربخشی گیاهان دارویی مختلف در عفونت‌های میکروبی از سوی دیگر موجب شده تا بخش عمده‌ای از پژوهش‌های صورت گرفته در خصوص ترکیبات ضدمیکروبی به بررسی خاصیت ضد باکتریایی گیاهان دارویی به تنهایی ونیز تاثیر متقابل آن‌ها با داروهای استفاده شده خصوصاً آنتی بیوتیک‌ها معطوف شود(۲). ترکیبات گیاهی علاوه بر اثرات درمانی مستقیم، می‌توانند جهت افزایش عملکرد داروهای استاندارد و یا جهت کاهش اثرات مضر داروها نیز به کار گرفته شوند. لذا بررسی اثرات دارویی گیاهان مختلف و مطالعه تداخلات و اثرات متقابل دارویی آن‌ها با داروهای استاندارد از جمله آنتی‌بیوتیک‌ها از اهمیت بالایی برخوردار است(۴،۳). علی‌رغم این که اثرات مطلوب برخی گیاهان دارویی در عفونت‌های میکروبی مختلف طی بررسی‌های متعدد به اثبات رسیده است، اما بررسی میانکنش‌های صورت گرفته بین ترکیبات گیاهی و داروهای مصرف شده توسط بیماران خصوصاً در مورد آنتی‌بیوتیک‌ها امری ضروری است. زیرا ممکن است اثرات متقابل ایجاد شده بین داروی استاندارد و ترکیبات گیاهی همیشه در جهت تقویت اثر هم نباشد و با ایجاد کمپلکس‌های پیچیده بین این ترکیبات و داروهای استاندارد، ترکیباتی غیرفعال و بدون اثر دارویی مورد نظر ایجاد شود(۵). بنابراین بررسی اثرات متقابل دارویی شامل هم افزایی (سینرژیسم)و ضدیت اثر (آنتاگونیسم) از جمله موارد مهم در حوزه تحقیقات مربوط به مطالعه اثرات دارویی گیاهان دارویی است و همین امر موجب شده تا درمان مکمل شامل ترکیبات گیاهی و آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد از جمله راهکارهای نوین درمانی در زمینه عفونت‌های باکتریایی ایجاد شده با سویه‌های مقاوم معرفی گردد(۷،۶). با این وجود ترکیبات گیاهی به علت منشا طبیعی، اثرات جانبی کم‌تر به نسبت داروهای شیمیایی، ارزان و در دسترس بودن، جایگاه ویژه‌ای در حفظ سلامت جوامع مختلف دارند. گیاهان دارویی از دیرباز در طب سنتی کشورهای مختلف جهت درمان بیماری‌های متعددی استفاده شده و اثرات مطلوب درمانی بسیاری از آن‌ها دراختلالات و بیماری‌هایی هم‌چون دیابت، عفونت‌های ویروسی، عفونت‌های باکتریایی، سرطان و اختلالات گوارشی امید بخش بوده است(۹،۸). براساس گزارش‌های سازمان بهداشت جهانی، حدود ۸۰ درصد از جمعیت کشورهای در حال توسعه از گیاهان دارویی استفاده می‌نمایند، لذا این گیاهان می‌توانند به عنوان منبعی مناسب جهت به دست آوردن طیف وسیعی از داروها و ترکیبات فعال دارویی مورد استفاده قرار بگیرند(۱۰). خانواده چتریان از جمله خانواده‌های گیاهی با پراکنش وسیع در جهان و ایران است که شامل گونه‌های دارویی و خوراکی فراوانی است. این خانواده گیاهی دارای حدود ۳۰۰ جنس و ۳۰۰۰-۲۵۰۰ گونه‌ی گیاهی است که از این تعداد، ۱۱۳ جنس و حدود ۳۲۰ گونه در ایران یافت می‌شوند. از جمله جنس‌های مهم این خانواده گیاهی، جنس جاشیر است که دارای پراکنش وسیعی در ایران بوده و ۱۵ گونه آن بومی ایران می‌باشند(۱۱). بررسی‌های متعدد انجام شده در خصوص اثرات مطلوب دارویی گیاهان متعلق به این جنس، نشان‌دهنده‌ی وجود خواص متعدد دارویی از جمله اثرات ضد باکتریایی، ضد ویروسی، ضد سرطانی، ضد اکسیدانی و ضد التهابی می‌باشد(۱۲). جاشیر زاگرسی با نام علمی *Prangos crossoptera* از جمله گیاهان دارویی بومی ایران و آسیای مرکزی می‌باشد. این گیاه خودرو و پایا بیش‌تر در مناطق سرد و کوهستانی از جمله استان‌های غربی ایران به ویژه کردستان رشد می‌کند(۱۳). با وجود انجام پژوهش های متعدد در خصوص اثرات مطلوب درمانی، خصوصاً اثرات ضد باکتریایی گیاهان جاشیری، اما تاکنون گونه *p.crossoptera* مورد بررسی قرار نگرفته و پژوهش حاضر اولین بررسی خواص ضد باکتریایی این گونه‌ی بومی ایران است. هدف از این بررسی مطالعه خواص ضد باکتریایی عصاره متانولی حاصل از بخش‌های مختلف گیاه جاشیر شامل: گل، برگ، ساقه، ریشه و بذر و مقایسه اثربخشی آن‌ها با هم و نیز بررسی اثرات هم‌افزایی وکاهش اثر آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد می‌باشد.

