

The Effect of Carvacrol as the Main Polyphenolic Compound of *Thymus eriocalyx* Ronniger Jalas on the Inhibition of Bacteria growth

Somayeh Farahmand^{1*}, Farshid Rezaei¹, Iraj Alipourfard²

¹ Dept of Biology, Payame Noor University (PNU), Tehran, Iran

² Institute Physical Chemistry, Polish Academy of Sciences, Warsaw, Poland

Article Info

Article type:

Research article

Article History:

Received: Mar. 04, 2024

Received in revised form:

Sept. 20, 2024

Accepted: Oct. 16, 2024

Published Online: Apr. 16, 2025

* Correspondence to:

Somayeh Farahmand

Dept of Biology, Payame Noor University (PNU), Tehran, Iran

Email:

s.farahmand@pnu.ac.ir

ABSTRACT

Introduction: Due to the increasing resistance of bacterial diseases to antibiotics, it is essential to identify medicinal plants that contain antibiotics and antibacterial. This study aimed to compare the efficacy of pasture thyme essential oil with common antibiotics against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* bacteria.

Materials & Methods: The study, conducted in 2022 at Payame Noor University, investigated the antibacterial properties of *Thymus eriocalyx* essential oil. Leaves and stems were collected from Kermanshah highlands, and essential oil was extracted using hydrodistillation. Gas chromatography-mass spectrometry identified the components. The oil was tested against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* at concentrations of 0.48 to 250 µg/mL using liquid and solid methods, as well as the disk diffusion method. Results were compared with antibiotics (ampicillin, ciprofloxacin, erythromycin, and cefixime) at specific concentrations. Data were analyzed using SPSS V.23 with a significance level of 0.01.

Results: Tests with gas chromatography-mass spectrometry showed that carvacrol (66.96%) is the main ingredient in this type of thyme, and a total of 42 active substances were found. Essential oil concentrations of 250, 125, and 62.5 mg/ml were more effective than the chosen antibiotics in inhibiting both bacterial strains. The minimum bactericidal concentration for *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* was determined to be 62.5 and 7.81 mg/ml, respectively.

Conclusion: The essential oil of *Thymus eriocalyx* demonstrated greater effectiveness against *Staphylococcus aureus* than *Escherichia coli*. Due to its significant antibacterial and antiseptic properties compared to antibiotics, further studies on its efficacy in animal models are recommended.

Keywords: Carvacrol, *Escherichia coli*, *Thymus eriocalyx* (Ronniger) Jalas, *Staphylococcus aureus*

How to cite this paper: Farahmand S, Rezaei F, Alipourfard I. The Effect of Carvacrol as the Main Polyphenolic Compound of *Thymus eriocalyx* Ronniger Jalas on the Inhibition of Bacteria growth. *Journal of Ilam University of Medical Sciences*. 2025;33(1):1-17.

Introduction

The emergence of antibiotic-resistant bacteria is a growing concern in global public health, leading to difficulties in treating infectious diseases. This issue is particularly severe when dealing with multidrug-resistant strains such as *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, which have become increasingly resistant to conventional antibiotics (1). In light of these challenges, there is a need for alternative therapeutic approaches, particularly those based on natural products. Medicinal plants have long been recognized as

valuable sources of bioactive compounds, and recent studies have highlighted their potential as antimicrobial agents (2, 3). Essential oils derived from medicinal plants are rich in biologically active compounds, such as carvacrol and thymol, which exhibit potent antimicrobial activity. These compounds offer a promising alternative to synthetic antibiotics, especially in the treatment of resistant bacterial infections (4). *Thymus eriocalyx* is a native species of thyme in Iran, well known for its high content of phenolic compounds, including carvacrol and thymol. These phenolics are responsible for the plant's strong antimicrobial



© The Author(s)

Publisher: Ilam University of Medical Sciences

Journal of Ilam University of Medical Sciences, Volume 33, Issue 1, 2025

properties. Carvacrol, in particular, has been shown to disrupt bacterial cell walls and inhibit bacterial growth, making it a key compound in the fight against resistant bacterial strains (2, 13). This study aimed to compare the efficacy of pasture thyme essential oil with common antibiotics against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* bacteria.

Methods

The plant *Thymus eriocalyx* was collected from the Zagros Mountains in Kermanshah, Iran. After drying, the plant material was powdered, and its essential oil was extracted using a Clevenger apparatus. The essential oil's chemical makeup was examined with gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), which found the active compounds in the oil. For the antimicrobial assessment, two bacterial strains were selected: *Escherichia coli* (Gram-negative) and *Staphylococcus aureus* (Gram-positive). The antimicrobial activity of the essential oil was evaluated using the agar disk diffusion method. Sterile paper disks were impregnated with the essential oil at various concentrations and placed on agar plates inoculated with the bacterial strains. After incubation, the diameters of the inhibition zones were measured to assess the oil's antimicrobial efficacy. In addition, the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) of the essential oil were determined using broth microdilution methods. Data were analyzed using SPSS V.23 with a significance level of 0.01.

Results

TGC-MS analysis revealed that carvacrol (66.96%) was the major component of the essential oil of *Thymus eriocalyx*. The high percentage of carvacrol is consistent with the reported antimicrobial properties of this compound, as it is known to target and disrupt bacterial cell membranes, thereby inhibiting bacterial growth. The results of the agar disk diffusion test showed that the essential oil exhibited significant antimicrobial activity against both *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. At a concentration of 250 mg/mL, the essential oil produced an inhibition zone of 30 ± 0.05 mm against *Staphylococcus aureus* and 27 ± 0.02 mm against *Escherichia coli*. These results indicate that the essential oil is effective against both

Gram-positive and Gram-negative bacteria, although the activity was slightly stronger against *Staphylococcus aureus*. MIC and MBC values were also determined to quantify the antimicrobial potency of the essential oil. For *Staphylococcus aureus*, the MIC was found to be 3.9 µg/mL, and the MBC was 7.81 µg/mL. For *Escherichia coli*, the MIC was 31.25 µg/mL, and the MBC was 62.5 µg/mL. These values demonstrate that the essential oil of *Thymus eriocalyx* is more effective against *Staphylococcus aureus*, which is consistent with previous studies that have shown Gram-positive bacteria to be more susceptible to phenolic compounds such as carvacrol.

Conclusion

The essential oil from *Thymus eriocalyx*, which contains a lot of carvacrol and thymol, showed strong ability to fight against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. The results suggest that this essential oil could serve as a natural alternative to synthetic antibiotics in treating bacterial infections, particularly those caused by resistant strains. More studies are needed to fully understand how *Thymus eriocalyx* essential oil can be used in medical settings, including how well it works in living organisms and if it can be combined with other antimicrobial agents. The promising results of this study pave the way for future investigations into the development of plant-based antimicrobial treatments.

Authors' Contribution

Conceptualization, Methodology, Validation, Software, Formal Analysis, Software, Investigation, Resources, Data Curation, Writing—Original Draft Preparation, Writing—Review & Editing, Visualization, Supervision, Project Administration: SF, FR, IA.

Ethical Statement

Given that no human-animal sample was used, there was no need to prepare an ethics code. The authors adhered to ethical standards by avoiding data fabrication, falsification, plagiarism, and misconduct.

Conflicts of Interest

The authors declare no conflict of interest.

Funding

This research did not receive any specific

grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Acknowledgment

Authors are deeply grateful to all of colleagues who helped them in conducting this research.

اثر کارواکرول به عنوان ترکیب پلی فنلی اصلی آویشن مرتعی بر مهار رشد باکتری ها

سمیه فرهمند^{۱*}، فرشید رضایی^۱، ایرج علیپور فرد^۲

^۱ گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

^۲ موسسه شیمی فیزیک، آکادمی علوم لهستان، ورشو، لهستان

اطلاعات مقاله

چکیده

نوع مقاله: پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۲/۱۴

تاریخ ویرایش: ۱۴۰۳/۰۶/۳۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۷/۲۵

تاریخ انتشار: ۱۴۰۴/۰۱/۲۷

نویسنده مسئول:

سمیه فرهمند

گروه زیست شناسی، دانشگاه

پیام نور، تهران، ایران

Email:

s.farahmand@pnu.ac.ir

مقدمه: با توجه به مقاومت روزافزون باکتری های بیماری زا نسبت به آنتی بیوتیک ها ضرورت دارد تا گیاهان دارویی حاوی آثار ضد باکتریایی شناسایی شوند. هدف از این مطالعه مقایسه اثر مهاری عطر مایه آویشن مرتعی نسبت به آنتی بیوتیک های رایج در برابر باکتری های /شریشیا کلی و /استافیلوکوکوس اورئوس است.

