Journal of Ilam University of Medical Sciences

P-ISSN: 1563-4728
E-ISSN: 2588-3135

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

Somayeh Farahmand [1*], Farshid Rezaei [1], Iraj Alipourfard [2]

[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

A B S T R A C T

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

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.

مجله دانشگاه علوم پزشکی ایلام

JIUMS

P-ISSN: ۱۵۶۳-۴۷۲۸

E-ISSN: ۲۵۸۸-۳۱۳۵

اثر کارواکرول به‌عنوان ترکیب پلی‌فنلی اصلی آویشن مرتعی بر مهار رشد باکتری‌ها

سمیه فرهمند [۱*]، فرشید رضایی [۱]، ایرج علیپور فرد [۲]

[۱] گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

[۲] موسسه شیمی فیزیک ،آکادمی علوم لهستان، ورشو، لهستان

اطلاعات مقاله

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 زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

Email:

s.farahmand@pnu.ac.ir

چکیده

مقدمه: با توجه به مقاومت روزافزون باکتری‌های بیماری‌زا نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها ضرورت دارد تا گیاهان دارویی حاوی آثار ضدباکتریایی شناسایی شوند. هدف از این مطالعه مقایسهٔ اثر مهاری عطرمایهٔ آویشن مرتعی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های رایج در برابر باکتری‌های *اشریشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* است.

مواد و روش‌ها: این مطالعه در آزمایشگاه دانشگاه پیام نور استان تهران در سال ۱۴۰۱، به روش تجربی انجام‌شده است. بدین منظور، برگ و ساقهٔ گیاه آویشن مرتعی از ارتفاعات کرمانشاه در مرحلهٔ گلدهی کامل جمع‌آوری گردید. اسانس‌گیری با روش تقطیر با آب (طرح کلونجر) و شناسایی ترکیبات عطرمایه توسط کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی صورت گرفت. اثر ضدمیکروبی عطرمایهٔ این گیاه در غلظت‌های متوالی ۰/۴۸ تا ۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر علیه دو گونهٔ باکتریایی، *اشریشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس*، با تعیین حداقل غلظت بازدارندگی در محیط براث، حداقل غلظت کشندگی در محیط آگار و دیسک‌دیفیوژن بررسی شد و نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین، سیپروفلوکساسین، اریترومایسین و سفکسیم به‌ترتیب با غلظت‌های ۱۰، ۵، ۱۵ و ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر ارزیابی گردید. از آمار توصیفی و آزمون آماری ANOVA برای تجزیه‌وتحلیل آماری با نرم‌افزار SPSS vol.23 با سطح معنی‌داری ۰/۰۱ استفاده شد.

یافته‌های پژوهش: تجزیه‌وتحلیل به روش گازکروماتوگرافی جرمی نشان داد، در این گونه آویشن با ۴۲ مادهٔ مؤثر، بیشترین ترکیب کارواکرول (۶۶/۹۶ درصد) است. غلظت‌های ۲۵۰، ۱۲۵ و ۶۲/۵ میلی‌گرم بر مول از عطرمایه در مهار هر دو باکتری بهتر از آنتی‌بیوتیک‌های انتخابی عمل کرده است. حداقل غلظت کشندگی برای باکتری‌های *اشریشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* به‌ترتیب برابر ۶۲/۵ و ۷/۸۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود.

بحث و نتیجه‌گیری: عطرمایهٔ این گیاه در توقف رشد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* نسبت به *اشریشیا کلی* مؤثرتر بود. با توجه به آثار ضدباکتریایی و آنتی‌سپتیک قابل‌توجه عطرمایهٔ گیاه پیشنهاد می‌شود، آزمایش‌های بیشتری برای ارزیابی اثر آویشن مرتعی در نمونهٔ حیوانی انجام گردد.

واژه‌های کلیدی: آویشن مرتعی، *Thymus eriocalyx* Jalas (Ronniger)، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشریشیا کلی*، کارواکرول

استناد: فرهمند سمیه، رضایی فرشید، علیپور فرد ایرج. اثر کارواکرول به‌عنوان ترکیب پلی‌فنلی اصلی آویشن مرتعی بر مهار رشد باکتری‌ها. *مجله دانشگاه علوم پزشکی ایلام*، فروردین ۱۴۰۴؛ (۱)۳۳: ۱۷-۱.

CC BY NC

حق‌مؤلف © نویسندگان

مقدمه

استفاده غیرمنطقی و مداوم از مواد شیمیایی باعث بروز پدیدهٔ 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؛ ازاین‌رو، ضرورت دارد گیاهان دارویی با آثار ضدباکتریایی شناسایی گردند تا بتوان از آن‌ها به‌عنوان جایگزینی مناسب برای آنتی‌بیوتیک‌های مصنوعی استفاده کرد. امروزه تحقیقات گسترده‌ای دربارهٔ گیاهان دارویی انجام شده و داروهایی با منشأ طبیعی افق‌های جدیدی را برای جامعهٔ پزشکان، داروسازان و پژوهشگران گشوده است (۱, ۲).

