

Antibacterial properties of the aqueous extract of *Hypericum coris* and relative purification of its antibacterial compounds

Ali Mirzaee¹ , Shahriar Saeedian¹ , Hamid Darvishnia^{1*} , Parastoo Mardani¹ ,
AmirArsalan Kavyanifard¹ 

¹ Dept of Biology, Payam Noor University, Tehran, 1395-4697, Iran

Article Info

Article type:
Research article

Article History:

Received: Jan. 06, 2025

Received in revised form:

Apr. 26, 2025

Accepted: May. 29, 2025

Published Online: Jul. 27, 2025

* Correspondence to:

Hamid Darvishnia

Dept of Biology, Payam Noor
University, Tehran, 1395-4697,
Iran

Email:

darvishnia_h@pnu.ac.ir

ABSTRACT

Introduction: *Hypericum coris* is used in western Iran for wound disinfection. This study aimed to investigate the antibacterial properties of the aqueous extract of this plant against certain pathogenic bacteria and to purify its antibacterial compounds partially.

Materials & Methods: The aerial parts of the plant were extracted using maceration. The antibacterial characteristics of the extract were evaluated against common wound infection-causing bacteria using disk diffusion and MIC. To partially purify the antibacterial compounds, the extract was subjected to various solvents, and each fraction was assessed for its antibacterial properties. Data analysis was conducted using one-way analysis of variance (ANOVA), and means were compared using Duncan's multiple range test. It was performed using SPSS V.18 at a significance level ($p \geq 0.05$).

Results: The findings indicated that the aqueous extract was effective against all the studied bacteria, with a greater impact on Gram-positive bacteria. It was also determined that only the polar fractions have antibacterial activity, and their antibacterial potency increased as polarity increased.

Conclusion: This was the first report on the effects of the aqueous extract of *H. coris* on pathogenic bacteria, demonstrating that this extract is effective against all studied bacterial strains. Additionally, it was found that the antibacterial compounds present in the extract are polar.

Keywords: Pathogen bacteria, Antibacterial compounds, Aqueous extract, *Hypericum coris*

Cite this paper: Mirzaee Z, Saeedian Sh, Darvishnia H, Mardani P, Kavyanifard AA. Antibacterial properties of the aqueous extract of *Hypericum coris* and relative purification of its antibacterial compounds. *Journal of Ilam University of Medical Sciences*. 2025;33(3):67-81.

Introduction

The emergence of bacterial resistance to antibiotics has posed serious challenges in combating them (1). Wound infections are increasingly considered a major problem in healthcare, involving various bacteria. Addressing these bacteria is essential for effectively managing wound infections (2, 3). Medicinal plants for treating wound infections caused by various bacteria have garnered attention as a promising therapeutic option (4). According to numerous studies, these plants have proven to be effective natural treatments in controlling wound infections, thus improving the speed and quality of wound healing in

patients (4, 5). The use of plants from the *Hypericum* genus is particularly highlighted due to their antibacterial properties as therapeutic options for wound infections. Research has shown that standardized extracts from these plants can effectively inhibit the growth of pathogenic bacteria such as *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* (1), as well as *Bacillus subtilis* and *Escherichia coli* (3). *Hypericum coris*, also known as Heath-leaved St. John's wort or yellow coris, is a species of flowering plant in the *Hypericaceae* family. This herbaceous, flowering, and perennial plant is typically found growing wild among fields or pasture areas. *H. coris* grows in various regions of Iran, including the foothills of

the Alborz Mountains and parts of western Iran (2, 5). For centuries, in the southwestern part of Iran, plants from the *Hypericum* genus have been traditionally used as a remedy for superficial infections, especially in the treatment of skin wound infections (3). Based on this background, the *H. coris* plant was selected, and efforts were made not only to investigate the antibacterial effects of its aqueous extract but also to relatively purify its antibacterial compounds. Since no studies have been conducted on the antibacterial effects of the aqueous extract of *H. coris*, conducting this research seemed necessary.

Methods

The aerial parts of the plant, including flowers, leaves, and stems, were dried in the shade at a temperature of 25°C and then powdered. The maceration method was used to prepare the aqueous extract of *H. coris* (AEHC). The bacterial strains studied included *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Bacillus subtilis* (ATCC 11774), and *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213). The DDT and MIC methods were employed to assess the antibacterial activity. The MBC was determined using the microdilution method. To achieve relative purification of the antibacterial compounds, the obtained AEHC was washed using various polar and nonpolar solvents, including hexane, chloroform, acetone, ethyl acetate, ethanol, and methanol. Different fractions of each solvent were extracted and concentrated under sterile conditions. Then, a disk with a concentration of 300 µg was prepared from each fraction and evaluated for antibacterial properties using the DDT method. Finally, the MIC of the purified fractions was also determined. Data analysis was performed using one-way analysis of variance with SPSS V.18. The Duncan multiple range test was utilized for mean comparisons at a 95% confidence level.

Results

The results obtained from DDT demonstrated that AEHC was effective against all the studied bacteria; however, its impact on Gram-positive bacteria was greater than that on Gram-negative bacteria. The MIC determination results showed that AEHC had the most significant effect on Gram-positive bacteria, as it inhibited the growth of these bacteria at concentrations of 64 mg/mL and

above. The MIC values for *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* were determined to be 128 and 256 micrograms per milliliter, respectively. The results of the antibacterial effects of the fractions obtained from washing AEHC indicated that as we move from non-polar to polar solvents, the antibacterial potency of the fractions increases. Furthermore, the fractions obtained from nonpolar solvents (including hexane, chloroform, and acetone) showed no antibacterial properties. The MIC value of the ethyl acetate fraction was 128, 128, 128, and 256 mg/mL for *B. subtilis*, *S. aureus*, *E. coli*, and *P. aeruginosa*, respectively. In the case of the ethanol fraction, this value was 64, 64, 64, and 128 mg/mL, respectively. For the methanol fraction, the MIC values for *B. subtilis*, *S. aureus*, and *E. coli* were 32 mg/mL; however, *P. aeruginosa* was more resistant to this fraction, exhibiting growth only at concentrations of 64 mg/mL and above.

Conclusion

Current findings indicated that AEHC of the aerial parts of *H. coris* was effective against all the studied pathogenic bacteria. Although its antibacterial effects were more pronounced against Gram-positive bacteria, it can still be regarded as a broad-spectrum antibacterial agent. Additionally, it was determined that the antibacterial compounds present in AEHC are polar, and its methanol fraction could be considered a potential antibacterial candidate. To achieve such a goal, it is essential to identify the precise structures of these compounds and conduct further studies on animal and human cells to gain a complete understanding of their potential side effects.

Authors' Contribution

Conceptualization, Methodology, Validation, Formal Analysis, Investigation, Software, Resources, Data Curation, Writing—Original Draft Preparation, Writing—Review & Editing, Visualization, Supervision, Project Administration: AM, SS, HD, PM, AK.

Ethical Statement

Due to the lack of animal testing, there was no need to obtain an ethics code. The authors avoided data fabrication, falsification, plagiarism, and misconduct.

Conflicts of Interest

The authors declare no conflict of interest.

Funding

No financial support was provided for this research.

Acknowledgment

The present article was extracted from the MSC dissertation written by Ali Mirzaei. The authors thank the all of participants and persons who help in this project.