مواد و روش ها

جمع‌آوری نمونه‌ها، تعیین گونه و تهیه عصاره متانولی

نمونه‌های گیاهی مورد نظر در اردیبهشت و خرداد ۱۳۹۳ طی سه مرحله قبل از گل دهی،گل دهی و تولید بذر از شمال سنندج جمع آوری و در مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی مورد تایید قرار گرفت. نمونه‌های مربوط به بخش‌های هوایی و ریشه، قبل از مرحله گل دهی و نمونه‌های مربوط به گل و بذر در ابتدا و انتهای مرحله گلدهی جمع‌آوری شدند. نمونه جمع آوری شده گیاه مذکور در هرباریوم دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه کردستان به شماره هرباریومی ۱۴۱۲ ذخیره و نگهداری شد. سپس بخش‌های مختلف گیاه جاشیر جدا شده و در سایه خشک گردید. نمونه‌های خشک شده سپس آسیاب شده و ۵۰ گرم از پودر حاصل از هر بخش به طور جداگانه در ۱۵۰ میلی لیتر متانول ۹۶ درصد غوطه ور و به مدت ۷۲ ساعت بر روی شیکر با دور ۱۶۰rpm قرار گرفتند. پس از مدت مذکور، عصاره های حاصل به وسیله ی کاغذ صافی، صاف شده و جهت تغلیظ به روتاری با دمای ۴۵ درجه سانتی گراد منتقل شده، سپس به وسیله فریز درایر خشک شدند. در نهایت عصاره‌های خشک شده به ظروف پلاستیکی استریل منتقل و در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شدند.

به منظور تهیه غلظت های مختلف از عصاره های حاصل، میزان ۰/۰۱ گرم از عصاره ها در ۱۰۰۰ میکرولیتر (۵۰ درصد) DMSO حل شده و پس از سترون سازی با عبور از فیلتر های ۰/۴۵ میکرونی به وسیله ی بافر فسفات استریل (PBS) به غلظت های ۲۵۰،۳۰۰۰،۲۵۰۰،۲۰۰۰،۱۵۰۰،۱۰۰۰،۵۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر رقیق شدند.

محیط کشت و سویه های مورد مطالعه

باکتری‌های مورد مطالعه در این پژوهش عبارت بودند از پروتئوس میرابیلیس (PTCC 1076)، پروتئوس ولگاریس (PTCC 1079)، استرپتوکوکوس سوبرینوس (PTCC 1601) و استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس (PTCC 1440). آمپول لیوفیلیزه باکتری های مذکور پس از باز شدن در شرایط استریل زیر لامینار فلو به محیط مایع مولر هینتون منتقل و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. سپس از محیط مایع کشت چمنی از تمام باکتری‌های مورد مطاله بر روی محیط مولر هینتون آگار تهیه شده و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. تا از کشت‌های ذکر شده به عنوان منبع باکتری‌های مورد مطالعه استفاده گردد.

آزمون های ضد باکتریایی مورد استفاده

جهت بررسی خواص ضد باکتریایی از روش انتشار دیسک استفاده شد. به این منظور از هر کدام از باکتری‌های مورد نظر چند کلنی به محیط مولر هینتون مایع منتقل کرده و آن‌ها را به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از مدت مذکور با استفاده از روش رقیق‌سازی و تعیین کدورت از هر کدام از باکتری‌ها، سوسپانسیونی معادل ۰/۵ مک فارلند ($1/5\times10^8$ CFU/ml) تهیه نموده و به وسیله سواپ استریل بر محیط مولر هینتون آگار پخش شدند. سپس به دیسک‌های کاغذی استریل میزان ۲۰ میکرولیتر از عصاره‌های حاصل از بخش‌های مختلف گیاه جاشیر در غلظت‌های ذکر شده اضافه گردید و هر کدام از دیسک‌های مورد نظر بر سطح محیط کشت داده شده با باکتری‌های مورد مطالعه قرار گرفته و در نهایت به مدت ۲۴ ساعت به انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. در این پژوهش از دیسک‌های استاندارد آمپی‌سیلین، پنی‌سیلین، جنتامایسین و استرپتومایسین به عنوان کنترل مثبت و از DMSO به عنوان کنترل منفی استفاده شد. در نهایت پس از طی مدت گرماگذاری ذکر شده، هاله عدم رشد ناشی از عصاره‌های گیاهی به وسیله‌ی کولیس اندازه‌گیری شد. در این مطالعه هر