مواد و روش ها: این مطالعه در آزمایشگاه دانشگاه پیام نور استان تهران در سال ۱۴۰۱، به روش تجربی انجام شده است. بدین منظور، برگ و ساقه گیاه آویشن مرتعی از ارتفاعات کرمانشاه در مرحله گلدهی کامل جمع آوری گردید. اسانس گیری با روش تقطیر با آب (طرح کلونجر) و شناسایی ترکیبات عطر مایه توسط کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی صورت گرفت. اثر ضد میکروبی عطر مایه این گیاه در غلظت های متوالی ۰/۴۸ تا ۲۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر علیه دو گونه باکتریایی، /شریشیا کلی و /استافیلوکوکوس اورئوس، با تعیین حداقل غلظت بازدارندگی در محیط براث، حداقل غلظت کشندگی در محیط آگار و دیسک دیفیوژن بررسی شد و نسبت به آنتی بیوتیک های آمپی سیلین، سیپروفلوکساسین، اریترومایسین و سفکسیم به ترتیب با غلظت های ۱۰، ۵، ۱۵ و ۵ میلی گرم بر میلی لیتر ارزیابی گردید. از آمار توصیفی و آزمون آماری ANOVA برای تجزیه و تحلیل آماری با نرم افزار SPSS vol.23 با سطح معنی داری ۰/۰۱ استفاده شد.

یافته های پژوهش: تجزیه و تحلیل به روش گاز کروماتوگرافی جرمی نشان داد، در این گونه آویشن با ۴۲ ماده مؤثر، بیشترین ترکیب کارواکرول (۶۶/۹۶ درصد) است. غلظت های ۱۲۵، ۲۵۰ و ۶۲/۵ میلی گرم بر مول از عطر مایه در مهار هر دو باکتری بهتر از آنتی بیوتیک های انتخابی عمل کرده است. حداقل غلظت کشندگی برای باکتری های /شریشیا کلی و /استافیلوکوکوس اورئوس به ترتیب برابر ۶۲/۵ و ۷/۸۱ میکروگرم بر میلی لیتر بود.

بحث و نتیجه گیری: عطر مایه این گیاه در توقف رشد باکتری /استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به /شریشیا کلی مؤثر تر بود. با توجه به آثار ضد باکتریایی و آنتی سبتیک قابل توجه عطر مایه گیاه پیشنهاد می شود، آزمایش های بیشتری برای ارزیابی اثر آویشن مرتعی در نمونه حیوانی انجام گردد.

واژه های کلیدی: آویشن مرتعی، *Thymus eriocalyx* (Jalas (Ronniger)، /استافیلوکوکوس اورئوس، /شریشیا کلی، کارواکرول

استناد: فرهمند س، رضایی فرشید، علیپور فرد ایرج. اثر کارواکرول به عنوان ترکیب پلی فنلی اصلی آویشن مرتعی بر مهار رشد باکتری ها. مجله دانشگاه علوم پزشکی ایلام، فروردین ۱۴۰۴؛ ۳۳(۱): ۱-۱۷.

استفاده غیرمنطقی و مداوم از مواد شیمیایی باعث بروز پدیده مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها و پیدایش سویه‌های مقاوم شده و درمان بیماری‌ها در انسان و دام را با مشکل مواجه کرده است. هرساله درصد کشورهایی که در مبارزه با عوامل باکتریایی بیماری‌زا به مشکل مقاومت آنتی‌بیوتیکی برمی‌خورند، رو به افزایش است؛ از این رو، ضرورت دارد گیاهان دارویی با آثار ضدباکتریایی شناسایی گردند تا بتوان از آن‌ها به‌عنوان جایگزینی مناسب برای آنتی‌بیوتیک‌های مصنوعی استفاده کرد. امروزه تحقیقات گسترده‌ای درباره گیاهان دارویی انجام شده و داروهایی با منشأ طبیعی افق‌های جدیدی را برای جامعه پزشکان، داروسازان و پژوهشگران گشوده است (۱، ۲).

از زمان‌های قدیم، گیاهان دارویی به‌واسطه داشتن ترکیبات متفاوت در درمان بیماری‌های مختلف استفاده می‌شوند (۳). اخیراً متابولیت‌های ثانویه گیاهان دارویی مانند عطرمايه‌ها و عصاره‌های گیاهی از نظر آثار ضد میکروبی بررسی گردیده و مشخص شده است که اغلب عطرمايه‌های گیاهی استخراج‌شده از گیاهان دارویی خواص ضدقارچی، ضدانگل، ضدباکتری و ضد ویروس دارند (۴)؛ بنابراین، عطرمايه‌های گیاهی در زمینه‌های فارماکولوژیکی، داروشناسی گیاهی، میکروبیولوژی پزشکی و کلینیکی، فیتوپاتولوژی و نگهداری مواد غذایی استفاده می‌شوند (۵). با توجه به تنوع آب‌وهوایی و فلور گیاهی متنوع در ایران، امکان شناسایی ترکیبات مؤثر گیاهی در گیاهان مختلف بومی و استخراج آن‌ها به‌منظور تولید آنتی‌بیوتیک در سطح صنعتی و به مقدار فراوان وجود دارد (۶).

آویشن یکی از انواع مهم تیره نعناع Lamiaceae و از مشهورترین جنس‌های متعلق به گیاهان اسانس‌دار است (۷). آویشن یکی از مهم‌ترین گیاهان دارویی در ایران است. عطرمايه گل و برگ این گیاه به سبب داشتن دو ترکیب تیمول و کارواکرول آثار ضداسپاسم، ضدنفخ، ضدروماتیسم و ضد عفونی‌کننده قوی دارد. گیاه آویشن به علت داشتن عطرمايه‌های روغنی، کاربردهای وسیعی در صنایع دارویی و

غذایی دارد. در داروسازی از عطرمايه آویشن برای تهیه محلول‌های دهان‌شویه و شربت‌های ضدسرفه استفاده شده است (۸). عطرمايه آویشن مایعی زرد یا قهوه‌ای مایل به قرمز، با بوی مطبوع قوی، تند، پایدار و خنک‌کننده است که از تقطیر برگ‌ها و سرشاخه‌های گل‌دار استخراج می‌شود و ترکیبی از مواد شیمیایی مختلف است (۹). عطرمايه آویشن حاوی تانن‌ها، مواد اصلی تلخ، ساپونین‌ها و ضد عفونی‌کننده‌های گیاهی است. کشف گیاهان دارویی با تأثیرات ضد میکروبی، برای کاهش عوارض جانبی و کم کردن آثار سمی روی بافت‌ها و همچنین از لحاظ صرفه اقتصادی بسیار مورد توجه است (۱۰).

ماده مؤثر گیاهان دارویی جزئی از متابولیت‌های ثانویه گیاهان است. در حقیقت، این متابولیت‌ها حاصل فعالیت چرخه‌های بیوسنتزی فرعی هستند که از چرخه بیوسنتزی حیاتی متابولیسم اولیه مشتق می‌شوند و می‌توان آن‌ها را پایانه‌های متابولیسم در یاخته‌های گیاهی دانست. مطالعات فیتوشیمیایی نشان داده است که بخش عمده عطرمايه انواع مختلف آویشن از فلفل‌ها (۲۰ تا ۸۰ درصد) تشکیل شده است (۲) و خواص ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی گیاهان دارویی با مقدار کل ترکیبات فنولی رابطه مستقیم دارد و معمولاً گیاهانی که خواص ضد میکروبی بالایی دارند، خواص آنتی‌اکسیدانی مناسبی نیز دارند (۱۱). ترکیبات فنولی از طریق انتقال الکترون به رادیکال‌های آزاد، واکنش اکسیداسیون را متوقف می‌کنند (۱۲).

کارواکرول (Carvacrol) (۵- ایزوپروپیل-۲- متیل فنول) ترکیبی فنولی مونوترپنیک با فرمول شیمیایی $C_{10}H_{14}O$ است و خواص مختلف دارویی و بیولوژیکی از جمله ضدباکتری، ضدقارچی، آنتی‌اکسیدانی، ضدسرطان و ضدالتهاب دارد. کارواکرول با اتصال به کاتیون‌های سطح غشای پاتوژن‌ها باعث اختلال در عملکرد حیاتی آن‌ها می‌شود (۱۳)؛ همچنین با کاهش هیدرولیز می‌تواند بدون ایجاد تغییر در نفوذپذیری غشا، باعث حذف آدنوزین تری فسفات (ATP) Adenosine triphosphate داخل سلول باکتری گردد (۲).