ویژگی‌های ضدباکتریایی عصاره آبی *Hypericum coris* و خالص‌سازی نسبی ترکیبات ضدباکتریایی آن

علی میرزایی^۱، شهریار سعیدیان^۱، حمید درویش‌نیا^{۱*}، پرستو مردانی^۱، امیرارسلان کاویانی‌فرد^۱

^۱ گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ۱۳۹۵-۴۶۹۷، ایران

چکیده

اطلاعات مقاله

مقدمه: در مناطق غربی ایران، از گیاه *Hypericum coris* برای ضد عفونی زخم‌ها استفاده می‌شود. هدف از این مطالعه بررسی خواص ضدباکتریایی عصاره آبی این گیاه علیه برخی باکتری‌های بیماری‌زا و نیز خالص‌سازی نسبی ترکیبات ضدباکتریایی آن بود.

نوع مقاله: پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۰/۱۷

تاریخ ویرایش: ۱۴۰۴/۰۲/۰۶

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۳/۰۸

تاریخ انتشار: ۱۴۰۴/۰۵/۰۵

مواد و روش‌ها: از بخش‌های هوایی گیاه و به روش خیساندن، عصاره‌گیری انجام گرفت. ویژگی‌های ضدباکتریایی عصاره علیه برخی از باکتری‌های شایع عامل عفونت زخم و با استفاده از روش دیسک‌گذاری و تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی بررسی شد. به منظور تخلیص نسبی ترکیبات ضدباکتریایی، عصاره با کمک حلال‌های مختلف استخراج و هر فرکشن از نظر خاصیت ضدباکتریایی بررسی گردید. تحلیل داده‌ها به روش آنالیز واریانس یک‌طرفه انجام و مقایسه میانگین‌ها با روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن با استفاده از نرم‌افزار SPSS vol.18 در سطح معنی‌داری ($P \leq 0.05$) انجام شد.

نویسنده مسئول:

حمید درویش‌نیا

یافته‌های پژوهش: نتایج نشان داد، عصاره آبی روی همه باکتری‌های مطالعه‌شده مؤثر و تأثیر آن بر باکتری‌های گرم مثبت بیشتر است؛ همچنین مشخص گردید، تنها فرکشن‌های قطبی خاصیت ضدباکتریایی دارند و با افزایش قطبیت، قدرت ضدباکتریایی آن‌ها افزایش می‌یابد.

گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ۱۳۹۵-۴۶۹۷، ایران

بحث و نتیجه‌گیری: این اولین گزارش از تأثیر عصاره آبی *Hypericum coris* بر باکتری‌های پاتوژن بود که نشان داد، این عصاره علیه همه باکتری‌های مطالعه‌شده مؤثر است؛ همچنین مشخص شد، ترکیبات ضدباکتریایی موجود در آن ماهیت قطبی دارند.

Email: darvishnia_h@pnu.ac.ir

واژه‌های کلیدی: باکتری‌های بیماری‌زا، ترکیبات ضدباکتریایی، عصاره آبی، *Hypericum coris*

استناد: میرزایی علی، سعیدیان شهریار، درویش‌نیا حمید، مردانی پرستو، کاویانی‌فرد امیرارسلان. ویژگی‌های ضدباکتریایی عصاره آبی *Hypericum coris* و خالص‌سازی نسبی ترکیبات ضدباکتریایی آن. *مجله دانشگاه علوم پزشکی ایلام*، مرداد ۱۴۰۴؛ ۳۳(۳): ۸۱-۹۷.

مقدمه

به سبب پیدایش مقاومت باکتریایی در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها، مقابله با آن‌ها با چالش‌های جدی روبرو شده و تلاش برای یافتن ترکیبات ضدباکتریایی کاملاً ضروری است. طبیعتاً ترکیبات ضد میکروبی طبیعی و به‌ویژه ترکیبات گیاهی، به علت آنکه عوارض کمتری دارند، در اولویت قرار دارند. از سویی، اعتماد عمومی نسبت به ترکیبات دارویی با منشأ طبیعی بیشتر و بهتر است (۱).

عفونت‌های زخم به‌طور فزاینده‌ای در مراقبت‌های بهداشتی چالش مهمی به‌شمار می‌روند و باکتری‌های مختلفی در این عفونت‌ها نقش دارند. ازجمله مهم‌ترین باکتری‌های عامل عفونت زخم می‌توان به *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* و *Escherichia coli* اشاره کرد. به علت قابلیت‌های بالای *P. aeruginosa* در ایجاد عفونت‌های مزمن و مقاوم به درمان، یکی از نگرانی‌های اصلی در بیمارستان‌هاست؛ همچنین *S. aureus* به‌عنوان عامل شایع عفونت‌های ریزشی شناخته شده است و به‌طور چشمگیری بر شدت عفونت‌ها تأثیر می‌گذارد. از سویی، *B. subtilis* و *E. coli* به‌عنوان عاملی برای عفونت‌های مرتبط با زخم‌های جراحی و دیابتی به‌شمار می‌آیند؛ بنابراین، مقابله با این باکتری‌ها برای مدیریت مؤثر عفونت‌های زخم ضروری است (۲، ۳).

استفاده از گیاهان دارویی برای درمان عفونت‌های زخم ناشی از باکتری‌های مختلف، به‌ویژه باکتری‌های مقاوم به دارو، به‌عنوان گزینه درمانی نویدبخشی مورد توجه قرار گرفته است. پژوهش‌ها نشان داده‌اند که عصاره‌های برخی گیاهان مانند هوفاریقون (*Hypericum perforatum*) و آلوئه‌ورا (*Aloe vera*) خواص ضد میکروبی قوی دارند و می‌توانند به‌طور مؤثری مانع از رشد باکتری‌هایی مانند *P. aeruginosa* و *S. aureus* شوند و بدین ترتیب، در تسریع فرایند بهبود زخم و کاهش عفونت‌های باکتریایی مؤثر عمل کنند (۴).

علاوه بر این، برخی گیاهان مانند دارچین (*Cinnamomum verum*) و زنجبیل (*Zingiber officinale*)

حاوی ترکیبات فعال ضدباکتریایی هستند که می‌توانند بر باکتری‌هایی مانند *b. subtilis* و *E. coli* اثرگذار باشند. بر اساس مطالعات متعدد، این گیاهان توانسته‌اند به‌عنوان درمان‌های طبیعی مؤثر در کنترل عفونت‌های زخم عمل کنند و به این ترتیب، سرعت و کیفیت ترمیم زخم بیماران را بهبود ببخشند (۵).