کدام از غلظت‌ها برای تمامی باکتری‌های مورد مطالعه در ۳ تکرار انجام شده و میانگین و انحراف‌معیار نیز محاسبه گردید. جهت تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) از روش ریز رقیق‌سازی در میکروپلیت استفاده شد. به این منظور در هر کدام از چاهک‌های میکروپلیت ۹۶ خانه‌ای، ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت مولرهینتون ریخته و سپس به هر کدام از چاهک‌ها ۵۰ میکرولیتر از عصاره بخش‌های مختلف جاشیر با غلظت‌های ۳۰۰۰-۳۱/۲ اضافه نموده و در نهایت به تمامی چاهک ها ۵۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی معادل ۰/۵ مک فارلند اضافه شد. هم‌چنین برای کنترل مثبت، میزان ۵۰ میکرولیتر از محلول‌های آنتی‌بیوتیکی ذکر شده در محدوده غلظتی ۳۲۰۰-۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر و برای کنترل منفی ۵۰ میکرولیتر از DMSO ۵۰ درصد به همراه ۵۰ میکرولیتر سوسپانسیون باکتریایی به چاهک‌های کنترل اضافه شد. پس از ۲۴ ساعت گرماگذاری، میکروپلیت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد جذب تمامی چاهک‌ها به وسیله‌ی الایزا ریدر در ۶۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شده و اولین چاهک‌هایی که حاوی عصاره گیاهی بوده و جذبی در ۶۲۰ نانومتر نداشتند، به عنوان MIC در نظر گرفته شد. به منظور تعیین حداقل غلظت کشندگی (MBC) نیز ۵۰ میکرولیتر از چاهک‌هایی که درآن‌ها رشد باکتری صورت نگرفته، به محیط مولر هینتون آگار منتقل و پس از پخش به وسیله‌ی سواپ استریل، پلیت‌هایی که حاوی کم‌ترین غلظت از عصاره‌ها بوده و در آن رشدی مشاهده نشد، به عنوان MBC در نظر گرفته شد.

بررسی اثرات متقابل دارویی عصاره های متانولی با آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد

جهت بررسی اثرات متقابل دارویی عصاره‌های متانولی با آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد، از دو روش بررسی تغییر قطر هاله عدم رشد در روش انتشار دیسک و تغییر در حداقل غلظت مهارکنندگی آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد استفاده شد. به این منظور عصاره موثرترین بخش گیاه جاشیر در موثرترین غلظت آن انتخاب شده و اثرات این عصاره بر ۴ آنتی‌بیوتیک استاندارد شامل پنی‌سیلین، جنتامایسین، آمپی‌سیلین و استرپتومایسین مطالعه گردید. در روش تغییر قطر هاله عدم رشد، میزان $۱/۵\times۱۰^{۸}$ کلنی معادل ۰/۵ مک فارلند از هر کدام از باکتری‌های مورد مطالعه را به محیط جامد مولر هینتون آگار حاوی عصاره گیاهی وارد نموده و به صورت یکنواخت پخش شد. سپس دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی مذکور را بر سطح محیط قرار داده و قطر هاله‌های عدم رشد را پس از ۲۴ ساعت گرماگذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به وسیله ی کولیس اندازه‌گیری شده و نتایج حاصل با حالت محیط فاقد عصاره گیاهی مقایسه شدند. در نهایت جهت بررسی تغییرات حداقل غلظت مهارکنندگی مربوط به ۴ آنتی‌بیوتیک ذکر شده با استفاده از روش ریز رقت از هر کدام از آنتی‌بیوتیک ها، سری‌های رقتی با غلظت ۳۲۰۰-۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر تهیه شده و میزان ۵۰ میکرولیتر از هرکدام از این رقت‌ها به چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه حاوی ۱۰۰ میکرولیتر محیط مولر هینتون و ۵۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری‌های مورد مطالعه و ۵۰ میکرولیتر از عصاره گیاهی اضافه شدند و نتایج به دست آمده با حالت کنترل بدون عصاره گیاهی مقایسه شدند.

یافته ها

نتایج حاصل از اندازه گیری قطر هاله‌های عدم رشد ناشی از غلظت‌های مختلف عصاره‌ها و آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد در جداول شماره ۱ و ۲ نشان داده شده است. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که عصاره متانولی حاصل از گل، برگ، ساقه، ریشه و بذر گیاه جاشیر زاگرسی در غلظت‌های مورد مطالعه دارای خواص ضد باکتریایی قابل توجهی می‌باشند. بررسی‌های مقایسه‌ای عصاره‌های حاصل نشان داد که گل و بذر این گیاه به ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین خاصیت

ضدباکتریایی را داشته و به‌طور کلی اثرات ضدباکتریایی عصاره بخش‌های مختلف گیاه جاشیر زاگرسی وابسته به غلظت است. به‌طوری‌که بیش‌ترین اثرات ضد باکتریایی در بالاترین غلظت یعنی ۳۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر مشاهده شد. در بین باکتری‌های مطالعه شده نیز حساس‌ترین و مقاوم‌ترین باکتری های مورد مطالعه به ترتیب پروتئوس ولگاریس و استرپتوکوکوس سوبرینوس بودند. نتایج حاصل از بررسی اثرات متقابل عصاره‌های گیاهی با آنتی‌بیوتیک‌ها استاندارد در جدول شماره ۲ نشان داده شده است. نتایج به دست آمده در خصوص آنتی‌بیوتیک‌های مورد بررسی نشان داد که همه‌ی آنتی‌بیوتیک‌های مورد مطالعه، دارای اثربخشی بالایی بر باکتری‌های مورد مطالعه بوده اما با این وجود بیش‌ترین و کم‌ترین هاله‌های عدم رشد اندازه‌گیری شده به ترتیب مربوط به آمپی‌سیلین و استرپتومایسین و ضدپروئتوس ولگاریس و استرپتوکوکوس سوبرینوس محاسبه شد.