عفونت‌های باکتریایی دستگاه ادراری می‌توانند توسط طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌ها ایجاد شده و با طیف وسیعی از علائم و نشانه‌های بالینی ظاهر شوند. در میان علل مختلف عفونت می‌توان به انتروباکتریاسه و استافیلوکوک اشاره کرد (۱۴). باکتری‌های گرم منفی مقاوم مانند انتروباکتریاسه تهدیدی جدی برای سلامت و اقتصاد هستند؛ به همین علت است که WHO فهرست اولویت‌بندی باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک را برای کشف و توسعه فوری درمان‌های جدید منتشر کرده است (۱۵). انتروباکتریاسه‌ها می‌توانند DNA را به سرعت از طریق ترانسپوزون‌ها، اینتگرئون‌ها و یا پلاسمید از سایر باکتری‌ها به دست آورند. ژن‌هایی که باعث مقاومت آنتی‌بیوتیکی می‌شوند، می‌توانند از یک گونه به گونه دیگر منتقل گردند. /شریشیا کلی از خانواده انتروباکتریاسه به فراوانی در مجاری روده انسان و دیگر حیوانات خونگرم یافت می‌شود. اغلب سویه‌های این باکتری بی‌خطر هستند؛ اما بعضی از آن‌ها باعث ۷۰-۹۰ درصد عفونت‌های دستگاه ادراری می‌گردند. علی‌رغم مطالعات بسیار، این باکتری می‌تواند سلامت انسان را به‌ویژه در بیمارستان‌ها، به خطر بیندازد؛ زیرا در محیط بیمارستان، نژادهای مقاوم به آنتی‌بیوتیک باقی می‌مانند (۱۶). استافیلوکوک‌ها علاوه بر اینکه فلور طبیعی بدن موجود زنده هستند، یکی از مهم‌ترین عوامل بیماری‌زای انسانی نیز محسوب می‌شوند. /استافیلوکوکوس اورئوس مهاجم‌ترین گونه است که با تولید انتروتوکسین، مسمومیت غذایی ایجاد می‌کند. این باکتری ممکن است به شکل همزیست روی پوست وجود داشته باشد و از بینی یک‌سوم از مردم جدا شود و موجب التهاب و عفونت گردد. استافیلوکوک اورئوس ممکن است بر سطوح خشک برای هفته‌ها تا ماه‌ها زنده بماند. اهمیت این موضوع برای کارکنان مراکز بهداشتی بسیار فراوان است؛ زیرا ممکن است این افراد نژاد مقاوم یا مهاجم استافیلوکوک را با خود حمل کنند (۱۷). با ظهور عوارض جانبی آنتی‌بیوتیک‌ها و بروز پدیده مقاومت دارویی در میکروارگانیسم‌ها، توجه دانشمندان و محققان به گیاه‌درمانی و مواد مؤثر در گیاهان دارویی معطوف

شده است. از خواص گیاه آویشن می‌توان به ضدقارچ، ضدحساسیت، ضدالتهاب، ضدکیت هیداتید لیسمانیا تروپیکا و محافظت از دستگاه عصبی اشاره کرد. پماد حاصل از عطرمایه آویشن در ترمیم و بهبود برخی بیماری‌های جلدی به‌ویژه زونا اثری مفید دارد. در بررسی تأثیر غلظت مهارکننده رشد عطرمایه آویشن بر باکتری‌های پوستی در روش میکروپلیت دایلوژن مشخص شد که MIC آویشن برای باکتری کورینه باکتریوم و /استافیلوکوکوس اورئوس یکسان و برابر با مقدار ۰/۰۳۹ میکروگرم بر لیتر است (۱۸).

علاوه بر گونه‌های مختلف گیاهی، یک گونه گیاهی خاص که در مناطق جغرافیایی مختلف می‌روید، نیز از ترکیبات فیتوشیمیایی و آثار ضد میکروبی متفاوتی برخوردار است؛ بنابراین، در صنعت داروسازی انتخاب گیاهی که بیشترین ماده مدنظر را دارد، توجیه فنی و اقتصادی بالایی دارد. تاکنون از آثار آنتی‌باکتریایی ترکیبات آویشن مرتعی گزارش کاملی ارائه نشده است؛ بنابراین، در این پژوهش به بررسی اثر عطرمایه آویشن مرتعی بر دو نوع باکتری شایع گرم مثبت و منفی (/استافیلوکوکوس اورئوس و /شریشیا کلی) پرداخته شد و اثر ضد میکروبی آن نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های رایج ارزیابی گردید.

مواد و روش‌ها

این مطالعه به روش تجربی در آزمایشگاه دانشگاه پیام نور استان تهران، در سال ۱۴۰۱ انجام شده است. با توجه به استفاده نکردن از نمونه انسانی-حیوانی، نیاز به تهیه کد اخلاق نبود. همه مواد شیمیایی استفاده شده با خلوص بالا تهیه گردید. دیسک‌های آنتی‌بیوگرام از شرکت پادتن طب ایران، محیط کشت از شرکت مرک (Merk) آلمان و باکتری‌های /استافیلوکوکوس اورئوس (ATTC25923) و /شریشیا کلی (ATTC2522) از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه شد.

جمع آوری نمونه و تهیه عطرمایه گیاه: آویشن مرتعی با نام علمی *Thymus eriocalyx* (Ronniger) Jalas در مرحله گل‌دهی، در اوایل خردادماه، از ارتفاعات زاگرس (استان کرمانشاه)، گیلان‌غرب، دهستان ویزنان، منطقه سرپالک با

جرمی 40-600 m/z تنظیم گردید. گاز حامل هلیوم ۹۹/۹۹ درصد و مقدار تزریق و سرعت جریان گاز 1 ml در دقیقه تنظیم شد. حجم 1 μl از عطرهای گیاه به دستگاه GC-MS تزریق گردید. در نهایت، نتایج به دست آمده از دستگاه بر اساس اندیس کوتاس و مراجعه به فرهنگ طبیعی ترکیبات طبیعی شناسایی شد.

تهیه سوسپانسیون باکتری: برای فعال کردن سوش های باکتریایی / استافیلوکوکوس / اورئوس و / اشریشیا کلی، به میزان پنج میلی لیتر از محلول نوترینت براث استریل درون ویال حاوی باکتری ریخته و با عمل پیست کردن، سوسپانسیون یکنواختی تهیه شد. پس از کشت هریک از باکتری ها در محیط نوترینت آگار و حصول کلنی تک، از روش های رنگ آمیزی و بررسی خصوصیات بیوشیمیایی به منظور تأیید باکتری ها استفاده گردید. در شرایط استریل و کنار شعله، چند کلنی از باکتری در پنج میلی لیتر محیط مایع استریل کشت داده شد و لوله های حاوی باکتری ۱۶ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار گرفت تا کدورت نسبی حاصل گردد. در نهایت، کدورت لوله ها با لوله شماره ۰/۵ مک فارلند (cfu/ml 108 × 5/1) مقایسه شد (۲۰).

روش های سنجش آثار ضد میکروبی: برای سنجش اثر ضد میکروبی از روش دیسک دیفیوژن آگار استفاده گردید؛ سپس میزان حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی اندازه گیری شد (۲). این پژوهش سه بار گردید و با سه تکرار صورت گرفت.