استفاده از گیاهان جنس *Hypericum*، به‌ویژه *H. perforatum*، به علت خواص ضدباکتریایی آن‌ها به‌عنوان گزینه‌های درمانی برای عفونت‌های زخم برجسته است. پژوهش‌ها نشان داده‌اند که عصاره‌های استاندارد شده این گیاهان می‌توانند به‌طور مؤثری رشد باکتری‌های پاتوژن مانند *P. aeruginosa* و *S. aureus* (۶) و *E. coli* و *B. subtilis* (۷) را مهار کنند. ترکیبات موجود در این گیاه، ازجمله فلاونوئیدها و کینون‌ها، فعالیت‌های ضد عفونی‌کننده و تسکین‌دهنده دارند که به بهبود زخم‌های عفونی و کاهش التهاب کمک می‌کنند. این خاصیت ضدباکتریایی، همراه با آثار ضدالتهابی و تسریع‌کننده بهبود زخم، گونه‌های گیاهی جنس *Hypericum* را به گزینه‌ای جذاب برای درمان عفونت‌های زخم ناشی از باکتری‌ها تبدیل کرده است (۶، ۷). گیاه *Hypericum coris* یکی از گونه‌های گیاهان گل‌دار از خانواده *Hypericaceae* است. این گیاه گیاهی است علفی، گل‌دار و پایا که معمولاً به‌صورت وحشی در میان کشتزارها یا مناطق مرتعی یافت می‌شود و بومی اوراسیا است و به‌طور گسترده در آسیا (ترکیه، هند و چین)، مناطق معتدل اروپا (اوکراین و روسیه) و شمال آفریقا (خاورمیانه)، ایالات متحده آمریکا، آمریکای جنوبی و استرالیا پراکنده شده است. *H. coris* در مناطق مختلفی از ایران ازجمله دامنه کوه‌های البرز، چالوس، مازندران و نقاط غرب ایران می‌روید (۸، ۹).

قرن‌هاست که در مناطق زاگرس‌نشین و به‌ویژه در بخش جنوب غربی ایران، از گیاهان جنس *Hypericum* به‌عنوان دارویی سنتی برای درمان عفونت‌های سطحی و عفونت زخم‌های پوستی استفاده می‌شود (۱۰). مشاهدات میدانی ما نشان داد که در مناطقی از استان لرستان و ایلام، از

جوشانده گیاه *H. coris* در آب برای شستشوی زخم‌های عفونی سطحی استفاده می‌گردد. با آگاهی از این پیشینه، این گیاه انتخاب و سعی شد، علاوه بر بررسی آثار آنتی‌باکتریال عصاره آبی *H. coris*، ترکیبات ضدباکتریایی آن نیز به صورت نسبی خالص سازی شوند. از آنجاکه تاکنون درباره آثار ضدباکتریایی عصاره آبی *H. coris* مطالعه‌ای صورت نگرفته بود، انجام این پژوهش ضروری به نظر رسید.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری و شناسایی گیاه مطالعه‌شده

نمونه‌های گیاهی از جنوب غربی شهرستان کوهدشت لرستان با مختصات جغرافیایی $28^{\circ}05.0'N$ و $47^{\circ}04.8'E$ در اواخر تیرماه سال ۱۴۰۱ جمع‌آوری شدند. متخصص گیاه‌شناسی بر اساس صفات مورفومتریک، شناسایی و تأیید نمونه‌ها را انجام داد (کد هرباریومی SBU-1402-89). پس از شستشو و حذف خاک و مواد اضافی، بخش‌های هوایی گیاه شامل گل، برگ و ساقه، در سایه و در دمای اتاق ($25^{\circ}C$) خشک گردید. در نهایت، این نمونه‌ها در هاون دستی خرد شد و با استفاده از آسیاب برقی پودر و برای انجام سایر مراحل، در دمای $4^{\circ}C$ نگهداری گردید (۶).

روش عصاره‌گیری

با توجه به اینکه بررسی‌های ما نشان داد که در مناطقی از استان لرستان و ایلام، از جوشانده گیاه *H. coris* در آب برای شستشوی زخم‌های عفونی سطحی استفاده می‌شود، در مطالعه حاضر نیز از روش خیساندن برای تهیه عصاره آبی گیاه *H. coris* (AEHC) استفاده کردیم. بدین ترتیب که ۵۰۰ گرم از پودر خشک‌شده گیاه به فلاسک حاوی ۵ لیتر آب مقطر استریل اضافه شد. به منظور جلوگیری از تبخیر آب، دهانه فلاسک به وسیله چسب پارافیلم مسدود گردید و به مدت ۴۸ ساعت در دمای آزمایشگاه ($25^{\circ}C$) قرار گرفت. در فواصل ۱۲ ساعته محتویات فلاسک هم زده شد؛ سپس محتوای فلاسک با کمک کاغذ صافی واتمن فیلتر و عصاره آبی به دست آمده به مدت ۱۰ دقیقه در دور RPM 12.000 سانتریفیوژ گردید. سوپرناتانت حاصل در شرایط استریل و با

کمک روتاری (دمای $35^{\circ}C$ و دور RPM 100 به مدت نیم ساعت) تغلیظ و به صورت پودر درآورده شد و برای آزمون‌های بعدی، در یخچال ($4^{\circ}C$) نگهداری گردید (۱۱). برای اطمینان از نداشتن آلودگی میکروبی AEHC، مقدار جزئی از آن روی مولر هیتون آگار کشت داده شد.

باکتری‌های مطالعه‌شده

در این مطالعه از سویه‌های باکتریایی *Escherichia coli* (ATTC 25922)، *Pseudomonas aeruginosa* (ATTC 27853)، *Bacillus subtilis* (ATTC 11774) و *Staphylococcus aureus* (ATTC 29213) به عنوان میکروارگانیسم‌های شاخص استفاده گردید.

ارزیابی فعالیت ضد میکروبی

از دو روش DDT و MIC برای بررسی میزان فعالیت ضدباکتریایی استفاده شد. برای دیسک‌گذاری، ابتدا سوسپانسیونی از هر باکتری با غلظت معادل نیم مک‌فارلند ($108 \times 5 / \text{cfu/ml}$) تهیه گردید؛ سپس ۱۰۰ μl از سوسپانسیون هر باکتری به صورت چمنی روی پلیت‌های حاوی محیط مولر هیتون آگار کشت داده شد. در ادامه، دیسک‌های کاغذی ۶ mm با ۳۰۰ μg از AEHC آغشته گردید و روی پلیت‌ها کاشته شدند. از دیسک‌های خام کنترل‌های منفی حاوی ۳۰۰ μg آب مقطر استریل (حلال)، به عنوان شاهد منفی استفاده گردید. از دیسک‌های جنتامایسین ۱۰ میکروگرم/دیسک (پادتن طب، ایران) به عنوان شاهد مثبت استفاده شد. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت گرماگذاری گردید ($37^{\circ}C$) و قطر هاله عدم رشد برحسب میلی‌متر اندازه‌گیری شد (۱۲).

برای تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (MBC)، از روش میکرودیلوژن در محیط مولر هیتون برات استفاده گردید. ابتدا رقت‌های سریالی ۱، ۴، ۸، ۱۶، ۳۲، ۶۴، ۱۲۸ و ۲۵۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر از AEHC تهیه شد. از آنجاکه این عصاره در غلظت ۳۰۰ μg بر همه باکتری‌های مطالعه‌شده مؤثر بود، نیازی به بررسی غلظت ۵۱۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر نبود (CLSI, 31st Edition)؛ سپس ۵۰ میکرولیتر از سوسپانسیون هر باکتری (با کدورت معادل نیم مک‌فارلند) در معرض هر

تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی فرکشن‌های تخلیص‌شده

چون مشخص گردید که فرکشن‌های حاصل از حلال‌های قطبی، خاصیت ضدباکتریایی ندارند؛ بنابراین، مقدار MIC تنها برای فرکشن‌های حاصل از شستشوی حلال‌های اتیل‌استات، اتانول و متانول بررسی شد. در اینجا نیز رقت‌های ۱، ۴، ۸، ۱۶، ۳۲، ۶۴، ۱۲۸ و ۲۵۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر از هر فرکشن تهیه و از محیط مولر هیتون براث استفاده گردید. میکروپلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷°C انکوبه و نهایت چاهک‌ها از نظر کدورت، به‌صورت چشمی بررسی شدند. مراحل بالا برای هر باکتری ۳ بار تکرار گردید (۱۲).