نتایج مربوط به بررسی اثرات متقابل دارویی عصاره‌های گیاهی مورد مطالعه با آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد در روش انتشار دیسک نشان داد که افزودن عصاره متانولی مربوط به گل جاشیر زاگرسی در غلظت ۳۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر موجب افزایش عملکرد پنی‌سیلین و آمپی‌سیلین شده است، به‌طوری‌که قطر هاله‌های عدم رشد مربوط به پروتئوس میرابیلیس در حضور پنی‌سیلین و عصاره گل، ۲/۵ میلی متر و در حضور آمپی‌سیلین و عصاره‌ی گل ۱/۵ میلی‌متر افزایش یافت که این میزان افزایش برای پروتئوس ولگاریس، استرپتوکوکوس سوبرینوس و استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس در خصوص پنی‌سیلین به ترتیب ۱/۵، ۱ و ۲/۵ میلی‌متر و برای آمپی‌سیلین به ترتیب ۱، ۲ و ۱ میلی‌متر محاسبه شد. اما اثرقابل ملاحظه‌ای بر عملکرد جنتامایسین و استرپتومایسین مشاهده نگردید. نتایج حاصل از بررسی MIC و MBC برای عصاره‌ی متانولی حاصل از بخش‌های مختلف گیاه جاشیر زاگرسی در

جدول شماره ۱: نتایج حاصل از بررسی خواص ضد باکتریایی عصاره متانولی گل، برگ، ساقه، ریشه و بذر گیاه جاشیر زاگرسی

ردیف	باکتری	غلظت (میکروگرم بر میلی لیتر)	میانگین قطر هاله عدم رشد (میلی متر)				
			گل	برگ	ساقه	ریشه	بذر
		۲۵۰	۵/۵±۰/۵۰	۰	۰	۰	۰
		۵۰۰	۷±۰/۳۶	۶/۵±۰/۵۵	۶±۰/۲۳	۶±۰/۲۵	۰
		۱۰۰۰	۹±۰/۵۰	۷±۰/۴۲	۷±۰/۴۷	۶/۵±۰/۳۰	۵/۵±۰/۲۵
۱	پروتئوس میرابیلیس	۱۵۰۰	۱۰/۵±۰/۲۷	۸±۰/۵۰	۷/۵±۰/۳۵	۸±۰/۴۵	۷±۰/۳۰
		۲۰۰۰	۱۱±۰/۴۰	۹/۵±-/۳۷	۸±۰/۴۲	۸/۵±۰/۲۵	۸±۰/۲۰
		۲۵۰۰	۱۱±۰/۲۰	۱۰±۰/۷۰	۹±۰/۲۰	۹/۵±۰/۴۰	۸±۰/۴۵
		۳۰۰۰	۱۲/۵±۰/۳۰	۱۱±۱	۹±۰/۶۰	۱۰/۵±۰/۳۰	۹±۱
		۲۵۰	۶±۰/۵۰	۶±۰/۱۷	۵±۰/۶۵	۵±۰/۱۵	۰
		۵۰۰	۸±۰/۳۶	۷±۰/۲۴	۵±۰/۷۳	۶±۰/۴۵	۵±۰/۳۵
		۱۰۰۰	۹/۵±۰/۲۵	۸/۵±۰/۶۰	۶±۰/۳۰	۶±۱	۶±۰/۵۰
۲	پروتئوس ولگاریس	۱۵۰۰	۱۰±۰/۴۵	۹±۰/۴۶	۶/۵±۰/۴۰	۸±۰/۴۵	۷±۰/۲۵
		۲۰۰۰	۱۱/۵±۰/۲۵	۱۰±۰/۵۷	۷±۰/۳۵	۸/۵±۰/۲۰	۷/۵±۰/۴۰
		۲۵۰۰	۱۲±۰/۳۰	۱۱±۰/۷۴	۸±۰/۲۵	۹±۰/۲۷	۸±۰/۶۰
		۳۰۰۰	۱۲±۰/۴۲	۱۱±۱	۹±۰/۱۸	۱۰/۵±۰/۵۲	۹±۰/۱۵
		۲۵۰	۶±۰/۲۴	۵±۰/۳۰	۰	۰	۰
		۵۰۰	۷±۰/۳۲	۶±۰/۳۵	۰	۵±۰/۱۵	۰
		۱۰۰۰	۸/۵±۰/۳۵	۷±۰/۴۰	۵/۵±۰/۲۰	۶/۵±۰/۶۰	۰
۳	استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس	۱۵۰۰	۹±۰/۲۰	۸±۰/۲۶	۶±۰/۴۲	۷±۰/۴۰	۵±۰/۴۰
		۲۰۰۰	۱۰/۵±۰/۳۲	۹±۰/۲۰	۸±۰/۱۵	۹/۵±۰/۲۰	۷±۰/۲۰
		۲۵۰۰	۱۱/۵±۰/۵۰	۱۰±۰/۱۷	۹±۰/۲۰	۱۰/۵±۰/۳۰	۸±۰/۲۸
		۳۰۰۰	۱۲/۵±۰/۶۵	۱۱±۰/۲۵	۹±۰/۳۵	۱۱±۰/۲۵	۹±۰/۱۸
		۲۵۰	۰	۰	۰	۰	۰
		۵۰۰	۵±۰/۲۰	۰	۰	۰	۰
		۱۰۰۰	۷±۰/۳۵	۶±۰/۶۰	۶±۰/۴۰	۵±۰/۳۰	۰
۴	استرپتوکوکوس سوبرینوس	۱۵۰۰	۸±۰/۵۰	۶±۰/۴۲	۷±۰/۵۲	۶±۰/۲۰	۰
		۲۰۰۰	۸/۵±۰/۱۵	۷±۰/۳۰	۷±۰/۳۰	۷±۰/۲۴	۵±۰/۳۵
		۲۵۰۰	۹±۰/۲۰	۷±۰/۲۵	۷/۵±۰/۱۵	۷/۵±۰/۳۶	۶±۰/۲۴
		۳۰۰۰	۱۰±۰/۴۰	۹±۰/۲۰	۸±۰/۲۵	۸±۰/۲۸	۷±۰/۳۸