دیسک دیفیوژن آگار (Disc diffusion): غلظت اولیه عطرهای 500 mg/ml در نظر گرفته شد. با در نظر گرفتن ۱/۵ میلی لیتر محلول دی متیل سولفوکسید 100 (DMSO) درصد و ۰/۵ میلی لیتر عطرهای ۱۰۰ درصد، نسبت عطرهای محاسبه گردید؛ سپس به نسبت ۱ به ۲ عمل رقیق سازی انجام و سریال سرقته ها تهیه شد. برای تهیه دیسک های کاغذی آغشته به عطرهای آویشن / اریکالیس، دیسک ها در غلظت های ۰/۹۷، ۰/۹۵، ۳/۹، ۷/۸۱، ۱۵/۶۲، ۳۱/۲۵، ۶۲/۵، ۱۲۵، ۲۵۰، ۰/۴۸ میلی گرم بر میلی لیتر تهیه شد. از رقت های مختلف عطرهای در شرایط استریل توسط سمپلر و سرسمپلر سترون،

ارتفاع ۸۱۰ متر از سطح دریا، به طول و عرض جغرافیایی ۴۶ □ ۴۵ □ ۵۵ □ و ۳۴ □ ۸ □ ۴۲ جمع آوری گردید و به تأیید مرکز تحقیقات باریج رسید. ابتدا گیاه با آب مقطر به خوبی شسته شد و مدت چند روز در سایه و در دمای اتاق خشک گردید؛ سپس برگ و ساقه گیاه با آسیاب برقی پودر شد. در مرحله بعد، ۱۰۰ گرم از پودر خشک شده از گیاه در یک بالون یک لیتری وارد و آب مقطر به آن اضافه گردید؛ سپس بالن به دستگاه کلونجر متصل شد. استخراج عطرهای با استفاده از دستگاه کلونجر بر اساس فارماکوپه بریتانیا به مدت چهار ساعت انجام شد. عطرهای به دست آمده با استفاده از سولفات سدیم به میزان ۰/۱ وزن عطرهای، خشک و در شیشه های تیره و در بسته در دمای چهار درجه سانتی گراد در یخچال نگهداری گردید (۱۹).

اندازه گیری ترکیبات مؤثر عطرهای به روش کروماتوگرافی گازی- طیف سنجی جرمی (GC-MS): حجم یک میکرو لیتر از عطرهای گیاه به دستگاه GC-MS تزریق شد و سپس نتایج به دست آمده از دستگاه بر اساس اندیس کوتاس و مراجعه به فرهنگ طبیعی ترکیبات طبیعی شناسایی گردید. تفسیر طیف های GC-MS با استفاده از پایگاه داده های موسسه ملی استانداردها و فناوری (NIST) که بیش از ۶۲۰۰۰ الگو دارد و کتابخانه طیفی جرمی ویلی (Wiley) انجام شد. نام، وزن مولکولی و ساختار ترکیب مواد جداسازی شده تأیید گردید. دستگاه GC-MS ویژگی های ذیل را داشت:

از دستگاه کروماتوگرافی گازی- طیف سنجی جرمی (Aglient، آمریکا) شامل ردیاب جرمی Agilent HP-5973 با منبع یونیزاسیون الکترونی (EI) با انرژی ۷۰ الکترون ولت کوپل شده با دستگاه کروماتوگرافی گازی Agilent HP-6890 با ستون 8cb-ms cp-sil با طول 50 m قطر داخلی 25/0 mm و ضخامت فیلم ۰/۲۵ میکرومتر استفاده شد. برنامه ریزی حرارتی ستون از ۶۰ تا ۲۸۰ درجه سانتی گراد با سرعت افزایش دمای ۵°C در دقیقه و توقف در این دما به مدت دو دقیقه صورت گرفت. دمای محل تزریق دستگاه کروماتوگرافی گازی روی ۲۳۰ درجه سانتی گراد و دمای آنالایزر (کوادرپل) روی ۲۳۰ درجه سانتی گراد با گستره

۳۰ میکرولیتر برداشته و به آرامی به دیسک‌ها تزریق شد، نداشت؛ سپس در محیطی تاریک و بدون رطوبت به طور کامل خشک شد (جدول شماره ۱).

جدول شماره ۱. میزان عطرمایه موجود در هر دیسک در مقایسه با میزان رقت عطرمایه گیاه

میزان رقت عطرمایه (ml/mg)	میزان عطرمایه موجود در هر دیسک (mg)
۲۵۰	۸
۱۲۵	۴
۶۲/۵	۲
۳۱/۲۵	۱
۱۵/۶۲	۰/۵
۷/۸۱	۰/۲۵
۳/۹	۰/۱۲۵
۱/۹۵	۰/۰۶۲۵
۰/۹۷	۰/۰۳۱۲
۰/۴۸	۰/۰۱۵۶

تغلیظ شده (معادل ۵۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر) به لوله اول آزمایش اضافه گردید؛ سپس به آن ۱/۵ میلی لیتر از محلول دی‌متیل سولفو کسید ۱۰۰ درصد اضافه شد تا رقت ۲۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر به دست آید؛ سپس به همه لوله‌ها به جز لوله اول، نیم میلی لیتر از محلول دی‌متیل سولفو کسید اضافه گردید و از لوله اول نیم میلی لیتر به لوله دوم و بدین ترتیب، به نسبت ۱ به ۲ از عطرمایه‌ها به سریال رقت تهیه شد. پیش از اضافه کردن عطرمایه از یک لوله به لوله دیگر، با کمک دستگاه شیکر عطرمایه خوب هموزن و یکنواخت گردید. برای هر باکتری مجموعه‌ای از لوله‌های ده‌تایی آزمایش، با رقت‌های متوالی عطرمایه شامل ۲۵۰، ۱۲۵، ۶۲/۵، ۳۱/۲۵، ۱۵/۶۲، ۷/۸۱، ۳/۹، ۱/۹۵، ۰/۹۷، ۰/۴۸ میکروگرم بر میلی لیتر، یک لوله به عنوان کنترل مثبت و یک لوله به عنوان کنترل منفی تهیه شد. پس از تهیه رقت سریالی از عطرمایه، به همه لوله‌ها نیم میلی لیتر محیط کشت مولر هیتون براث اضافه گردید؛ سپس نیم میلی لیتر از سوسپانسیون میکروبی ۰/۵ مک‌فارلندی که از قبل تهیه شده بود، به لوله‌ها اضافه گردید.

حداقل غلظت کشندگی کمترین غلظت از دارو است که باعث مرگ باکتریایی می‌شود. برای به دست آوردن حداقل غلظت کشندگی، ۱۰ میلی لیتر از غلظت حداقل غلظت

سوسپانسیون میکروبی معادل ۰/۵ مک‌فارلند در سطح محیط کشت مولر هیتون آگار به صورت یکنواخت کشت داده شد؛ سپس دیسک‌های کاغذی آغشته به غلظت‌های مختلف عطرمایه آویشن، آنتی‌بیوتیک‌های شرکت پادتن طب (آمپی‌سیلین با غلظت ۱۰ میلی گرم بر میلی لیتر، سیپروفلوکساسین ۵ میلی گرم بر میلی لیتر، اریترومايسين ۱۵ میلی گرم بر میلی لیتر، سفکسیم ۵ میلی گرم بر میلی لیتر) (کنترل مثبت) و دیسک آغشته به محلول دی‌متیل سولفو کسید ۱۰۰ درصد (کنترل منفی) در سطح پلیت قرار گرفتند. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. سرانجام هاله‌های عدم رشد در اطراف هر دیسک با خط‌کش اندازه‌گیری گردیدند. برای حصول اطمینان، آزمایش‌ها برای هر سویه باکتری سه بار تکرار و میانگین قطر هاله عدم رشد در نظر گرفته شد (۲۰).

تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC): غلظت بازدارنده حداقلی کمترین غلظت یک ماده شیمیایی یا دارو است که می‌تواند از رشد قابل رؤیت یک نوع باکتری جلوگیری کند. به منظور تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی، از مجموعه‌ای از لوله‌های آزمایش ده‌تایی استفاده شد. ابتدا نیم میلی لیتر از عطرمایه

رفت. نتایج آزمایشگاهی به صورت میانگین و انحراف معیار برای سه آزمایش مستقل ارائه گردید.

یافته‌های پژوهش

بازده و ترکیبات شیمیایی عطرمایه آویشن مرتعی: پس از بررسی طیف‌های GC-MS، زمان بازداری، درصد ترکیبات و مقایسه طیف‌ها با داده‌های موسسه ملی استانداردها و تکنولوژی و ویلی، ۹۹/۹۹ درصد از کل عطرمایه گیاه *Thymus eriocalyx* با ۴۲ ترکیب مختلف شناسایی شد. ۱۱ ترکیب اصلی موجود در عطرمایه اندام‌های هوایی گیاه، ۸۹/۶۷ درصد و ۳۱ ترکیب دیگر تنها ۱۰/۳۳ درصد از عطرمایه این گیاه را تشکیل می‌دهند (جدول شماره ۲).