تجزیه و تحلیل داده‌ها به روش آنالیز واریانس یک‌طرفه و با استفاده از نرم‌افزار SPSS vol.18 انجام شد. برای مقایسه میانگین‌ها از روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده گردید ($P \leq 0.05$).

یافته‌های پژوهش

نتایج عصاره‌گیری

AEHC به‌دست‌آمده به‌صورت یک مایع قرمز-قهوه‌ای کم‌رنگ بود که پس از انجام سانتریفیوژ و تغلیظ با دستگاه روتاری، به شکل یک سیال غلیظ قهوه‌ای تغلیظ شد. وزن خالص عصاره تغلیظ‌شده ۲۴ گرم بود. نتایج سنجش آلودگی میکروبی عصاره نشان داد که این عصاره آلودگی میکروبی ندارد.

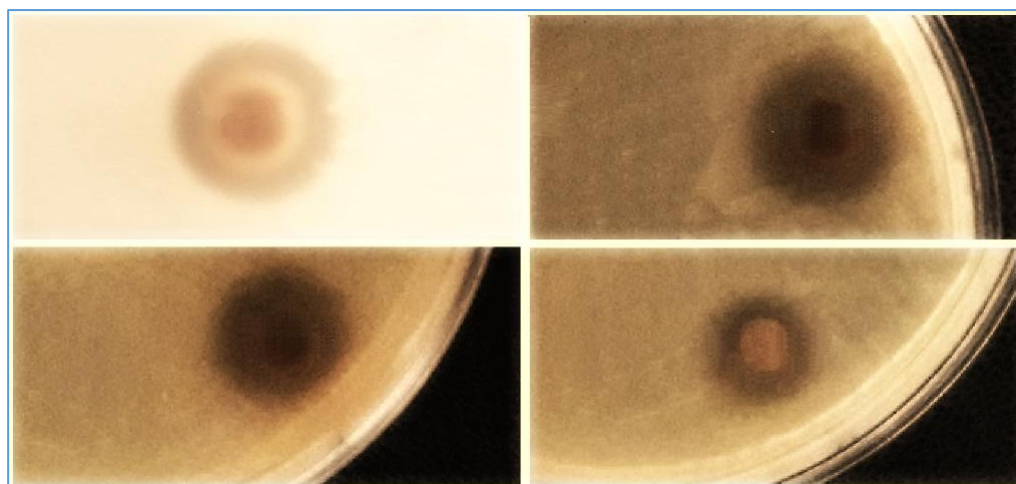
نتایج ارزیابی فعالیت ضد میکروبی AEHC

نتایج آزمون دیسک‌گذاری نشان داد که AEHC در غلظت ۳۰۰ µg (به ازای هر دیسک) روی همه باکتری‌های مطالعه‌شده مؤثر بود (شکل شماره ۱). قطر هاله عدم رشد برای باکتری‌های *S. aureus*، *B. subtilis* و *E. coli* و *aeruginosa* به ترتیب برابر با $28 \pm 23/5$ ، $55 \pm 18/5$ ، $28 \pm 15/0$ و $19 \pm 13/1$ میلی‌متر اندازه‌گیری شد.

رقت از عصاره قرار گرفت. میکروپلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷°C گرماگذاری و در نهایت، چاهک‌ها از نظر کدورت، به‌صورت چشمی بررسی شدند. رشد میکروبی با افزودن معرف تری‌فنیل تترازولیوم کلراید (TTC) با غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بررسی گردید. کمترین غلظتی از عصاره که در آن رشد باکتریایی صورت نگرفت، به‌عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی در نظر گرفته شد. مراحل بالا برای هر باکتری ۳ بار تکرار گردید (۱۳).

خالص‌سازی نسبی ترکیبات ضدباکتریایی AEHC و ارزیابی فعالیت ضد میکروبی آن‌ها

به‌منظور تخلیص نسبی ترکیبات ضدباکتریایی، AEHC به‌دست‌آمده با کمک حلال‌های قطبی و غیر قطبی مختلف شامل هگزان، کلروفرم، استون، اتیل‌استات، اتانول و متانول، شستشو و فرکشن‌های مختلف هر حلال استخراج شد. برای این کار، به ۶ فلاسک در پیچ‌دار مقدار ۱ g از عصاره آبی تغلیظ‌شده اضافه گردید (هر فلاسک ۱ گرم) و به هر فلاسک ۱۳۰ ml از یکی از حلال‌های بالا اضافه شد. در ادامه، فلاسک‌ها به مدت ۴ ساعت در دور ۴۰ RPM شیک گردیدند (۴۰°C). پس از این مدت و در شرایط استریل، فرکشن محلول در هر حلال با استفاده از قیف جداکننده جدا و حلال در دمای ۴۰°C به کمک روتاری حذف شد؛ سپس از هر فرکشن تغلیظ‌شده یک دیسک با غلظت ۳۰۰ µg تهیه و با استفاده از روش دیسک‌گذاری بر روی محیط کشت مولر هیتون آگار، از نظر خاصیت ضدباکتریایی ارزیابی گردید. برای اطمینان از سمی نبودن هریک از حلال‌های استفاده‌شده، طی سه مرحله و هر بار ۵۰ میکرولیتر از هر کدام از حلال‌ها به دیسک‌های خام اضافه و هر بار اجازه داده شد تا در دمای ۴۰°C خشک شوند. در نهایت، دیسک حلال‌های مختلف، روی محیط کشت هر باکتری کاشته شد. تشکیل هاله عدم رشد در اطراف دیسک‌ها به معنی سمی بودن حلال و تشکیل نشدن آن به معنی سمی نبودن حلال برای آن باکتری خاص بود (۱۴).



شکل شماره ۱. قطر هاله عدم رشد ناشی از 300 µg عصاره روی باکتری‌های مطالعه شده. بالا راست: *S. aureus*، بالا چپ: *B. subtilis*، پایین راست: *P. aeruginosa*، پایین چپ: *E. coli*

نتایج نشان داد که برای باکتری‌های گرم مثبت، تأثیر AEHC بیش از آنتی‌بیوتیک استاندارد (جنتامایسین) بود؛ اما تأثیر این عصاره بر باکتری‌های گرم منفی کمتر از آنتی‌بیوتیک استاندارد بود. یادآوری می‌شود که غلظت AEHC 30 برابر غلظت جنتامایسین بود (300 µg در برابر تنها 10 µg)؛ همچنین در میان باکتری‌های گرم مثبت نیز اختلاف آماری معنی‌داری وجود داشت، بدین صورت که این عصاره بیشترین تأثیر را بر باکتری *B. subtilis* نشان داد. از نظر آماری میزان تأثیر این عصاره بر باکتری‌های گرم منفی یکسان بود (0/05، تفاوت معنی‌داری باهم ندارند).