جدول شماره ۳ نشان داده شده است. نتایج حاصل از بررسی حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی عصاره‌ها نشان داد که عصاره‌ی گل و برگ دارای MIC و MBC نسبتا پایینی برای اکثر سویه‌های مورد مطالعه بوده و از این لحاظ قابل رقابت با آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد می‌باشند. هم‌چنین نتایج به دست آمده حاکی از تایید حساسیت بیش‌تر پروتئوس ولگاریس نسبت به عصاره‌های مورد مطالعه در مقایسه با سایر سویه‌های بررسی شده بود. زیرا مقادیر MIC و MBC محاسبه شده برای این سویه به نسبت سایر سویه‌های مورد مطالعه پایین‌تر بود. نتایج حاصل از بررسی اثرات متقابل دارویی عصاره‌گل با آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد در روش تغییر MIC در جدول شماره ۴ خلاصه شده است. نتایج این بخش منطبق بر روش انتشار دیسک بوده، به‌طوری‌که افزودن عصاره گل جاشیر همراه با آنتی‌بیوتیک‌ها، موجب کاهش MIC مربوط به پنی‌سیلین وآمپی‌سیلین شده است، درحالی‌که تاثیر چندانی بر عملکرد جنتامایسین و استرپتومایسین نداشت.

بحث

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که عصاره متانولی بخش‌های مختلف جاشیر زاگرسی دارای خواص ضد باکتریایی قابل توجهی بوده و می‌تواند موجب افزایش عملکرد آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین و آمپی‌سیلین شود. شیوع گسترده عفونت‌های باکتریایی، بروز مقاومت های آنتی‌بیوتیکی و قابلیت انتقال این مقاومت ها در جمعیت‌های باکتریایی و تایید اثربخشی شمار زیادی از گیاهان دارویی در عفونت‌های باکتریایی، موجب شده تا درمان مکمل شامل استفاده همزمان از آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد و گیاهان دارویی

جدول شماره ۲:نتایج مربوط به قطر هاله عدم رشد ناشی از آنتی بیوتیک های استاندارد در حضور و عدم حضور عصاره ی متانولی گل جاشیر زاگرسی، علامت های مثبت و منفی به ترتیب نشان دهنده حضور و عدم حضور عصاره است

آنتی بیوتیک های مورد بررسی	میانگین قطر هاله عدم رشد (میلی متر) ± انحراف معیار							
	پروتئوس میرابیلیس		پروتئوس ولگاریس		استرپتوکوکوس سوبرینوس		استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس	
	−	+	−	+	−	+	−	+
آمپی سیلین	۱۷/۵±۰/۱۵	۱۹±۰/۴۲	۱۹±۰/۳۰	۲۰±۰/۶۰	۱۵±۰/۵۰	۱۷±۰/۲۵	۱۶±۰/۴۰	۱۷±۰/۲۰
پنی سیلین	۱۴±۰/۳۵	۱۶/۵±۰/۱۸	۱۷±۰/۲۰	۱۸/۵±۰/۲۶	۱۶±۰/۲۰	۱۷±۰/۳۵	۱۵/۵±۰/۲۵	۱۸±۰/۳۵
جنتامایسین	۱۶/۵	۱۶±۰/۲۴	۱۵±۰/۲۶	۱۵±۰/۲۵	۱۴±۰/۳۰	۱۴/۵±۰/۳۵	۱۷±۰/۳۰	۱۷±۰/۳۰
استرپتومایسین	۱۳/۵	۱۴±۰/۶۰	۱۶±۰/۳۰	۱۵/۵±۰/۴۰	۱۳±۰/۳۵	۱۳±۰/۴۵	۱۴/۵±۰/۱۸	۱۴±۰/۴۰