از زمان‌های قدیم، گیاهان دارویی به‌واسطهٔ داشتن ترکیبات متفاوت در درمان بیماری‌های مختلف استفاده می‌شوند (۳). اخیراً متابولیت‌های ثانویهٔ گیاهان دارویی مانند عطرمایه‌ها و عصاره‌های گیاهی از نظر آثار ضدمیکروبی بررسی گردیده و مشخص‌شده است که اغلب عطرمایه‌های گیاهی استخراج‌شده از گیاهان دارویی خواص ضدقارچی، ضدانگل، ضدباکتری و ضدویروس دارند (۴)؛ بنابراین، عطرمایه‌های 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 تیرهٔ نعناع Lamiaceae و از مشهورترین جنس‌های متعلق به گیاهان اسانس‌دار است (۷). آویشن یکی از مهم‌ترین گیاهان دارویی در ایران است. عطرمایهٔ گل و برگ این گیاه به سبب داشتن دو ترکیب تیمول و کارواکرول آثار ضداسپاسم، ضدنفخ، ضدروماتیسم و ضدعفونی‌کنندهٔ قوی دارد. گیاه آویشن به علت داشتن عطرمایه‌های روغنی، کاربردهای وسیعی در صنایع دارویی و غذایی دارد. در داروسازی از عطرمایهٔ آویشن برای تهیهٔ محلول‌های دهان‌شویه و شربت‌های ضدسرفه استفاده‌شده است (۸). عطرمایهٔ 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). عطرمایهٔ آویشن حاوی تانن‌ها، مواد اصلی تلخ، ساپونین‌ها و ضدعفونی‌کننده‌های گیاهی است. کشف گیاهان دارویی با تأثیرات ضدمیکروبی، برای کاهش عوارض جانبی و کم کردن آثار سمی روی بافت‌ها و همچنین از لحاظ صرفهٔ اقتصادی بسیار مورد توجه است (۱۰).

مادهٔ مؤثر گیاهان دارویی جزئی از متابولیت‌های ثانویهٔ گیاهان است. در حقیقت، این متابولیت‌ها حاصل فعالیت چرخه‌های بیوسنتزی فرعی هستند که از چرخهٔ بیوسنتزی حیاتی متابولیسم اولیه مشتق می‌شوند و می‌توان آن‌ها را پایانه‌های متابولیسم در یاخته‌های گیاهی دانست. مطالعات فیتوشیمیایی نشان داده است که بخش عمدهٔ عطرمایه انواع مختلف آویشن از فنل‌ها (۲۰ تا ۸۰ درصد) تشکیل‌شده است (۲) و خواص ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی گیاهان دارویی با مقدار کل ترکیبات فنولی رابطهٔ مستقیم دارد و معمولاً گیاهانی که خواص ضدمیکروبی 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 C10H14O است و خواص مختلف دارویی و بیولوژیکی ازجمله 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 تری‌فسفات (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 می توان 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 توسعهٔ فوری درمان‌های جدید منتشر کرده است (۱۵). انتروباکتریاسه‌ها می‌توانند DNA را به‌سرعت از طریق ترانسپوزون‌ها، اینتگرون‌ها و یا پلاسمید از سایر باکتری‌ها به‌دست آورند. ژن‌هایی که باعث مقاومت آنتی‌بیوتیکی می‌شوند، می‌توانند از یک گونه به گونهٔ دیگر منتقل گردند. *اشریشیا کلی* از خانوادهٔ انتروباکتریاسه به فراوانی در مجاری رودهٔ 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 پدیدهٔ 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، ضدکیست هیداتید لیشمانیا تروپیکا و محافظت از دستگاه عصبی اشاره کرد. پماد حاصل از عطرمایهٔ آویشن در ترمیم و بهبود برخی بیماری‌های جلدی به‌ویژه زونا اثری مفید دارد. در بررسی تأثیر غلظت مهارکنندهٔ رشد عطرمایهٔ آویشن بر باکتری‌های پوستی در روش میکروپلیت دایلوشن 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 گونهٔ گیاهی خاص که در مناطق جغرافیایی مختلف می‌روید، نیز از ترکیبات فیتوشیمیایی و آثار ضدمیکروبی متفاوتی برخوردار است؛ بنابراین، در صنعت داروسازی انتخاب گیاهی که بیشترین مادهٔ 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 عطرمایهٔ آویشن مرتعی بر دو نوع باکتری شایع گرم مثبت و منفی (*استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیا کلی*) پرداخته شد و اثر ضدمیکروبی 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 انجام‌شده است. با توجه به استفاده نکردن از نمونهٔ انسانی–حیوانی، نیاز به تهیهٔ کد اخلاق نبود. همهٔ مواد شیمیایی استفاده‌شده 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 *اشریشیا کلی* (ATTC2522) از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه شد.