نتایج نشان داد که برای باکتری‌های گرم مثبت، تأثیر AEHC بیش از آنتی‌بیوتیک استاندارد (جنتامایسین) بود؛ اما تأثیر این عصاره بر باکتری‌های گرم منفی کمتر از آنتی‌بیوتیک استاندارد بود. یادآوری می‌شود که غلظت AEHC 30 برابر غلظت جنتامایسین بود (300 µg در برابر تنها 10 µg)؛ همچنین در میان باکتری‌های گرم مثبت نیز اختلاف آماری معنی‌داری وجود داشت، بدین صورت که این عصاره بیشترین تأثیر را بر باکتری *B. subtilis* نشان داد. از نظر آماری میزان تأثیر این عصاره بر باکتری‌های گرم منفی یکسان بود (0/05، تفاوت معنی‌داری باهم ندارند).

جدول شماره ۱. نتایج ارزیابی فعالیت ضد میکروبی AEHC بر اساس روش DDT

قطر هاله عدم رشد (میلی‌متر)		
جنتامایسین	AEHC	باکتری مطالعه شده
15/0 ± 0/54 ^b	23/0 ± 5/28 ^a	<i>B. subtilis</i> (P)
15/0 ± 0/32 ^b	18/0 ± 52/55 ^c	<i>S. aureus</i> (P)
17/0 ± 61/47 ^c	15/0 ± 41/28 ^b	<i>E. coli</i> (N)
17/0 ± 36/15 ^c	13/0 ± 19/10 ^b	<i>P. aeruginosa</i> (N)

از آن، مانع از رشد این باکتری‌ها شد. مقدار MIC برای باکتری‌های *E. coli* و *P. aeruginosa* به ترتیب برابر با ۱۲۸ و ۲۵۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر تعیین گردید. این بدین معنی است که باکتری *P. aeruginosa* بیشترین مقاومت را در برابر آثار ضدباکتریایی این عصاره نشان داد.

نتایج تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی AEHC

بر اساس داده‌های جدول شماره ۲ (+: رشد؛ -: عدم رشد)، AEHC بیشترین تأثیر را بر باکتری‌های گرم مثبت داشت؛ زیرا در غلظت‌های ۶۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر و بالاتر

جدول شماره ۲. نتایج تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی AEHC بر باکتری های مطالعه شده

غلظت AEHC (میکروگرم/میلی لیتر)								
۲۵۶	۱۲۸	۶۴	۳۲	۱۶	۸	۴	۱	باکتری مطالعه شده
-	-	-	+	+	+	+	+	<i>B. subtilis</i> (P)
-	-	-	+	+	+	+	+	<i>S. aureus</i> (P)
-	-	+	+	+	+	+	+	<i>E. coli</i> (N)
-	+	+	+	+	+	+	+	<i>P. aeruginosa</i> (N)

نتایج خالص سازی نسبی ترکیبات ضدباکتریایی AEHC و ارزیابی فعالیت ضد میکروبی آنها

با بررسی تأثیر دیسک های حلالی خام استفاده شده مشخص گردید که هیچ کدام از این حلال ها بر ضد باکتری های مطالعه شده هاله عدم رشد ایجاد نکردند؛ بنابراین، با اطمینان می توان گفت که حلال های استفاده شده سمیتی علیه باکتری های یاد شده نداشتند. نتایج بررسی آثار ضدباکتریایی فرکشن های حاصل از شستشوی AEHC نشان داد که هرچه از حلال های غیر قطبی به سمت حلال های قطبی پیش می رویم، قدرت ضدباکتریایی فرکشن ها بیشتر می شود

(جدول شماره ۳؛ تفاوت میان زوج باکتری ها با حروف متفاوت نشان داده شده است؛ $P \leq 0.05$ ؛ P. گرم مثبت؛ N. گرم منفی). علاوه بر این، فرکشن های حاصل از حلال های غیر قطبی (شامل هگزان، کلروفرم و استون) هیچ گونه خاصیت ضدباکتریایی نشان ندادند و این نشان دهنده آن بود که ترکیبات ضدباکتریایی AEHC قطبی هستند. فرکشن متانولی مؤثرترین فرکشن بر ضد باکتری های مطالعه شده بود و در این میان، باکتری باسیلوس سابیتیلیس (با قطر هاله عدم رشد $42 \pm 24/62$) حساس ترین باکتری بود.

جدول شماره ۳. نتایج بررسی آثار ضدباکتریایی فرکشن های حاصل از شستشوی AEHC با حلال های مختلف

قطر هاله عدم رشد (میلی متر)						
متانول	اتانول	اتیل استات	استون	کلروفرم	هگزان	باکتری مطالعه شده
$24/0 \pm 62/42^b$	$21/0 \pm 23/38^b$	$14/0 \pm 50/22^a$	.	.	.	<i>B. subtilis</i> (P)
$20/0 \pm 11/28^b$	$17/0 \pm 00/15^c$	$10/0 \pm 20/18^d$	.	.	.	<i>S. aureus</i> (P)
$17/0 \pm 05/08^c$	$13/0 \pm 34/33^e$	$9/0 \pm 08/40^d$	.	.	.	<i>E. coli</i> (N)
$14/0 \pm 23/15^e$	$10/0 \pm 81/51^d$	$7/0 \pm 09/29^d$	.	.	.	<i>P. aeruginosa</i> (N)

نتایج تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی فرکشن های تخلیص شده از AEHC

از آنجا که فرکشن های غیر قطبی حاصل از AEHC بر باکتری های مطالعه شده مؤثر نبودند، مقدار MIC تنها برای فرکشن های قطبی (شامل حلال های اتیل استات، اتانول و متانول) بررسی شد. مقدار MIC فرکشن اتیل استاتی برای باکتری های *B. subtilis*، *S. aureus*، *E. coli* و *P.*

aeruginosa به ترتیب برابر با ۱۲۸، ۱۲۸، ۱۲۸ و ۲۵۶ میکروگرم بر میلی لیتر بود که بدین معنی است، باکتری *P. aeruginosa* از مقاومت بیشتری در برابر فرکشن اتیل استاتی حاصل از AEHC برخوردار است و سایر باکتری ها واکنش یکسانی به این فرکشن داشتند (جدول شماره ۴؛ P. گرم مثبت؛ N. گرم منفی؛ +. رشد؛ -. عدم رشد).

جدول شماره ۴. نتایج تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی فرکشن اتیل استات بر باکتری‌های مطالعه‌شده

غلظت فرکشن اتیل استات (میکروگرم/میلی لیتر)								
۲۵۶	۱۲۸	۶۴	۳۲	۱۶	۸	۴	۱	باکتری مطالعه‌شده
-	-	+	+	+	+	+	+	<i>B. subtilis</i> (P)
-	-	+	+	+	+	+	+	<i>S. aureus</i> (P)
-	-	+	+	+	+	+	+	<i>E. coli</i> (N)
-	+	+	+	+	+	+	+	<i>P. aeruginosa</i> (N)

حاصل از AEHC برخوردار بود و سایر باکتری‌ها واکنش یکسانی به این فرکشن داشتند و به این فرکشن حساس تر بودند (جدول شماره ۵؛ P. گرم مثبت؛ N. گرم منفی؛ +. رشد؛ -. عدم رشد).