جدول شماره ۳: نتایج مربوط به محاسبه ی MIC و MBC برای عصاره گل، برگ، ساقه، ریشه و بذر گیاه جاشیر زاگرسی (غلظت ها بر حسب میکروگرم بر میلی لیتر می باشند

ردیف	باکتری	MIC					MBC				
		گل	برگ	ساقه	ریشه	بذر	گل	برگ	ساقه	ریشه	بذر
۱	پروتئوس میرابیلیس	۲۵۰	۵۰۰	۵۰۰	۵۰۰	۱۰۰۰	۵۰۰	۱۰۰۰	۱۰۰۰	۱۰۰۰	۲۵۰۰
۲	پروتئوس ولگاریس	۲۵۰>	۲۵۰>	۲۵۰	۲۵۰	۵۰۰	۵۰۰	۵۰۰	۱۰۰۰	۵۰۰	۱۵۰۰
۳	استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس	۲۵۰	۲۵۰	۱۰۰۰>	۵۰۰>	۱۵۰۰>	۱۰۰۰	۱۰۰۰	۲۰۰۰	۱۵۰۰	۲۵۰۰
۴	استرپتوکوکوس سوبرینوس	۵۰۰	۱۰۰۰>	۱۰۰۰	۱۰۰۰	۲۰۰۰	۱۵۰۰	۲۵۰۰	۲۵۰۰	۲۰۰۰	۳۰۰۰

جدول شماره ۴: نتایج حاصل از بررسی اثرات متقابل دارویی عصاره ی گل با آنتی بیوتیک های استاندارد در روش تغییر MIC

آنتی بیوتیک های مورد بررسی	حداقل غلظت مهارکنندگی (میکروگرم بر میلی لیتر)							
	پروتئوس میرابیلیس		پروتئوس ولگاریس		استرپتوکوکوس سوبرینوس		استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس	
	−	+	−	+	−	+	−	+
آمپی سیلین	۲۰۰	۱۰۰	۵۰	۵۰	۱۰۰	۱۰۰>	۲۰۰	۱۰۰
پنی سیلین	۱۰۰	۵۰	۵۰>	۲۵	۲۰۰	۲۰۰>	۵۰	۵۰
جنتامایسین	۲۰۰	۲۰۰>	۱۰۰>	۱۰۰	۲۰۰	۲۰۰	۲۰۰	۲۰۰
استرپتومایسین	۲۰۰	۲۰۰	۲۰۰>	۲۰۰	۴۰۰	۴۰۰>	۱۰۰	۱۰۰

با هدف دستیابی به عملکرد بالاتر به عنوان روشی جدید در عرصه درمان عفونت‌های باکتریایی تلقی شود(۱۴). با این وجود استفاده از روش مکمل درمانی مستلزم بررسی اثرات متقابل بین ترکیبات گیاهی و داروهای استاندارد به منظور بررسی کاهش یا افزایش اثر آنتی‌بیوتیک‌ها است. لذا تاکنون بررسی‌های زیادی جهت شناسایی و معرفی گیاهان دارویی با توان اثرگذاری بر عملکرد آنتی بیوتیک‌های رایج انجام شده است(۱۵). بررسی Ahmed و همکاران در خصوص مطالعه اثر بخشی عصاره Salvadora persica بر افزایش عملکرد تتراسایکلین و پنی‌سیلین علیه استافیلوکوکوس اورئوس نشان داد که عصاره گیاه مذکور موجب تقویت اثر این دو آنتی‌بیوتیک می‌شود(۱۶). در پژوهشی مشابه، Cai و همکاران به بررسی میزان خاصیت ضد باکتریایی سه آنتی‌بیوتیک شامل سفازولین، اکساسیلین و سفوپرازون به تنهایی و همراه با آلیسین که یکی از ترکیبات موثر موجود در سیر است، بر استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس آئروژنوزا پرداختند. نتایج نشان داد که قابلیت ضد باکتریایی آلیسین به تنهایی ناچیز است، اما موجب افزایش عملکرد هر سه آنتی‌بیوتیک ذکر شده می‌شود(۱۷). بررسی انجام شده توسط Betoni و همکارانش در خصوص امکان افزایش اثر آنتی‌بیوتیک‌ها توسط گیاهان مختلف نیز نشان داد که عصاره ۸ گیاه دارویی شامل *Mikania glomerata, Psidium guajava, Allium sativum, Cymbopogon citratus, Zingiber officinale, Baccharis trimera, Mentha piperita* و *Syzygiumaromaticum* موجب افزایش عملکرد ۱۳ آنتی بیوتیک از گروه بتالاکتام‌ها و سفالوسپورین‌ها می‌گردد(۱۸). در بررسی Eze و همکارانش نیز مشخص شد که عصاره گیاه دارویی *Picralima nitida* موجب افزایش جزئی درعملکرد تتراسایکلین و کلرامفنیکل بر سویه‌های مقاوم *Escherichia coli* می‌گردد، اما به طور چشمگیری فعالیت سیپروفلوکساسین و نورفلوکساسین را بر سویه‌های مقاوم *Staphylococcus aureus, Psudomonas aeruginosa* و *E.coli* کاهش می‌دهد(۱۹).