جمع‌آوری نمونه و تهیهٔ عطرمایه گیاه: آویشن مرتعی با نام علمی *Thymus eriocalyx* Jalas (Ronniger) در مرحلهٔ گل‌دهی، در اوایل خردادماه، از ارتفاعات زاگرس (استان کرمانشاه)، گیلان‌غرب، دهستان ویژنان، منطقهٔ سرپالک با

ارتفاع ۸۱۰ متر از سطح دریا، به طول و عرض جغرافیایی 46□ 45□ 55□ و 34□ 8□ 42□ جمع‌آوری گردید و به تأیید مرکز تحقیقات باریج رسید. ابتدا گیاه با آب مقطر به‌خوبی شسته شد و مدت چند روز در سایه و در دمای اتاق خشک گردید؛ سپس برگ و ساقهٔ گیاه با آسیاب برقی پودر شد. در مرحلهٔ بعد، ۱۰۰ گرم از پودر خشک‌شده از گیاه در یک بالون یک لیتری وارد و آب مقطر به آن اضافه گردید؛ سپس بالن به دستگاه کلونجر متصل شد. استخراج عطرمایه با استفاده از دستگاه کلونجر بر اساس فارماکوپه بریتانیا به مدت چهار ساعت انجام شد. عطرمایهٔ به‌دست‌آمده با استفاده از سولفات سدیم به میزان ۰/۱ وزن عطرمایه، خشک و در شیشه‌های تیره و دربسته در دمای چهار درجهٔ سانتی‌گراد در یخچال نگهداری گردید (۱۹).

اندازه‌گیری ترکیبات مؤثر عطرمایه به روش کروماتوگرافی گازی- طیف‌سنجی جرمی (GC-MS): حجم یک ماکرولیتر از عطرمایهٔ گیاه به دستگاه GC-MS تزریق شد و سپس نتایج به‌دست‌آمده از دستگاه بر اساس اندیس کواتس و مراجعه به فرهنگ طبیعی ترکیبات طبیعی شناسایی گردید. تفسیر طیف‌های GC-MS با استفاده از پایگاه داده‌های موسسهٔ ملی استانداردها و فناوری (NIST) که بیش از ۶۲۰۰۰ الگو دارد و کتابخانهٔ طیفی جرمی ویلی (Wiley) انجام شد. نام، وزن مولکولی و ساختار ترکیب مواد جداسازی‌شده تأیید گردید. دستگاه GC-MS ویژگی‌های ذیل را داشت:

از دستگاه کروماتوگرافی گازی- طیف‌سنجی جرمی (Aglient، آمریکا) شامل ردیاب جرمی Agilent HP-5973 با منبع یونیزاسیون الکترونی (EI) با انرژی ۷۰ الکترون‌ولت کوپل‌شده با دستگاه کروماتوگرافی گازی Agilent HP-6890 با ستون cp-sil 8cb-ms با طول 50 m، قطر داخلی 25/0 mm و ضخامت فیلم ۰/۲۵ میکرومتر استفاده شد. برنامه‌ریزی حرارتی ستون از ۶۰ تا ۲۸۰ درجهٔ سانتی‌گراد با سرعت افزایش دمای $C5^{o}$ در دقیقه و توقف در این دما به مدت دو دقیقه صورت گرفت. دمای محل تزریق دستگاه کروماتوگرافی گازی روی ۲۳۰ درجهٔ سانتی‌گراد و دمای آنالایزر (کوادروپل) روی ۲۳۰ درجهٔ سانتی‌گراد با گسترهٔ 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 عطرمایهٔ گیاه به دستگاه GC-MS تزریق گردید. درنهایت، نتایج به‌دست‌آمده از دستگاه بر اساس اندیس کواتس و مراجعه به فرهنگ طبیعی ترکیبات طبیعی شناسایی شد.

تهیهٔ سوسپانسیون باکتری: برای فعال کردن سوش‌های باکتریایی *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیا کلی*، به میزان پنج میلی‌لیتر از محلول نوترینت براث استریل درون ویال حاوی باکتری ریخته و با عمل پیپت کردن، سوسپانسیون یکنواختی تهیه شد. پس از کشت هریک از باکتری‌ها در محیط نوترینت آگار و حصول کلنی تک، از روش‌های رنگ‌آمیزی و بررسی خصوصیات بیوشیمیایی به‌منظور تأیید باکتری‌ها استفاده گردید. در شرایط استریل و کنار شعله، چند کلنی از باکتری در پنج میلی‌لیتر محیط مایع استریل کشت داده شد و لوله‌های حاوی باکتری ۱۶ ساعت در دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد قرار گرفت تا کدورت نسبی حاصل گردد. درنهایت، کدورت لوله‌ها با لولهٔ شمارهٔ ۰/۵ مک‌فارلند (5/1 ×108 cfu/ml) مقایسه شد (۲۰).

روش‌های سنجش آثار ضدمیکروبی: برای سنجش اثر ضدمیکروبی از روش دیسک‌دیفیوژن آگار استفاده گردید؛ سپس میزان حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی اندازه‌گیری شد (۲). این پژوهش سه بار گردید و با سه تکرار صورت گرفت.

دیسک‌دیفیوژن آگار (Disc diffusion): غلظت اولیهٔ عطرمایه 500 mg/ml در نظر گرفته شد. با در نظر گرفتن ۱/۵ میلی‌لیتر محلول دی‌متیل سولفوکسید 100 (DMSO) درصد و ۰/۵ میلی‌لیتر عطرمایهٔ ۱۰۰ درصد، نسبت عطرمایه محاسبه گردید؛ سپس به نسبت ۱ به ۲ عمل رقیق‌سازی انجام و سریال سرقت‌ها تهیه شد. برای تهیهٔ دیسک‌های کاغذی آغشته به عطرمایهٔ *آویشن اریکالیس*، دیسک‌ها در غلظت‌های ۲۵۰، ۱۲۵، ۶۲/۵، ۳۱/۲۵، ۱۵/۶۲، ۷/۸۱، ۳/۹، ۱/۹۵، ۰/۹۷، ۰/۴۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تهیه شد. از رقت‌های مختلف عطرمایه در شرایط استریل توسط سمپلر و سرسمپلر سترون،

۳۰ میکرولیتر برداشته و به‌آرامی به دیسک‌ها تزریق شد، به‌طوری‌که دیسک اشباع گردید و بیشتر از این قابلیت جذب نداشت؛ سپس در محیطی تاریک و بدون رطوبت به‌طور کامل خشک شد (جدول شمارهٔ ۱).