مهارکنندگی و غلظت‌های پیش از آن (همه رقت‌های موجود در لوله‌ها که کدورتی در آن‌ها مشاهده نشده است) روی محیط نوترینت آگار کشت سطحی داده شدند. همه پلیت‌های کشت‌شده به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردیدند. غلظت اولین کشت سطحی که هیچ رشدی را نشان نداد، به عنوان حداقل غلظت کشندگی در نظر گرفته شد (۲).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS vol.23 صورت گرفت. به منظور بررسی تفاوت معنی‌دار میان داده‌های به دست آمده، از آزمون آماری ANOVA استفاده گردید و سطح معنی‌داری $P < 0.01$ در نظر گرفته شد؛ همچنین برای مقایسه گروه‌ها، آزمون توکی به کار

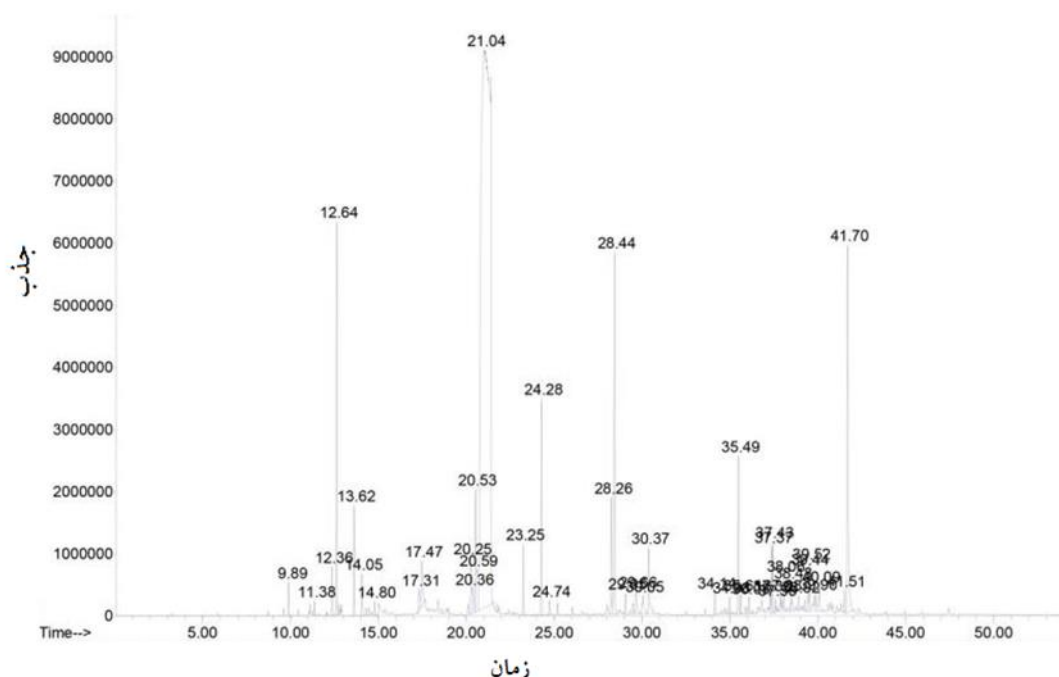
جدول شماره ۲. تجزیه و تحلیل مواد مؤثر عطرمایه گیاه آویشن مرتعی

ردیف	نام ترکیب	زمان بازداری (دقیقه)	درصد ترکیب
۱	Pinene -alpha	۹/۸۹	۰/۲۵
۲	Myrcene -beta	۱۱/۳۸	۰/۱۰
۳	Terpinene -alpha	۱۲/۳۶	۰/۳۹
۴	Para – Cymene	۱۲/۶۴	۳/۹۵
۵	terpinene -gamma	۱۳/۶۲	۰/۸۵
۶	beta – Terpineol, -cis	۱۴/۰۵	۰/۵۳
۷	Linalool L	۱۴/۸۰	۰/۱۴
۸	Borneol	۱۷/۳۱	۰/۳۷
۹	4 – Terpineol	۱۷/۴۷	۰/۸۳
۱۰	Biosol	۲۰/۲۵	۱/۰۲
۱۱	Phenol	۲۰/۳۶	۰/۳۷
۱۲	Tridecane	۲۰/۵۳	۱/۲۴
۱۳	Thymol	۲۰/۵۹	۱/۰۰
۱۴	Carvacrol	۲۱/۰۴	۶۶/۹۶
۱۵	Tetradecane	۲۳/۲۵	۰/۵۴
۱۶	Caryophyllene	۲۴/۲۸	۱/۸۷
۱۷	– Aromadendrene (+)	۲۴/۷۴	۰/۱۷
۱۸	Spathulenol (+)	۲۸/۲۶	۱/۲۱
۱۹	Caryophyllene oxide	۲۸/۴۴	۴/۵۴
۲۰	Naphthalene	۲۹/۰۵	۰/۱۹

۰/۳۸	۲۹/۶۶	Adamantane	۲۱
۰/۴۳	۳۰/۰۵	Farnesene-alpha	۲۲
۱/۰۴	۳۰/۳۷	Vulgarol	۲۳
۰/۲۰	۳۴/۱۴	Phthalic acid	۲۴
۰/۱۵	۳۴/۹۸	Cinerone-Cis	۲۵
۱/۵۷	۳۵/۴۹	Benzaldehyde	۲۶
۰/۱۸	۳۵/۶۱	2 , 6,6 -Benzylsulfonyl -3 ...trimethyl -	۲۷
۰/۲۰	۳۶/۰۸	Dibutyl phthalate	۲۸
۰/۱۶	۳۷/۳۰	Oxocamphene--6 (+)	۲۹
۰/۵۷	۳۷/۳۷	Durenol	۳۰
۰/۶۰	۳۷/۴۳	Isopimaradiene	۳۱
۰/۱۰	۳۷/۵۸	phenol-methoxy-2 -vinl -4	۳۲
۰/۱۷	۳۷/۸۸	Isodurol	۳۳
۰/۳۵	۳۸/۰۶	Methylcarbamate	۳۴
۰/۱۹	۳۸/۴۸	Benzene	۳۵
۰/۱۳	۳۸/۹۲	Indan	۳۶
۰/۴۵	۳۹/۴۴	Methoxyestrone-1	۳۷
۰/۴۷	۳۹/۵۲	3 , 6 , -ene -4 -Androst trione -17	۳۸
۰/۲۶	۳۹/۹۰	O – -Nitro -4-6 – Chilorol Cresol	۳۹
۰/۴۰	۴۰/۰۹	Quebrachamine	۴۰
۰/۲۰	۴۱/۵۱	benzo phenanthridin	۴۱
۵/۲۷	۴۱/۷۰	beta .3 -en -7 -1 Podocarp ol -	۴۲
۹۹/۹۹			مجموع

آویشن مرتعی درصد بالایی از مواد فنولی به‌ویژه کارواکرول دارد (شکل شماره ۱). کارواکرول مایع بی‌رنگ مایل به زرد، یک ترکیب فنلی و مشتق مونوترپن طبیعی است که بیشترین مقدار (۶۶/۹۶ درصد) از مواد تشکیل‌دهنده