بنابراین وجود احتمال افزایش یا کاهش اثر آنتی‌بیوتیک‌ها در صورت همراهی با گیاهان دارویی لزوم بررسی‌های بیش‌تر در خصوص اثرات متقابل دارویی گیاهان با داروهای استاندارد را مشخص می‌نماید. تاکنون مطالعات زیادی در خصوص اثرات دارویی گیاهان متعلق به جنس جاشیر انجام شده که منجر به تایید خواص مطلوب درمانی این گیاهان شده است. پژوهش‌های صورت گرفته در خصوص گونه‌های مختلف جنس جاشیر به ویژه *P.ferulacea* نشان دهنده وجود ترکیباتی از جمله کومارین، تانین، ساپونین، آلکالوئیدها، ترپنوئیدها و ترکیبات مونوترپنی می‌باشد که همگی از متابولیت‌های ثانویه‌ی گیاهی با ارزش بوده و دارای خواص ضد اکسیدانی، ضد دیابتی، ضد باکتریایی، ضد ویروسی، ضد درد و ضد اسپاسم می‌باشند(۲۰). در یک بررسی اثرات ضد باکتریایی ۴ نوع عصاره *P.ferulacea* شامل اتانولی، متانولی، آبی و هگزان علیه چندین باکتری گرم منفی هم‌چون اشریشیا کولای، کلبسیلا پنومونیه، پروتئوس میرابیلیس، سالمونلا اینتریدیس و گرم مثبت مثل باسیلوس سرئوس، باسیلوس سابتیلیس، میکروکوکوس لوتئوس و استافیلوکوکوس اورئوس مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داده که بیش‌ترین خواص ضد باکتریایی مربوط به عصاره‌ی اتانولی و متانولی گیاه و بر ضد استافیلوکوکوس اورئوس بوده است(۲۱). اخیراً گزارش‌های جدیدی مبنی بر اثرمهارکنندگی آزادسازی سایتوکین‌ها و اثرات ضد ویروسی علیه HIV (ویروس نقص ایمنی) از گونه‌های مختلف جاشیر گزارش شده است. در تحقیقی دیگر مشخص شد که چندین کومارین استخراج شده از ریشه‌های گیاه *P.ferulacea* دارای خاصیت سایتوتوکسیک بوده و اثرات ضدویروسی علیه هرپس ویروس نشان می‌دهند(۲۲).

در پژوهش انجام شده توسط Ulubelen و همکاران در خصوص اثرات ضد قارچی و ضد باکتریایی گونه *Prangos platychlaena* مشخص شد که عصاره این گیاه دارای اثرات آنتی‌بیوتیکی علیه استافیلوکوکوس اورئوس،

استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، باسیلوس سابتیلیس و کاندیدا آلبیکنس می‌باشد(۲۳). علی‌رغم مطالعات متعدد صورت گرفته در خصوص ویژگی‌های دارویی گونه‌های مختلف جنس جاشیر، مطالعه حاضر اولین بررسی صورت گرفته در زمینه ویژگی‌های دارویی جاشیر زاگرسی است. بنابراین با توجه به اثرات ضد باکتریایی قابل توجه بخش‌های مختلف این گیاه، به ویژه گل گیاه مذکور و نیز اثرات مطلوب عصاره آن بر فعالیت آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد و گزارش‌های مبتنی بر وجود مقادیر بالایی از ترکیبات کومارینی، ترپنی و آلفاپینن در گونه‌های مختلف جنس جاشیر می‌توان ترکیبات مذکور را در ظهور قابلیت چشمگیر ضد باکتریایی جاشیر زاگرسی موثر دانست. بر این اساس جاشیر زاگرسی را می‌توان گزینه‌ای مناسب جهت تحقیقات بیش تر برای معرفی به صنایع دارویی و غذایی جهت استخراج مواد موثره و استفاده به عنوان ترکیب آنتی‌بیوتیک و نیز مکمل اثر آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد دانست.

سپاسگزاری

بودجه پژوهشی این پژوهش توسط دانشکده علوم و فن‌آوری‌های نوین دانشگاه اصفهان تامین شده است، لذا بدین‌وسیله از معاونت پژوهشی وکلیه مسئولین دانشکده تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