جدول شمارهٔ ۱. میزان عطرمایهٔ موجود در هر دیسک در مقایسه با میزان رقت عطرمایهٔ گیاه

میزان رقت عطرمایه (ml/mg)	میزان عطرمایهٔ 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

سوسپانسیون میکروبی معادل ۰/۵ مک‌فارلند در سطح محیط کشت مولر هینتون آگار به‌صورت یکنواخت کشت داده شد؛ سپس دیسک‌های کاغذی آغشته به غلظت‌های مختلف عطرمایهٔ آویشن، آنتی‌بیوتیک‌های شرکت پادتن طب (آمپی‌سیلین با غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، سیپروفلوکساسین ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، اریترومایسین ۱۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، سفکسیم ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) (کنترل مثبت) و دیسک آغشته به محلول دی‌متیل سولفوکسید ۱۰۰ درصد (کنترل منفی) در سطح پلیت قرار گرفتند. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجهٔ 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 هالهٔ عدم رشد در نظر گرفته شد (۲۰).

تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC): غلظت بازدارندهٔ حداقلی کمترین غلظت یک مادهٔ شیمیایی یا دارو است که می‌تواند از رشد قابل‌رؤیت یک نوع باکتری جلوگیری کند. به‌منظور تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی، از مجموعه‌ای از لوله‌های آزمایش ده‌تایی استفاده شد. ابتدا نیم میلی‌لیتر از عطرمایهٔ تغلیظ‌شده (معادل ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) به لولهٔ اول آزمایش اضافه گردید؛ سپس به آن ۱/۵ میلی‌لیتر از محلول دی‌متیل سولفوکسید ۱۰۰ درصد اضافه شد تا رقت ۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به‌دست آید؛ سپس به همهٔ لوله‌ها به‌جز لولهٔ اول، نیم میلی‌لیتر از محلول دی‌متیل سولفوکسید اضافه گردید و از لولهٔ اول نیم میلی‌لیتر به لولهٔ 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 لولهٔ دیگر، با کمک دستگاه شیکر عطرمایه خوب هموژن 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 میلی‌لیتر، یک لوله به‌عنوان کنترل مثبت و یک لوله به‌عنوان کنترل منفی تهیه شد. پس از تهیهٔ رقت سریالی از عطرمایه، به همهٔ لوله‌ها نیم میلی‌لیتر محیط کشت مولر هینتون براث اضافه گردید؛ سپس نیم میلی‌لیتر از سوسپانسیون میکروبی ۰/۵ مک‌فارلندی که از قبل تهیه‌شده بود، به لوله‌ها اضافه گردید.

حداقل غلظت کشندگی کمترین غلظت از دارو است که باعث مرگ باکتریایی می‌شود. برای به‌دست آوردن حداقل غلظت کشندگی، ۱۰ میلی‌لیتر از غلظت حداقل غلظت

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

تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS vol.23 صورت گرفت. به‌منظور بررسی تفاوت معنی‌دار میان داده‌های به‌دست‌آمده، از آزمون آماری ANOVA استفاده گردید و سطح معنی‌داری $P<0.01$ در نظر گرفته شد؛ همچنین برای مقایسهٔ گروه‌ها، آزمون توکی به‌کار رفت. نتایج آزمایشگاهی به‌صورت میانگین و انحراف معیار برای سه آزمایش مستقل ارائه گردید.