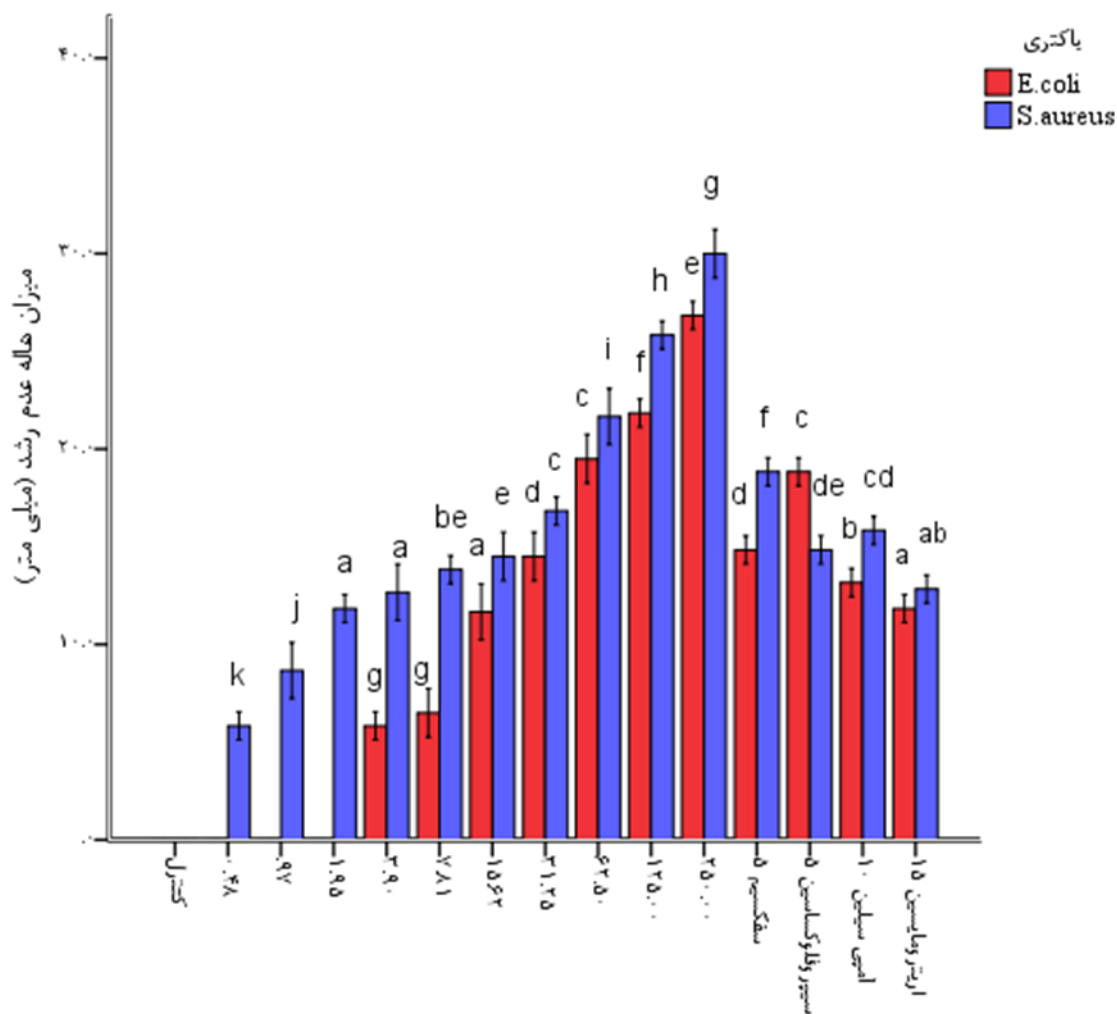
عطرمایه آویشن مرتعی را تشکیل می‌دهد. این ترکیب ضدالتهاب قوی، ضدآسترس، اکسیداتیو و مهارکننده رشد باکتری و قارچ است و سرعت مرگ سلول‌های سرطانی را افزایش می‌دهد (۱۳).



شکل شماره ۱. کروماتوگرام عطرمایه گیاه آویشن مرتعی به دست آمده از دستگاه GC-MS

مقدار هاله عدم رشد در حول دیسک‌های آنتی‌بیوگرام، اطراف دیسک سفکسیم ۵ میلی گرم بر میلی لیتر به میزان ۱۹ میلی متر مشاهده گردید؛ همچنین هاله عدم رشد در باکتری /شریشیا کلی در غلظت ۲۵۰، ۱۲۵ و ۶۲/۵ میلی گرم بر میلی لیتر، به ترتیب $\square$ 27۰/۰۲، $\square$ 22۰/۰۸ و $\square$ 20۰/۰۵ میلی متر بود، درحالی که بیشترین مقدار هاله عدم رشد در اطراف دیسک‌های آنتی‌بیوگرام، اطراف سیروفلوکساسین ۵ میلی گرم بر میلی لیتر به میزان ۱۹ میلی متر دیده شد؛ بنابراین، عطرمایه گیاه آویشن مرتعی در سه غلظت ۲۵۰، ۱۲۵ و ۶۲/۵ میلی گرم بر میلی لیتر روی هر دو باکتری مطالعه شده بیشتر از آنتی‌بیوتیک اثرگذار بود (شکل شماره ۲، جدول شماره ۳). حروف a تا k در شکل شماره ۲ اختلاف معنادار میان هاله عدم رشد را نشان می‌دهد ($P < 0.01$)؛ همچنین اثر عطرمایه گیاه آویشن مرتعی در توقف رشد باکتری‌های گرم مثبت بیشتر از باکتری‌های گرم منفی بود.

روش دیسک‌دیفیوژن آگار: عطرمایه گیاه آویشن مرتعی در همه غلظت‌ها اثر ضدباکتریایی مناسبی بر باکتری /استافیلوکوکوس /اورئوس داشت. غلظت‌های ۳/۹ تا ۲۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر عطرمایه آویشن مرتعی اثر مهارى بر باکتری /شریشیا کلی داشت (شکل شماره ۲، جدول شماره ۳). میان افزایش غلظت و افزایش قطر هاله عدم رشد هر دو باکتری آزمایش شده رابطه مستقیم برقرار بود. /استافیلوکوکوس /اورئوس با قطر هاله ۳۰ میلی متری در غلظت ۲۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر از عطرمایه آویشن مرتعی به عنوان حساس‌ترین سویه باکتریایی دیده شد. اثر مهارکنندگی عطرمایه با غلظت‌های ۲۵۰، ۱۲۵ و ۶۲/۵ میلی گرم بر میلی لیتر روی باکتری‌ها از هر چهار آنتی‌بیوتیک انتخابی بیشتر بود. هاله عدم رشد در باکتری /استافیلوکوکوس /اورئوس در غلظت ۲۵۰، ۱۲۵ و ۶۲/۵ میلی گرم بر میلی لیتر، به ترتیب $\square$ 30۰/۰۵، $\square$ 26۰/۰۸ و $\square$ 22۰/۰۵ میلی متر بود، درحالی که بیشترین



غلظت های مختلف اسانس و آنتی بیوگرام (میلی گرم / میلی لیتر)

شکل شماره ۲. میزان حاله عدم رشد اطراف هر دیسک (کنترل: DMSO 100 درصد)

جدول شماره ۳. مقایسه میزان حاله عدم رشد اطراف هر دیسک با آنتی بیوگرام (کنترل: DMSO 100 درصد)

عطر مایه (میلی گرم بر میلی لیتر)	استافیلوکوکوس اورئوس	اشریشیا کلی
اریترومايسين ۱۵	۱۳ ± ۰/۰۱ ^{a, b}	۱۲ ± ۰/۰۲ ^a
آمپی سیلین ۱۰	۱۶ ± ۰/۰۱ ^{c, d}	۱۳ ± ۰/۰۳ ^b
سیپروفلوکساسین ۵	۱۵ ± ۰/۰۱ ^{e, d}	۱۹ ± ۰/۰۳ ^c
سفکسیم ۵	۱۹ ± ۰/۰۲ ^f	۱۵ ± ۰/۰۱ ^d
۲۵۰	۳۰ ± ۰/۰۵ ^g	۲۷ ± ۰/۰۲ ^e
۱۲۵	۲۶ ± ۰/۰۸ ^h	۲۲ ± ۰/۰۸ ^f
۶۲/۵	۲۲ ± ۰/۵۷ ⁱ	۲۰ ± ۰/۰۵ ^e
۳۱/۲۵	۱۷ ± ۰/۲۸ ^c	۱۵ ± ۰/۰۴ ^d
۱۵/۶۲	۱۵ ± ۰/۰۵ ^e	۱۲ ± ۰/۰۷ ^a

۷±۰/۰۲ ^g	۱۴±۰/۲۸ ^{b, e}	۷/۸۱
۶±۰/۰۱ ^g	۱۳±۰/۰۷ ^a	۳/۹
۰	۱۲±۰/۰۵ ^a	۱/۹۵
۰	۹±۰/۰۵۷ ^j	۰/۹۷
۰	۶±۰/۰۲ ^k	۰/۴۸
۰	۰	شاهد

(حروف a تا k اختلاف معنادار میان هاله عدم رشد را نشان می دهد و $P < 0.01$).

۳۱/۲۵ میکروگرم بر میلی لیتر بود. حداقل غلظت کشندگی عطرمایه آویشن مرثی برای باکتری گرم منفی /شریشیا کلی بیش از ۶۲/۵ میکروگرم بر میلی لیتر و برای باکتری گرم مثبت /استافیلوکوکوس اورئوس بیش از ۷/۸۱ میکروگرم بر میلی لیتر بود (جدول شماره ۴).

حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC): مقدار حداقل غلظت مهارکنندگی در هر دو باکتری ذکر شده کمتر از حداقل غلظت کشندگی بود. حداقل غلظت مهارکنندگی عطرمایه آویشن مرثی برای /استافیلوکوکوس اورئوس و /شریشیا کلی به ترتیب ۳/۹ و

جدول شماره ۴: نتایج مربوط به تعیین MIC و MBC غلظت های متفاوت عطرمایه گیاه آویشن مرثی

عطرمایه گیاه (میکروگرم بر میلی لیتر)		نوع باکتری
MBC	MIC	
۷/۸۱	۳/۹	/استافیلوکوکوس اورئوس
۶۲/۵	۳۱/۲۵	/شریشیا کلی

عصاره گیاهان دارویی جایگاه قابل ملاحظه ای را در طب سنتی به خود اختصاص داده است. اخیراً استفاده از ترکیباتی که به طور کلی بی ضرر تلقی می شوند و به GRAS (افزودنی مجاز) معروف اند، توجه فراوانی را به خود معطوف کرده است. ترکیبات طبیعی فعال بیولوژیکی مشتق از گیاهان از جمله مهم ترین ترکیبات افزودنی مجاز هستند؛ زیرا مواد حاصل از عطرمایه ها و عصاره های گیاهان را می توان برای حفظ و نگهداری مواد غذایی، استفاده در داروسازی و به عنوان عوامل درمانی جدید علیه بیماری ها و عفونت های میکروبی به کار برد (۲۲).

مطالعه حاضر اولین گزارش از بررسی ترکیبات فیتوشیمیایی و اثر مهارکنندگی برگ و ساقه گیاه آویشن مرثی ارتفاعات کرمانشاه بر رشد باکتری های /شریشیا کلی و /استافیلوکوکوس اورئوس در مقایسه با آنتی بیوتیک ها را نشان می دهد. در این پژوهش، بازده استخراج عطرمایه آویشن مرثی ۹۹/۹۹ درصد است. ترکیب اصلی تشکیل دهنده

بحث و نتیجه گیری

بیماری ها و عفونت های باکتریایی به علت شیوع بالای آن در جامعه و بیمارستان ها و بار اقتصادی که بر دوش بیمار و دولت دارد، یکی از مهم ترین مشکلات بهداشتی در زمان حاضر است. علاوه بر این، ظهور مداوم سویه های مقاوم به آنتی بیوتیک ها به درمان نشدن مؤثر منجر می شود. باکتری ها سازوکارهای هوشمند مختلفی را برای غلبه بر روش های درمانی و زنده ماندن در بدن موجود زنده ایجاد کرده اند؛ همچنین علاوه بر هزینه مالی بالایی که بیش از یک میلیارد دلار است، فرایند توسعه عامل آنتی باکتریایی جدید زمان بسیاری (بیش از ۱۰ سال) طول می کشد تا به بازار برسد؛ بنابراین، در سراسر جهان تمایل بسیاری به سوی گیاهان دارویی وجود دارد؛ زیرا تخمین زده می شود که ۸۰ درصد از مردم و ۳۰ درصد از فرمولاسیون های دارویی به طور اصلی به گیاهان دارویی وابسته هستند (۲۱). استفاده از عطرمایه و

عطرمايه آویشن مرتعی کارواکرول (۶۶/۹۶ درصد) است. این ترکیب خواص مختلف دارویی و بیولوژیکی همچون ضدباکتری، ضدقارچی، آنتی اکسیدانی، ضدسرطان و ضدالتهاب دارد. کارواکرول به کاتیون‌های سطح غشای میکروارگانیسم‌ها متصل می‌شود و با اختلال در عملکرد حیاتی آن‌ها، روی نفوذپذیری ترکیباتی مانند پتاسیم و هیدروژن اثر می‌گذارد؛ بنابراین، از نظر دارویی اهمیت دارد (۲). این ماده به سبب داشتن خواص ضد میکروبی قوی، به عنوان ماده نگه‌دارنده در صنایع غذایی به کار گرفته می‌شود؛ همچنین آثار حفاظت نورونی، کبدی و کلیوی این مواد پلی‌فنلی در نمونه بیماری‌های مختلف مشخص شده است. کارواکرول تجمع پلاکت در خون را مهار می‌کند و می‌تواند مسیرهای سیگنالینگ در گیر در التهاب سلولی را تعدیل نماید (۱۳). عطرمايه این گیاه در غلظت‌های ۲۵۰، ۱۲۵ و ۶۲/۵ میلی گرم بر مول در مهار هر دو باکتری، بهتر از آنتی‌بیوتیک‌های انتخابی عمل کردند. غلظت‌های کمتر از ۳/۹ میلی گرم بر میلی‌لیتر از عطرمايه در جلوگیری از رشد باکتری /شریشیا کلی مؤثر نبود، اما در اطراف همه دیسک‌ها در پلیت حاوی باکتری /استافیلوکوکوس /اورئوس هاله عدم رشد مشاهده شد. حداقل غلظت مهارکنندگی عطرمايه آویشن مرتعی برای /استافیلوکوکوس /اورئوس و /شریشیا کلی به ترتیب ۳/۹ و ۳۱/۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر و حداقل غلظت کشندگی عطرمايه این گیاه برای /استافیلوکوکوس /اورئوس و /شریشیا کلی به ترتیب بیش از ۷/۸۱ و ۶۲/۵ میلی گرم بر میلی‌لیتر بود. ترکیبات فنلی با تداخل در عملکرد غشای سیتوپلاسمی و دخالت در ورود و خروج مواد به داخل سلول، تأثیر ضد میکروبی خود را اعمال می‌کنند. باکتری‌های گرم مثبت فقط یک لایه در دیواره سلولی خود دارند، درحالی‌که در باکتری‌های گرم منفی، این دیوار از چندین لایه تشکیل شده است. این ممکن است حساسیت بیشتر باکتری‌های گرم مثبت به عطرمايه گیاهی را توضیح دهد؛ به عبارت دیگر، باکتری‌های گرم منفی یک غشای خارجی و یک فضای پری پلاسمیک دارند که در باکتری‌های گرم مثبت وجود ندارد. غشای خارجی باکتری‌های گرم منفی

به عنوان سدی در برابر نفوذ برخی از مولکول‌های آنتی‌بیوتیک شناخته می‌شود. فضای پری پلاسمیک همچنین حاوی آنزیم‌هایی است که می‌توانند مولکول‌های خارجی وارد شده را تجزیه کنند (۱۵).

محمدپور و همکاران به بررسی خواص ضدباکتریایی و ضدقارچی عطرمايه گونه‌هایی از سه جنس آویشن پرداختند. مقایسه عطرمايه سه گونه آویشن دناپی، شیرازی و مازندران بیان‌کننده این موضوع است که عطرمايه این گیاهان اثر فراوانی بر مهار رشد باکتری و قارچ دارد. بیشترین اثر عطرمايه این سه گونه روی باکتری /شریشیا کلی گزارش شد (۲۳).

در پژوهش حاضر، عطرمايه آویشن مرتعی بیشترین تأثیر را در مهار باکتری /استافیلوکوکوس /اورئوس داشت؛ اما به‌طور کلی قدرت مهارکنندگی در هر دو باکتری مطالعه‌شده را داشت. نتایج مطالعه محمدپور و همکاران با پژوهش حاضر مطابقت دارد.

طالعی و همکاران به بررسی ترکیبات شیمیایی و اثر ضدباکتریایی عطرمايه آویشن ارتفاعات خرم‌آباد و الیگودرز بر تعدادی از باکتری‌های گرم منفی و مثبت پرداختند. نتایج بیان‌کننده این مطلب بود که اثر مهارکنندگی عطرمايه این دو آویشن بر باکتری‌های گرم مثبت بیش از باکتری‌های گرم منفی است (۱۲). یافته‌های مطالعه طالعی و همکاران با نتایج تحقیق حاضر همخوانی دارد.

اخوان و همکاران پس از بررسی اثر مهارکنندگی عطرمايه آویشن شیرازی (*Zataria Multiflora*) روی رشد باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی بیان کردند که با افزایش مقدار عطرمايه این گیاه، اثر بازدارندگی به شکل معنی‌داری و قطر هاله عدم رشد افزایش می‌یابد؛ همچنین عطرمايه آویشن شیرازی، در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌ها، به‌طور چشمگیری به کاهش رشد باکتری‌ها منجر می‌شود و تأثیر بیشتری روی مهار باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی داشته است (۲۴). مطالعه اخوان و همکاران نیز نتایجی مشابه پژوهش حاضر ارائه داده است.

فرهمنده و همکاران به بررسی فیتوشیمیایی و اثر

دریافت نکرد.

مشارکت نویسندگان

نویسندگان دارای سهم مساوی در نگارش مقاله می

باشند.