نتایج تعیین MIC فرکشن اتانولی به دست آمده نشان داد که این مقدار برای باکتری‌های *S. aureus*، *B. subtilis*، *E. coli* و *P. aeruginosa* به ترتیب ۶۴، ۶۴، ۶۴ و ۱۲۸ میکروگرم بر میلی لیتر بود. در اینجا نیز باکتری *P. aeruginosa* از مقاومت بیشتری در برابر فرکشن اتانولی

جدول شماره ۵. نتایج تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی فرکشن اتانولی بر باکتری‌های مطالعه‌شده

غلظت فرکشن اتانولی (میکروگرم/میلی لیتر)								
۲۵۶	۱۲۸	۶۴	۳۲	۱۶	۸	۴	۱	باکتری مطالعه‌شده
-	-	-	+	+	+	+	+	<i>B. subtilis</i> (P)
-	-	-	+	+	+	+	+	<i>S. aureus</i> (P)
-	-	-	+	+	+	+	+	<i>E. coli</i> (N)
-	-	+	+	+	+	+	+	<i>P. aeruginosa</i> (N)

میلی لیتر بود؛ اما باکتری *P. aeruginosa* به این فرکشن مقاوم تر بود و تنها در غلظت ۶۴ میکروگرم بر میلی لیتر و بالاتر قادر به رشد نبود.

نتایج تعیین MIC فرکشن متانولی به دست آمده از AEHC نشان داد که این مقدار برای باکتری‌های *B. subtilis*، *S. aureus* و *E. coli* یکسان و برابر با ۳۲ میکروگرم بر

جدول شماره ۶. نتایج تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی فرکشن متانول بر باکتری‌های مطالعه‌شده

غلظت فرکشن متانولی (میکروگرم/میلی لیتر)								
۲۵۶	۱۲۸	۶۴	۳۲	۱۶	۸	۴	۱	باکتری مطالعه‌شده
-	-	-	-	+	+	+	+	<i>B. subtilis</i> (P)
-	-	-	-	+	+	+	+	<i>S. aureus</i> (P)
-	-	-	-	+	+	+	+	<i>E. coli</i> (N)
-	-	-	+	+	+	+	+	<i>P. aeruginosa</i> (N)

(+): رشد، (-): عدم رشد

بحث و نتیجه‌گیری

در این مطالعه تلاش شد، آثار ضدباکتریایی عصاره آبی گیاه *H. coris* را بر ضد تعدادی از باکتری‌ها که از عوامل مولد عفونت زخم هستند، بررسی و ترکیبات ضد میکروبی موجود در این عصاره را تا حدودی تخلیص کنیم. از آنجا که استفاده از حرارت بالا در فرایند عصاره‌گیری می‌تواند باعث تخریب احتمالی مواد مؤثره موجود در گیاه شود، به منظور پرهیز از این مسئله، از روش خیساندن (بدون حرارت) برای عصاره‌گیری استفاده شد؛ همچنین برای آنکه آلودگی‌های میکروبی احتمالی به صفر برسد، عصاره آبی به دست آمده سانتریفیوژ گردید تا یک عصاره استریل به دست آید. وزن خالص عصاره تغلیظ شده به ازای هر ۱۰۰ گرم گیاه خشک، ۶/۵۰ گرم بود که بازدهی ۶/۵۰ درصد عصاره‌گیری را نشان داد.

باکتری‌های پاتوژن مطالعه شده شامل ۲ باکتری گرم مثبت و ۲ باکتری گرم منفی بودند تا بدین ترتیب، کارایی احتمالی ماده ضد میکروبی بر ضد هر دو گروه از این باکتری‌ها سنجیده شود. نتایج مطالعه حاضر نشان داد، این عصاره بر همه باکتری‌ها مطالعه شده مؤثر بود؛ بنابراین می‌توان آن را یک ترکیب ضدباکتریایی وسیع الطیف در نظر گرفت؛ اما تأثیر آن بر باکتری‌های گرم مثبت بیشتر از باکتری‌های گرم منفی بود. همانند نتایج ما، در مطالعه شهیدی و همکاران (۱) مشخص شد که باکتری‌های گرم منفی نسبت به باکتری‌های گرم مثبت، مقاومت بیشتری در برابر عصاره آبی گیاه شنگ دارند. در توجیه این نتایج می‌توان گفت که باکتری‌های گرم مثبت دیواره سلولی ضخیم‌تر و غنی از پپتیدوگلیکان و غشای سیتوپلاسمی نسبتاً ساده دارند و در نتیجه، به سادگی می‌توانند با گروه‌های عاملی مثبت و قوی موجود در ترکیبات قطبی تعامل کنند. این ترکیبات به راحتی می‌توانند از طریق این دیواره سلولی نفوذ کنند و به هدف‌های داخل سلولی دسترسی یابند. از سوی دیگر، باکتری‌های گرم منفی یک غشای دوگانه لیپیدی پیچیده دارند که حاوی لایه‌ای از لیپیدها و پروتئین‌هاست و میزان نفوذ ترکیبات قطبی را کاهش می‌دهد و اغلب به پروتئین‌های ناقل ویژه نیاز دارد تا این ترکیبات

بتوانند به درون سلول نفوذ کنند. این ساختار دفاعی سبب می‌شود که باکتری‌های گرم منفی در برابر ترکیبات قطبی مقاوم باشند و از این رو، حساسیت کمتری به این ترکیبات نشان دهند (۱۶، ۱۷).

در مطالعه حاضر، آثار ضد میکروبی AEHC وابسته به دوز بود و با کاهش دوز، آثار ضد میکروبی آن برای همه باکتری‌ها به شکل معنی‌داری کاهش یافت. در پژوهش دیگری که درباره آثار ضد میکروبی عصاره متانولی *H. perforatum* انجام گرفت، مقادیر قطر هاله عدم رشد ناشی از تأثیر این عصاره بر باکتری‌های غذازاد (شامل باکتری‌های سودوموناس آئروجینوزا، اش‌ریشاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس) کمتر از مقادیر به دست آمده در مطالعه حاضر بود (۱۸). قدرت ضدباکتریایی بالاتر AEHC نسبت به عصاره متانولی *H. perforatum* می‌تواند ناشی از تفاوت در ترکیبات به دست آمده از این دو گیاه و نیز تأثیر حلال به کاررفته برای عصاره‌گیری و نیز تفاوت در گونه و سویه باکتری‌های مطالعه شده باشد.

اگرچه برای باکتری‌های گرم مثبت، مقادیر تولید هاله عدم رشد ناشی از AEHC بیش از آنتی‌بیوتیک جنتامایسین بود؛ اما از آنجا که غلظت عصاره مطالعه شده ۳۰ برابر جنتامایسین بود؛ پس نمی‌توان گفت که نسبت به این آنتی‌بیوتیک قدرت بالاتری دارد. در گام‌های بعدی، یعنی هنگامی که ترکیبات آنتی‌باکتریال خالص سازی نسبی شدند، با افزایش قطبیت حلال مقادیر MIC فرکشن‌ها کاهش یافت که به معنای افزایش قدرت باکتریایی آن‌ها بود؛ پس احتمالاً اگر در مطالعات بعدی بتوان این ترکیبات ضدباکتریایی را کاملاً تخلیص کرد، این احتمال وجود دارد که قدرت آن‌ها در غلظت‌های کمتر افزایش یابد؛ بنابراین، تنها زمانی می‌توان قدرت این ترکیبات را با جنتامایسین مقایسه نمود که اولاً ترکیبات ضدباکتریایی موجود در AEHC کاملاً خالص سازی شده باشند و از این گذشته، این ترکیبات در غلظت‌های برابر با غلظت جنتامایسین مطالعه شوند.