یافته‌های پژوهش

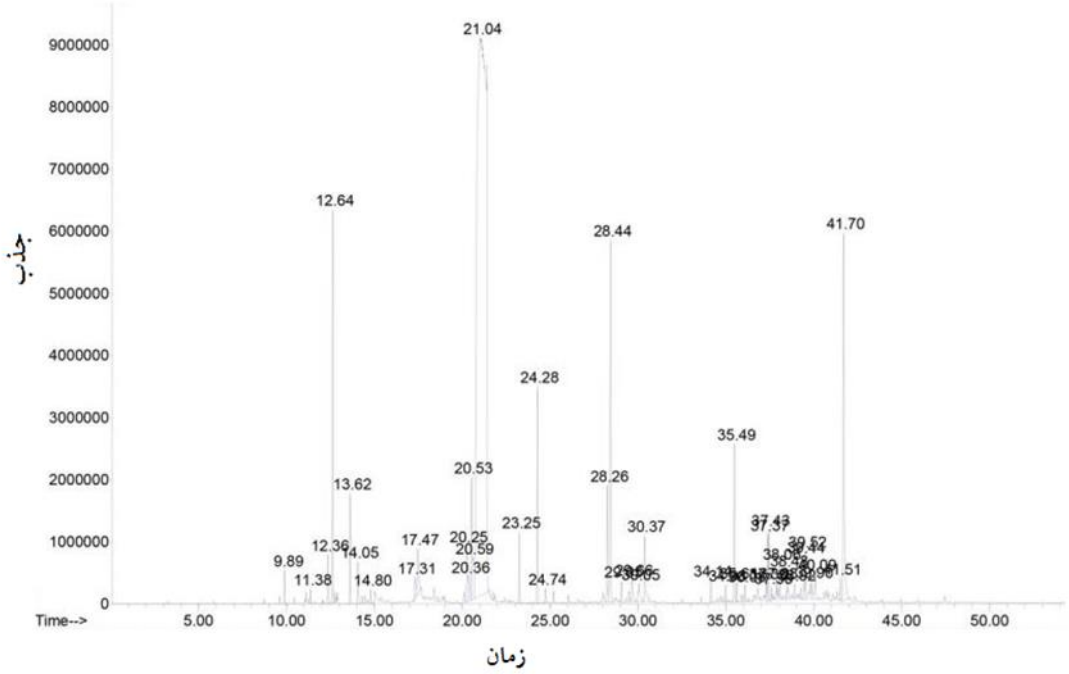
بازده و ترکیبات شیمیایی عطرمایهٔ آویشن مرتعی: پس از بررسی طیف‌های GC-MS، زمان بازداری، درصد ترکیبات و مقایسهٔ طیف‌ها با داده‌های موسسهٔ ملی استانداردها و تکنولوژی و ویلی، ۹۹/۹۹ درصد از کل عطرمایهٔ گیاه *Thymus eriocalyx* با ۴۲ ترکیب مختلف شناسایی شد. ۱۱ ترکیب اصلی موجود در عطرمایه اندام‌های هوایی گیاه،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

جدول شمارهٔ ۲. تجزیه‌وتحلیل مواد مؤثر عطرمایهٔ 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

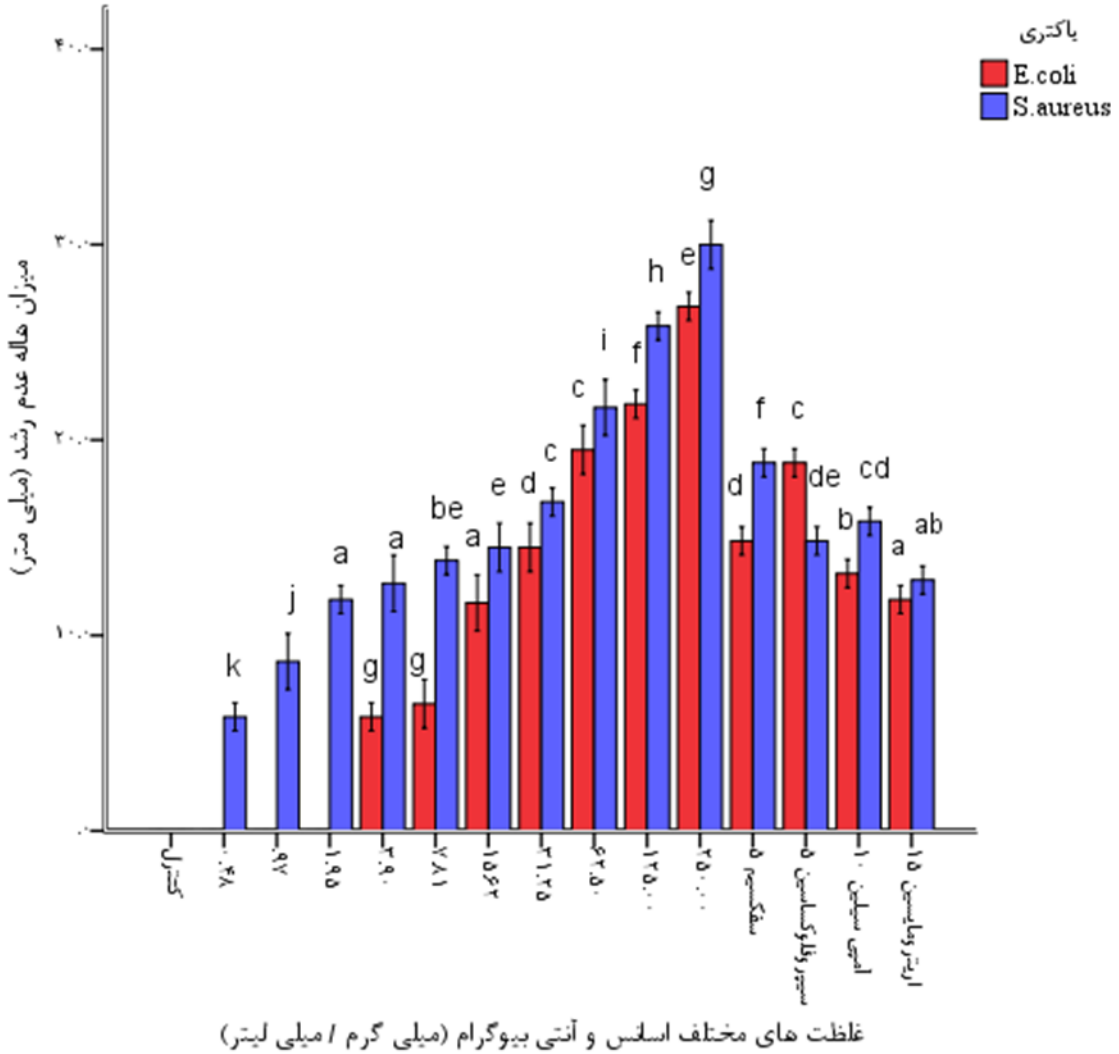
۲۱	Adamantane	۲۹/۶۶	۰/۳۸
۲۲	Farnesene-alpha	۳۰/۰۵	۰/۴۳
۲۳	Vulgarol	۳۰/۳۷	۱/۰۴
۲۴	Phthalic acid	۳۴/۱۴	۰/۲۰
۲۵	Cinerone-Cis	۳۴/۹۸	۰/۱۵
۲۶	Benzaldehyde	۳۵/۴۹	۱/۵۷
۲۷	2 , 6,6 -Benzylsulfonyl -3 ...trimethyl -	۳۵/۶۱	۰/۱۸
۲۸	Dibutyl phthalate	۳۶/۰۸	۰/۲۰
۲۹	Oxocamphene-–6 (+)	۳۷/۳۰	۰/۱۶
۳۰	Durenol	۳۷/۳۷	۰/۵۷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