References

1. Nabavi SM, Marchese A, Izadi M, Curti V, Daglia M, Nabavi SF. Plants belonging to the genus Thymus as antibacterial agents: From farm to pharmacy. Food Chemistry 2015; 173: 339-347.
2. Girish HV, Satish S. Antibacterial Activity of Important Medicinal Plants on Human Pathogenic Bacteria-a Comparative Analysis. World Appl Sci J 2008; 5(3): 267-271.
3. Rakholiya K, Chanda S. In vitro interaction of certain antimicrobial agents in plant extracts against some pathogenic bacterial strains. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine 2012; 1466-1470.
4. Esimone CO, Okoye FBC, Nworu CS, Agubata CO. In vitro interaction between caffeine and some penicillin antibiotics against Staphylococcus aureus. Trop J Pharm Res 2008; 7(2): 969-974.
5. Ismail MYM. Herb-drug intraction and patient counseling. Int J Pharm Pharm Sci 2009; 1: 151-161.
6. Olajuyigbe OO, Afolayan AJ. Synergistic Interactions of Methanolic Extract of Acacia mearnsii De Wild.with Antibiotics against Bacteria of Clinical Relevance. Int J Mol Sci 2012; 13: 8915-8932.
7. Adwan G, Mhanna M. Synergistic Effects of Plant Extracts and Antibiotics on Staphylococcus aureus Strains Isolated from Clinical Specimens. Middle-East Journal of Scientific Research 2008; 3(3): 134-139.
8. Asadi SY, Zamiri A, Ezzati S, Parsaei P, Rafieian M, Shirzad H. Effect of alcoholic extract of green tea (*Camellia sinensis*) on the healing process in surgical and burn wounds in rats. J Birjand Univ Med Sci 2011; 18(1): 1-9.
9. Moradi MT, Karimi A, Rafieian M, Kheiri S, Saedi M. The inhibitory effects of myrtle (Myrtus communis) extract on Herpes simplex virus-1 replication in Baby Hamster Kidney cells. J Shahrekord Univ Med Sci 2011; 12(4): 54-61 (Persian).
10. Al Akeel R, Al-Sheikh Y, Mateen A, Syed R, Janardhan K, Gupta VC. Evaluation of antibacterial activity of crude protein extracts from seeds of six different medical plants

against standard bacterial strains. Saudi J Biol Sci 2014; 21(2): 147-151.

11. Kafash-Farkhad N, Asadi-Samani M, Khaledifar B. A review on secondary metabolites and pharmacological effects of Prangos ferulacea (L.) Lindl. J Shahrekord Univ Med Sci 2013; 15(3): 98-108.
12. Ulubelen A, Topcu G, Tan N, Olcal S, Johansson C, Ucer M, et al. Biological-Activities of a Turkish Medicinal Plant, Prangos-Platychlaena. J Ethnopharmacol 1995; 45(3): 193-197.
13. Rahimi S, Kazami S, Ahmadi M, Ebrahimi HR, Hasan shahi S. Study the Distribution of Different Species Jashir Plant in Iran. Journal of Applied Science and Agriculture 2014; 9(8): 21-23.
14. Sibanda T, Okoh Al. The challenges of overcoming antibiotic resistance: Plant extracts as potential sources of antimicrobial and resistance modifying agents. Afr J Biotechnol 2007; 6(25): 2886-2896.
15. Dawoud MEA, Mawgoud YA, Gouda Dawoud TM. Synergistic interactions between plant extracts, some antibiotics and/or their impact upon antibiotic-resistan bacterial isolates. Afr J Biotechnol 2013; 12(24): 3835-3846.
16. Ahmed Z, Saeed Khan S, Khan M, Tanveer A, Ahmad Lone Z. Synergistic Effect of Salvadora persica Extracts, Tetracycline and Penicillin Against Staphylococcus aureus. African Journal of Basic & Applied Sciences 2010; 2(1-2): 25-29.
17. Cai Y, Wang R, Pei F, Liang BB. Antibacterial activity of Allicin alone and in combination with-lactams against Staphylococcus spp. and Pseudomonas aeruginosa. J Antibiot (Tokyo) 2007; 60(5): 335-338.
18. Betoni JE, Mantovani RP, Barbosa LN, Di Stasi LC, Fernandes Junior AF. Synergism between plant extract and antimicrobial drugs used on Staphylococcus aureus diseases. Mem Inst Oswaldo Cruz 2006; 101(4): 387-390.
19. Eze EA, Oruche NE, Eze CN. Interaction of the extracts of three medicinal plants with antibiotics against some antibiotic resistant bacteria.Scientific Research and Essays 2013; 8(28): 1360-1367.
20. Sajjadi SE, Mehregan I. Chemical composition of the essential oil of Prangos asperula Boiss. Subsp. Haussknechtii (Boiss.) Herrnst. et Heyn fruits Daru 2003; 11: 79-81.
21. Durmaz H, Sagun E, Tarakci Z, Ozgokce F. Antibacterial activities of *Allium vineale*, *Chaerophyllum macropodum* and *Prangos ferulacea*. Afr J Biotechnol 2006; 5(19): 1795-1798.
22. Gholamzadeh S, Behbahani M, Fattahi A, Sajjadi SE, Shokoohinia Y. Antiviral evaluation of coumarins from *Prangos ferulacea* L. (Lindl). Res Pharm Sci 2012; 7(5): S783.
23. Ulubelen A, Topcu G, Tan N, Olcal S, Johansson C. Biological activities of Turkish medicinal plant, *Prangos platychlaena.* J Ethanopharmacol 1995; 45(3): 193-197.