از سویی، نتایج پژوهش‌های محبی و همکاران (۱۹)، علیزاده و فولادی (۲۰) و علیزاده و همکاران (۲۱) با نتایج

مطالعه حاضر همخوانی داشت و در این مطالعات نیز مشخص گردید که باکتری‌های گرم مثبت نسبت به عصاره حساس‌تر از باکتری‌های گرم منفی هستند. این پژوهشگران علت حساس‌تر بودن باکتری‌های گرم مثبت را وجود غشاهای خارجی احاطه‌کننده دیواره سلولی در باکتری‌های گرم منفی عنوان کردند.

نتایج تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی AEHC نشان داد که مقدار MIC برای باکتری‌های گرم مثبت کمتر از باکتری‌های گرم منفی بود که تأییدی بر صحت نتایج آزمون DDT است. در مطالعه شهیدی و همکاران (۱)، حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره آبی گیاه شنگ در برابر استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، باسیلوس سوبتیلیس، سالمونلا تیفی و اشرشیاکلی به ترتیب برابر با ۶۴، ۲۵۶، ۲۵۶ و ۲۵۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود؛ همچنین در مطالعه دیگری، خاکساری و همکاران (۲۲) آثار ضد میکروبی غلظت‌های مختلف عصاره برگ‌های *Rhazya stricta* را بررسی کردند. یافته‌های آنان نشان داد که غلظت ۷۰ g/lit این عصاره بر اشریشیاکلی اثر مهاری کامل و روی سودوموناس آئروجینوزا اثر مهاری نسبی دارد؛ اما روی استافیلوکوکوس اورئوس هیچ‌گونه اثر مهاری نداشت. این تفاوت در نتایج داده‌ها نیز می‌تواند ناشی از نوع گیاه و نیز نوع باکتری‌های مطالعه‌شده باشد.

در گام بعدی و پس از آنکه تأثیر مثبت عصاره بر باکتری‌های مطالعه‌شده محرز گردید، تلاش شد با کمک شستشوی عصاره با حلال‌های مختلف، تا حدودی ماده مؤثره ضدباکتریایی موجود در AEHC تخلیص شود. ابتدا سمیت یا عدم سمیت حلال‌های استفاده‌شده علیه باکتری‌های مطالعه‌شده تعیین گردید. نتایج این اطمینان را داد که این حلال‌ها سمی نیست و بنابراین، هر نتیجه‌ای که از خاصیت آنتی‌باکتریال فرکشن‌ها به دست آید، صرفاً ناشی از ترکیبات موجود در AEHC است. مهم‌ترین نتیجه‌ای که از آزمون DDT به دست آمد، آن بود که مشخص شد هیچ کدام از فرکشن‌های غیر قطبی موجود در AEHC (یعنی فرکشن‌های هگزان، کلروفرم و استون) خاصیت ضدباکتریایی ندارند و بنابراین، در مرحله بعد نیازی به تعیین MIC برای این فرکشن‌ها

نیز نبود.

مقادیر MIC فرکشن اتیل‌استاتی برای همه باکتری‌های مطالعه‌شده در مقایسه با مقادیر MIC مربوط به AEHC، یک افزایش نسبی را نشان داد. علت این افزایش می‌تواند ناشی از این واقعیت باشد که اتیل‌استات به واسطه قطبیت نسبتاً پایین قادر نیست تا ترکیبات ضدباکتریایی قطبی موجود در AEHC را در خود حل و استخراج کند. در مطالعه زهرا حسینی و همکاران (۱۴) که با هدف تخلیص نسبی ماده مؤثره ضدباکتریایی موجود در عصاره هیدروالکلی به دست آمده از ریشه گیاه غازیاقی انجام گرفت، سه فاز متفاوت از آن با استفاده از حلال اتیل‌استات به دست آمد. نتایج آنان نشان داد، فازهای محلول در آب و فاز بینابینی به دست آمده بدون خاصیت ضدباکتریایی بر ضد باکتری‌های سودوموناس آئروجینوزا و اسیتو باکتر بومانی بود؛ اما فاز محلول در اتیل‌استات قدرت بازدارندگی بسیار خوبی داشت. علت این تفاوت می‌تواند مربوط به تفاوت در نوع عصاره و نوع باکتری‌های مطالعه‌شده باشد.

در مطالعه حاضر، مقادیر MIC فرکشن اتانولی برای همه باکتری‌های مطالعه‌شده در مقایسه با مقادیر MIC مربوط به اتیل‌استات، یک افزایش نسبی را نشان داد. برای فرکشن متانولی نیز مقدار MIC برای همه باکتری‌های مطالعه‌شده، در مقایسه با مقادیر MIC مربوط به اتانول، باز هم افزایش نسبی را نشان داد. در اینجا نیز باکتری *P. aeruginosa* بیشترین مقاومت را نسبت به این فرکشن نشان داد. نکته درخور توجه آن است که با افزایش قطبیت حلال‌ها، فرکشن به دست آمده از قدرت ضدباکتریایی بالاتری برخوردار بود؛ پس می‌توان گفت که ترکیبات ضدباکتریایی موجود در عصاره آبی گیاه *H. coris* ماهیت قطبی دارند، به نحوی که با افزایش قطبیت حلال استفاده‌شده برای شستشو، حلال توانسته است با قدرت بیشتری آن‌ها را استخراج کند.

بر اساس نتایج آنالیز کروماتوگرافی گازی طیف سنج جرمی (GC-MS) که توسط شوب و همکاران (۲۳) انجام گرفت، ترکیبات مختلفی در *H. coris* وجود دارد که از جمله مهمترین آنها (40.1%) *a-curcumin*، *g-cadinene*

این پروژه حامی مالی نداشته است.

مشارکت نویسندگان

نویسندگان دارای سهم مساوی در نگارش مقاله می باشند.

(14.7%)، d-cadinene (6.6%) b-himachalene (4.6%) g- muurolene (۴.۴٪) و b-selinene (۴٪) می باشند. در مطالعه‌ی دیگری وانگ و همکاران (۲۴) اثرات ضد میکروبی ترکیبات Geraniol و Caryophyllene را که در این گیاهان یافت می شوند، تایید کردند. این احتمال وجود دارد که ترکیبات موثره‌ی موجود در گیاه مورد استفاده در مطالعه‌ی حاضر نیز، شامل این مواد باشند.

ذکر این نکته بسیار مهم است که برای استفاده از ترکیبات ضدباکتریایی موجود در AEHC به عنوان عوامل درمانی، باید مطالعات بیشتری انجام گیرد. این مطالعات شامل خالص سازی و شناسایی دقیق ساختمان شیمیایی آن ها و نیز بررسی کامل تأثیرات احتمالی این ترکیبات روی سلول های حیوانی و انسانی خواهد بود.

یافته های مطالعه حاضر نشان داد که عصاره آبی بخش های هوایی گیاه *H. coris* بر ضد همه باکتری های پاتوژن مطالعه شده مؤثر بود. تأثیرات ضدباکتریایی آن در برابر باکتری های گرم مثبت بیشتر بود؛ اما می توان آن را نوعی عامل ضدباکتریایی وسیع الطیف در نظر گرفت؛ همچنین مشخص شد که ترکیبات ضدباکتریایی موجود در AEHC ماهیت قطبی دارند و فرکشن متانولی آن می تواند به عنوان یک کاندید ضدباکتریایی در نظر گرفته شود. قاعدتاً برای نیل به چنین هدفی ضرورت دارد ساختار دقیق تر این ترکیبات شناسایی و مطالعات تکمیلی روی سلول های حیوانی و انسانی انجام گیرد تا از عوارض احتمالی آن ها آگاهی کامل به دست آید.