آویشن مرتعی درصد بالایی از مواد فنولی به‌ویژه کارواکرول دارد (شکل شمارهٔ ۱). کارواکرول مایع بی‌رنگ مایل به زرد، یک ترکیب فنلی و مشتق مونوترپن طبیعی است که بیشترین مقدار (۶۶/۹۶ درصد) از مواد تشکیل‌دهندهٔ عطرمایهٔ آویشن مرتعی را تشکیل می‌دهد. این ترکیب ضدالتهاب قوی، ضداسترس، اکسیداتیو و مهارکنندهٔ رشد باکتری و قارچ است و سرعت مرگ سلول‌های سرطانی را افزایش می‌دهد (۱۳).



شکل شماره ۱. کروماتوگرام عطرمایهٔ گیاه آویشن مرتعی به‌دست‌آمده از دستگاه GC-MS

روش دیسک‌دیفیوژن آگار: عطرمایهٔ گیاه آویشن مرتعی در همهٔ غلظت‌ها اثر ضدباکتریایی مناسبی بر باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* داشت. غلظت‌های ۳/۹ تا ۲۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عطرمایهٔ آویشن مرتعی اثر مهاری بر باکتری *اشریشیا کلی* داشت (شکل شمارهٔ ۲، جدول شمارهٔ ۳). میان افزایش غلظت و افزایش قطر هالهٔ عدم رشد هر دو باکتری آزمایش‌شده رابطهٔ مستقیم برقرار بود. *استافیلوکوکوس اورئوس* با قطر هالهٔ ۳۰ میلی‌متری در غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از عطرمایهٔ آویشن مرتعی به‌عنوان حساس‌ترین سویهٔ باکتریایی دیده شد. اثر مهارکنندگی عطرمایه با غلظت‌های ۲۵۰، ۱۲۵ و ۶۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر روی باکتری‌ها از هر چهار آنتی‌بیوتیک انتخابی بیشتر بود. هالهٔ عدم رشد در باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* در غلظت ۲۵۰، ۱۲۵ و ۶۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، به‌ترتیب ۳۰/۰۵□، ۲۶۰/۰۸□ و ۲۲۰/۵۷□ میلی‌متر بود، درحالی‌که بیشترین مقدار هالهٔ عدم رشد در حول دیسک‌های آنتی‌بیوگرام، اطراف دیسک سفکسیم ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به میزان ۱۹ میلی‌متر مشاهده گردید؛ همچنین هالهٔ عدم رشد در باکتری *اشریشیا کلی* در غلظت ۲۵۰، ۱۲۵ و ۶۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، به‌ترتیب ۲۷۰/۰۲□، ۲۲۰/۰۸□ و ۲۰/۰۵ □ میلی‌متر بود، درحالی‌که بیشترین مقدار هالهٔ عدم رشد در اطراف دیسک‌های آنتی‌بیوگرام، اطراف سیپروفلوکساسین ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به میزان ۱۹ میلی‌متر دیده شد؛ بنابراین، عطرمایهٔ گیاه آویشن مرتعی در سه غلظت ۲۵۰، ۱۲۵ و ۶۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر روی هر دو باکتری مطالعه‌شده بیشتر از آنتی‌بیوتیک اثرگذار بود (شکل شمارهٔ ۲، جدول شمارهٔ ۳). حروف a تا k در شکل شمارهٔ ۲ اختلاف معنادار میان هالهٔ عدم رشد را نشان می‌دهد ($P<0.01$)؛ همچنین اثر عطرمایهٔ گیاه آویشن مرتعی در توقف رشد باکتری‌های گرم مثبت بیشتر از باکتری‌های گرم منفی بود.