بازدارندگی عطرمایه آویشن مرتعی بر رشد باکتری‌های *انتروکوکوکوس فکالیس* و *سالمونلا تایفی* موریوم پرداختند. نتایج بیان‌کننده این مطلب بود که عطرمایه آویشن مرتعی به کاهش رشد بیشتری در باکتری‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های بررسی شده منجر گشته است؛ همچنین باکتری‌های گرم مثبت مطالعه شده نسبت به عطرمایه این گیاه حساس‌تر بودند (۲). مطالعات فرهمند و همکاران نیز از نظر نتایج، با این پژوهش همسو هستند.

علاوه بر گونه‌های مختلف گیاهی، یک گونه گیاهی خاص که در مناطق جغرافیایی مختلف می‌روید، نیز ترکیبات فیتوشیمیایی و آثار ضد میکروبی متفاوتی دارد. عطرمایه بخش‌های هوایی گیاه آویشن مرتعی به دست آمده از ارتفاعات کرمانشاه حاوی ۶۶/۹۶ درصد کارواکرول (ترکیب فنولی) است. عطرمایه آزمایش شده فعالیت ضدباکتریایی امیدوارکننده‌ای را نشان داده است؛ بنابراین، شناسایی و جداسازی متابولیت‌های ثانویه این گیاه دارویی به شرکت‌های دارویی در تولید داروهای جدید برای درمان بیماری‌های ناشی از میکروب‌ها، از جمله باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها کمک خواهد کرد. پیشنهاد می‌شود، برای استفاده‌های درمانی از نتایج این مطالعه کارآزمایی بالینی صورت گیرد تا میزان فراهمی‌زیستی (Bioavailability) آویشن مرتعی و آثار جانبی آن برای استفاده‌های انسانی مشخص گردد.

سپاس‌گزاری

از همه همکارانی که در انجام این پژوهش ما را یاری کردند، کمال تشکر و قدردانی را داریم.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌کنند که هیچ تعارض منافی وجود ندارد.

کد اخلاق

با توجه به استفاده نکردن از نمونه انسانی-حیوانی، نیاز به تهیه کد اخلاق نبود.

حمایت مالی

این تحقیق هیچ کمک مالی خاصی از سازمان‌های تأمین مالی در بخش‌های عمومی، تجاری یا غیر انتفاعی

References

- Farahmand S, Rasooli A, Saffarpour M. Antifungal activities of methanolic extract of plants. *EJBio*. 2016; 1:42-4.
- Farahmand S, Rezaei F, Kavosi S. Phytochemical investigation and inhibitory effect of *Thymus eriocalyx* (Ronniger) J alas essential oil on the growth of bacteria (*Enterococcus faecalis* and *Salmonella typhimurium*). *Eco-Phytochem J Med Plants*. 2023; 11:67-78. (Persian). doi: 10.30495/ejmp.2022.1963334.1698.
- Lotfi Vanashi A, Ghamari F, Farahmand S, Jamshidi A. 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. *Iran J Nutr Sci Food Technol*. 2023;18:39-49.
- Zia M, Bayat M, Khalkhali H. In vitro antifungal effect of *Thymus vulgaris* essence on *Candida albicans* isolated from patients with oral candidiasis. *JSKUMS*. 2011;13:44-52. (Persian).
- Sharma A, Shrestha S, Upadhyay S, Rijal P. Clinical and bacteriological profile of urinary tract infection in children at Nepal Medical College Teaching Hospital. *Nepal Med Coll. J* 2011; 13:24-6.
- Davarpanah M, Bakhtiari R, Karimi M, Hosseini SF, Esmacili A. Iranian native medicinal plants affecting *Staphylococcus aureus* as septic pathogens: an updated review. *Egypt J Vet Sci*. 2022; 53:1-8. doi: 10.21608/ejvs.2021.83742.1246.
- Naghbi F, Mosadegh M, Mohammadi MS, Ghorbani A. Labiatae family in folk medicine in Iran: from ethnobotany to pharmacology. *Iran J Pharm Res*. 2005; 4:63-79. (Persian). doi: <https://doi.org/10.22037/ijpr.2010.619>.
- Kalvandi R, Atri M, Jamzad Z, Safikhani K. Taxonomic study of *Thymus eriocalyx* (Ronniger) J alas in Iran with emphasis on Floristic marker and using special station method. *TBJ*. 2012; 4:63-76. doi: 20.1001.1.20088906.1391.4.10.7.6.
- Zardini HZ, Tolueinia B, Momeni Z, Hasani Z, Hasani M. Analysis of antibacterial and antifungal activity of crude extracts from seeds of *Coriandrum sativum*. *GJMS*. 2012; 10: 167-71.
- Atai Z, Ansari M, Mousavi A, Mirzaei A. In-vitro study of antifungal effects of selected herbal extracts on standard and wild strains of *Candida albicans*. *J Iran Dent Assoc*. 2007; 19:91-97. (Persian).
- Foroughi A. A review on medicinal plants; An emphasis on antimicrobial effects. *Vet Res*. 2022; 35:2-17. (Persian). doi: 0.22092/VJ.2021.353171.1809.
- Talei GR, Meshkatsadat MH, Mosavi SZ. Antibacterial activity native medicinal plants extracts in Lorestan, Iran. *J Gorgan Univ Med Sci*. 2008; 10:31-35. (Persian).
- Kaeidi A, Rahmani M, Hassanshahi J. The protective effect of carvacrol and thymol as main polyphenolic compounds of thyme on some biologic systems in disease condition: A narrative review. *J Rafsanjan Univ Med Sci*. 2020; 19:81-96. (Persian). doi:10.29252/jrums.19.1.81.
- SamadiAfshar S, NikAkhtar A, SamadiAfshar S, Farahmand S. Antibacterial Property of Silver Nanoparticles Green Synthesized from *Stachys schtschegleevii* Plant Extract on Urinary Tract Infection Bacteria. *Curr Microbiol*. 2024; 8:135. doi: 10.1007/s00284-024-03664-2.
- Breijyeh Z, Jubeh B, Karaman R. Resistance of gram-negative bacteria to current antibacterial agents and approaches to resolve it. *Molecules*. 2020; 25:1340. doi: 10.3390/molecules25061340.
- Tache AM, Dinu LD, Vamanu E. Novel insights on plant extracts to prevent and treat recurrent urinary tract infections. *Appl Sci*. 2022; 12:2635. doi:10.3390/app12052635.
- Cimolai N. MRSA and the environment: implications for comprehensive control measures. *ESCMID* 2008; 27:481-93. doi: 10.1007/s10096-008-0471-0.
- Faramarz Isfahanian S, Sadrnia M, Nasri S, Sobhanian H. Antimicrobial effect of *Zataria* essential oil on the skin bacteria in wistar rats. *J Complement Med Res*. 2020; 10: 56-67. doi: 10.32598/cmja.10.1.945.1.
- Mehran M, Hoseini H, Hatami A, Taghizade M, Safaie A. Investigation of components of seven species of thyme essential oils and comparison of their antioxidant properties. *J Med Plants*. 2016; 15:134-40. (Persian). doi: 20.1001.1.2717204.2016.15.58.6.4.
- Hasanloo T, Salehi M, Sepehrifar R, Farahmand S. The effect of different doses of silymarin, extracted from the seeds of the *Silybum marianum* L. Gaertn on the growth of 6 bacterial species. *Res Med*. 2014; 3894:193-9. (Persian).
- Marouf RS, Mbarga JAM, Ermolaev AV, Podoprighora IV, Smirnova IP, Yashina NV, et al. Antibacterial activity of medicinal plants against uropathogenic *Escherichia coli*. *J Pharm Bioallied Sci*. 2022; 14:1-12. doi:10.4103/jpbs.jpbs_124_21.
- Duarte MCT, Leme EE, Delarmelina C, Soares AA, Figueira GM, Sartoratto A. Activity of essential oils from Brazilian medicinal plants on *Escherichia coli*. *J*

- Ethnopharmacol. 2007; 111:197-201. doi: 10.1016/j.jep.2006.11.034.
23. Mohammadpour G, Majd A, Najhadsatari T, Mehrabian S, Hossinzadehkalagar A. Antibacterial and antifungal effects of three genus of thyme plants and two ecotype of ziziphora and satureja bachtiarica essential oils. JSIAU. 2011; 20:111-20. (Persian).
24. Akhavan F, Tahmuzy Didehban S, Hojjati M. Antibacterial effects of thyme, savory, rosemary, mint and peppermint essential oils on five gram-positive bacteria in comparison with effects of three antibiotics on the bacteria. Iran. J Nutr Sci Food Technol. 2020; 15: 97-103. (Persian).