تعارض منافع

نویسندگان این مقاله اظهار می دارند که تضاد منافی وجود ندارند.

کد اخلاق

این مقاله حاصل بخشی از پایان نامه با عنوان "خالص سازی نسبی ترکیبات آنتی باکتریال عصاره‌ی آبی *Hypericum coris*"، در مقطع کارشناسی ارشد، با کد ۸۳۴۶۰۱۶۵ مصوب دانشگاه پیام نور است. بدلیل عدم استفاده از نمونه حیوانی، نیازی به اخذ کد اخلاق نبود.

حمایت مالی

References

- Shahidi F, Tabatabai Yazdi F, Alizadeh Behbahani B, et al. Antibacterial effect of Sheng plant extract on *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* and *Salmonella typhi* in laboratory conditions. *Iran J Infect Dis Trop Med*. 2018; 24:1-10. (Persian).
- Lee CH, Kim SY. The role of *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, and *Escherichia coli* in wound infections: Pathogenic mechanisms and therapeutic targets. *Clin Microbiol Rev*. 2025; 38: 1-15. doi: 10.1128/CMR.00001-25.
- Patel R, Yadav S. Characterization and antimicrobial resistance patterns of common bacterial pathogens in wound infections: A focus on *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, and *Escherichia coli*. *Int J Wound Care*. 2025; 32: 203-10. doi: 10.1016/j.ijwc.2025.02.006.
- Smith JA, Lee KH. Antimicrobial properties of *Hypericum perforatum* and *Aloe vera* against clinical strains of *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* in wound healing applications. *J Wound Care*. 2025; 34: 112-20. doi: 10.1097/JWC.0000000000001234.
- Johnson MP, Wang YX. Efficacy of plant extracts from *Cinnamomum verum* and *Zingiber officinale* in mitigating infections caused by *Bacillus subtilis* and *Escherichia coli* in wound healing. *Int J Medicinal Plant Res*. 2025; 18: 45-52. doi: 10.1016/j.ijmpr.2025.01.008.
- Doe J, Smith R. Antibacterial effects of *Hypericum perforatum* extracts against *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*: A study on wound healing. *Phytother Res*. 2025; 39: 195-202. doi: 10.1002/ptr.7391.
- Johnson AB, Lee TH. Evaluating the efficacy of *Hypericum* extracts against *Bacillus subtilis* and *Escherichia coli* in wound infection management. *J Ethnopharmacol*. 2025; 300: 115672. doi: 10.1016/j.jep.2025.115672.
- Tabarbahnmiri MP, Mahmoudi Ataghor A, Ahmadian Chashmi N, Azizi P. Investigation and comparison of sugars in the populations of four species collected from *Hypericum* genus in northern Iran. *Intl Conf Agri Sci Med Plants and Tradit Med, Mashhad*. 2016. (Persian).
- Wagner H, Bladt S. Pharmaceutical quality of *Hypericum* extracts. *J Geriatr Psychiatry Neurol*. 1994; 7: S65-8. doi: 10.1177/089198879400700118.
- Zare M, Ranjbar A. Antimicrobial activities of *Hypericum perforatum* L. and its potential use in wound healing: A review. *J Medicin Plants Res*. 2020; 14: 61-70. doi: 10.5897/JMPR2019.6751.
- Maspi N, Ghafarifar F, Bahrami A, Bastaminejad S, Shamsi M. Evaluation of leishmanicidal effect of watery & ethanolic flowers *Calendula officinalis* extract on promastigotes of leishmania major (MRHO/IR/75/ER) in Vitro. *J Ilam Univ Med Sci*. 2010; 18: 28-33.
- Etame RE, Mouokeu RS, Pouaha CLC, et al. Effect of Fractioning on Antibacterial Activity of *Enantia chlorantha* Oliver (Annonaceae) Methanol Extract and Mode of Action. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2018; 2018:4831593. doi: 10.1155/2018/4831593.
- Makade CS, Shenoi PR, Bhongade BA, et al. Estimation of MBC: MIC Ratio of Herbal Extracts against Common Endodontic Pathogens. *J Pharm Bioallied Sci*. 2024; 16: S1414-S1416. doi: 10.4103/jpbs.jpbs_735_23.
- Zahrahosini F, Kaviani Fard A, Yari Kh, Khan Ahmadi M. Investigating the effect of alcoholic extracts of gaziyaghi and kabar on bacteria isolated from burn wounds (*Pseudomonas aeruginosa* - *Acinetobacter bomanii*). *Acad Jihad*, 2017. (Persian).
- Moradi A, Ebrahimipour G, Karkhana M, Marzban A. Studying the antioxidant and antimicrobial effects of aqueous and ethanolic extracts of sorrel (*Rumex alveollatus* L.) on key microorganisms in laboratory conditions. *J Adv Biomed Sci*. 2013; 4: 418-26. (Persian).
- Johnson PA, Lee RT. Comparative analysis of polar and non-polar antibiotic efficacy against Gram-positive and Gram-negative bacteria. *Antibiot Res J*. 2025; 45: 205-15. doi: 10.1016/j.arj.2025.04.001.
- Patel R, Gupta S. The efficacy of polar versus non-polar antimicrobial compounds against gram-positive bacteria: A comparative study. *J Antimicrob Chemother*. 2025; 80: 568-76. doi: 10.1093/jac/dkz534.
- Ghodrati L, Atai Kechoui M, Mousavi Fard S, Moatar F. Studying the antimicrobial effects of methanol extract of *hypericum perforatum* on food-borne bacteria. *Food Microbiol*. 2022; 8: 56-66. (Persian).
- Mohebbi MM, Alizadeh BB, Ansarifard E, Noshad M. AntiMICrobial effect of *Aloe vera* and Chitosan on some pathogenic bacteria and comparing it with common therapeutic antibiotics "in vitro". *Iran J Infect Dis Trop Med*. 2015; 19: 21-9.
- Alizadeh BB, Fooladi AAI. Evaluation of phytochemical analysis and antimicrobial activities of *Allium* essential oil against the growth of some microbial pathogens. *Microbiol Pathog*. 2018; 114:299-303.

21. Alizadeh BB, Yazdi FT, Vasiee A, Mortazavi SA. *Oliveria decumbens* essential oil: Chemical compositions and antimicrobial activity against the growth of some clinical and standard strains causing infection. *Microbiol Pathog.* 2018; 114:449-452.
22. Khaksari M, Rizvani M, Sajjadi M, Soleimani A. Investigating the effect of topical use of aqueous extract of *Rhazya stricta* on the healing of skin wounds in lab rats and comparing it with the technical effect of fetuin. *Sci J Semnan Univ Med Sci.* 2020; 1.
23. Schwob I, Bessière JM, Viano J. Composition of the essential oils of *Hypericum perforatum* L. from southeastern France. *C R Biol.* 2002; 325: 781-5. doi: 10.1016/s1631-0691(02)01489-0.
24. Wang X, Gao M, Wu L, Zhao Y, Wang Y, et al. antimicrobial activity of essential oils extracted from *Litsea cubeba*. *For Res.* 2022; 2:2. doi: 10.48130/FR-2022-0002.