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

جدول شمارهٔ ۳. مقایسهٔ میزان هالهٔ عدم رشد اطراف هر دیسک با آنتی‌بیوگرام (کنترل: DMSO 100 درصد)

عطرمایه (میلی گرم بر میلی‌لیتر)	*استافیلوکوکوس اورئوس*	*اشریشیا کلی*
اریترومایسین ۱۵	۱۳ ±۰/۰۱ $^{a, b}$	۱۲ ±۰/۰۲ ^{a}
آمپی‌سیلین 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 ^{c}
۳۱/۲۵	۱۷ ±۰/۲۸ ^{c}	۱۵ ±۰/۰۴ ^{d}
۱۵/۶۲	۱۵ ±۰/۰۵ ^{e}	۱۲ ±۰/۰۷ ^{a}

۷/۸۱	۱۴ ±۰/۲۸ b, e	۷ ±۰/۰۲ g
۳/۹	۱۳ ±۰/۰۷ a	۶ ±۰/۰۱ g
۱/۹۵	۱۲ ±۰/۰۵ a	۰
۰/۹۷	۹ ±۰/۵۷ j	۰
۰/۴۸	۶ ±۰/۰۲ k	۰
شاهد	۰	۰

(حروف a تا k اختلاف معنادار میان هالهٔ عدم رشد را نشان می‌دهد و $P<0.01$.)

حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC): مقدار حداقل غلظت مهارکنندگی در هر دو باکتری ذکرشده کمتر از حداقل غلظت کشندگی بود. حداقل غلظت مهارکنندگی عطرمایهٔ آویشن مرتعی برای *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیا کلی* به‌ترتیب ۳/۹ و ۳۱/۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. حداقل غلظت کشندگی عطرمایهٔ آویشن مرتعی برای باکتری گرم منفی *اشریشیا کلی* بیش از ۶۲/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر و برای باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* بیش از ۷/۸۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود (جدول شمارهٔ ۴).

جدول شمارهٔ ٤. نتایج مربوط به تعیین MIC و MBC غلظت‌های متفاوت عطرمایهٔ گیاه آویشن مرتعی

نوع باکتری	عطرمایهٔ گیاه (میکروگرم بر میلی‌لیتر)	
	MIC	**MBC**
استافیلوکوکوس اورئوس	۳/۹	۷/۸۱
اشریشیا کلی	۳۱/۲۵	۶۲/۵

بحث و نتیجه‌گیری

بیماری‌ها و عفونت‌های باکتریایی به علت شیوع بالای آن در جامعه و بیمارستان‌ها و بار اقتصادی که بر دوش بیمار و دولت دارد، یکی از مهم‌ترین مشکلات بهداشتی در زمان حاضر است. علاوه بر این، ظهور مداوم سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها به درمان نشدن مؤثر منجر می‌شود. باکتری‌ها سازوکارهای هوشمند مختلفی را برای غلبه بر روش‌های درمانی و زنده ماندن در بدن موجود زنده ایجاد کرده‌اند؛ همچنین علاوه بر هزینهٔ مالی بالایی که بیش از یک میلیارد دلار است، فرایند توسعهٔ عامل آنتی‌باکتریایی جدید زمان بسیاری (بیش از ۱۰ سال) طول می‌کشد تا به بازار برسد؛ بنابراین، در سراسر جهان تمایل بسیاری به‌سوی گیاهان دارویی وجود دارد؛ زیرا تخمین زده می‌شود که ۸۰ درصد از مردم و ۳۰ درصد از فرمولاسیون‌های دارویی به‌طور اصلی به گیاهان دارویی وابسته هستند (۲۱). استفاده از عطرمایه و عصارهٔ گیاهان دارویی جایگاه قابل‌ملاحظه‌ای را در طب سنتی به خود اختصاص داده است. اخیراً استفاده از ترکیباتی که به‌طورکلی بی‌ضرر تلقی می‌شوند و به GRAS (افزودنی مجاز) معروف‌اند، توجه فراوانی را به خود معطوف کرده است. ترکیبات طبیعی فعال بیولوژیکی مشتق از گیاهان ازجمله مهم‌ترین ترکیبات افزودنی مجاز هستند؛ زیرا مواد حاصل از عطرمایه‌ها و عصاره‌های گیاهان را می‌توان برای حفظ و نگهداری مواد غذایی، استفاده در داروسازی و به‌عنوان عوامل درمانی جدید علیه بیماری‌ها و عفونت‌های میکروبی به‌کار برد (۲۲).

مطالعهٔ حاضر اولین گزارش از بررسی ترکیبات فیتوشیمیایی و اثر مهارکنندگی برگ و ساقهٔ گیاه آویشن مرتعی ارتفاعات کرمانشاه بر رشد باکتری‌های *اشریشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌ها را نشان می‌دهد. در این پژوهش، بازده استخراج عطرمایهٔ آویشن مرتعی ۹۹/۹۹ درصد است. ترکیب اصلی تشکیل‌دهندهٔ

عطرمایهٔ آویشن مرتعی کارواکرول (۶۶/۹۶ درصد) است. این ترکیب خواص مختلف دارویی و بیولوژیکی همچون ضدباکتری، ضدقارچی، آنتی‌اکسیدانی، 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 ضدمیکروبی قوی، به‌عنوان مادهٔ نگه‌دارنده در صنایع غذایی به‌کار گرفته می‌شود؛ همچنین آثار حفاظت نورونی، کبدی و کلیوی این مواد پلی‌فنلی در نمونهٔ بیماری‌های مختلف مشخص‌شده است. کارواکرول تجمع پلاکت در خون را مهار می‌کند و می‌تواند مسیرهای سیگنالینگ درگیر در التهاب سلولی را تعدیل نماید (۱۳). عطرمایهٔ این گیاه در غلظت‌های ۲۵۰، ۱۲۵ و ۶۲/۵ میلی‌گرم بر مول در مهار هر دو باکتری، بهتر از آنتی‌بیوتیک‌های انتخابی عمل کردند. غلظت‌های کمتر از ۳/۹ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از عطرمایه در جلوگیری از رشد باکتری *اشریشیا کلی* مؤثر نبود، اما در اطراف همهٔ دیسک‌ها در پلیت حاوی باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* هالهٔ عدم رشد مشاهده شد. حداقل غلظت مهارکنندگی عطرمایهٔ آویشن مرتعی برای *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیا کلی* به‌ترتیب ۳/۹ و ۳۱/۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر و حداقل غلظت کشندگی عطرمایهٔ این گیاه برای *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیا کلی* به‌ترتیب بیش از ۷/۸۱ و ۶۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. ترکیبات فنلی با تداخل در عملکرد غشای سیتوپلاسمی و دخالت در ورود و خروج مواد به داخل سلول، تأثیر ضدمیکروبی خود را اعمال می‌کنند. باکتری‌های گرم مثبت فقط یک لایه در دیوارهٔ سلولی خود دارند، درحالی‌که در باکتری‌های گرم منفی، این دیوار از چندین لایه تشکیل‌شده است. این ممکن است حساسیت بیشتر باکتری‌های گرم مثبت به عطرمایهٔ گیاهی را توضیح دهد؛ به‌عبارت‌دیگر، باکتری‌های گرم منفی یک غشای خارجی و یک فضای پری پلاسمیک دارند که در باکتری‌های گرم مثبت وجود ندارد. غشای خارجی باکتری‌های گرم منفی به‌عنوان سدی در برابر نفوذ برخی از مولکول‌های آنتی‌بیوتیک شناخته می‌شود. فضای پری پلاسمیک همچنین حاوی آنزیم‌هایی است که می‌توانند مولکول‌های خارجی واردشده را تجزیه کنند (۱۵).

محمدپور و همکاران به بررسی خواص ضدباکتریایی و ضدقارچی عطرمایهٔ گونه‌هایی از سه جنس آویشن پرداختند. مقایسهٔ عطرمایه سه گونهٔ آویشن دنایی، شیرازی و مازندران بیان‌کنندهٔ این موضوع است که عطرمایهٔ این گیاهان اثر فراوانی بر مهار رشد باکتری و قارچ دارد. بیشترین اثر عطرمایهٔ این سه گونه روی باکتری *اشریشیا کلی* گزارش شد (۲۳).

در پژوهش حاضر، عطرمایهٔ آویشن مرتعی بیشترین تأثیر را در مهار باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* داشت؛ اما به‌طورکلی 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 عطرمایهٔ آویشن ارتفاعات خرم‌آباد و الیگودرز بر تعدادی از باکتری‌های گرم منفی و مثبت پرداختند. نتایج بیان‌کنندهٔ این مطلب بود که اثر مهارکنندگی عطرمایهٔ این دو آویشن بر باکتری‌های گرم مثبت بیش از باکتری‌های گرم منفی است (۱۲). یافته‌های مطالعهٔ طالعی و همکاران با نتایج تحقیق حاضر همخوانی دارد.

اخوان و همکاران پس از بررسی اثر مهارکنندگی عطرمایهٔ آویشن شیرازی (Zataria Multiflora) روی رشد باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی بیان کردند که با افزایش مقدار عطرمایهٔ این گیاه، اثر بازدارندگی به شکل معنی‌داری و قطر هالهٔ عدم رشد افزایش می‌یابد؛ همچنین عطرمایهٔ 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). مطالعهٔ اخوان و همکاران نیز نتایجی مشابه پژوهش حاضر ارائه داده است.

فرهمند و همکاران به بررسی فیتوشیمیایی و اثر

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

علاوه بر گونه‌های مختلف گیاهی، یک گونهٔ گیاهی خاص که در مناطق جغرافیایی مختلف می‌روید، نیز ترکیبات فیتوشیمیایی و آثار ضدمیکروبی متفاوتی دارد. عطرمایهٔ بخش‌های هوایی گیاه آویشن مرتعی به‌دست‌آمده از ارتفاعات کرمانشاه حاوی ۶۶/۹۶ درصد کارواکرول (ترکیب فنولی) است. عطرمایهٔ آزمایش‌شده فعالیت ضدباکتریایی امیدوارکننده‌ای را نشان داده است؛ بنابراین، شناسایی و جداسازی متابولیت‌های ثانویهٔ این گیاه دارویی به شرکت‌های دارویی در تولید داروهای جدید برای درمان بیماری‌های ناشی از میکروب‌ها، ازجمله 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 همهٔ همکارانی که در انجام این پژوهش ما را یاری کردند، کمال تشکر و قدردانی را داریم.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌کنند که هیچ تعارض منافعی وجود ندارد.

کد اخلاق

با توجه به استفاده نکردن از نمونهٔ انسانی–حیوانی، نیاز به تهیهٔ کد اخلاق نبود.

حمایت مالی

این تحقیق هیچ کمک مالی خاصی از سازمان های تأمین مالی در بخش های عمومی، تجاری یا غیر انتفاعی دریافت نکرد.

مشارکت نویسندگان

نویسندگان دارای سهم مساوی در نگارش مقاله می باشند.

References

1. Farahmand S, Rasooli A, Saffarpour M. Antifungal activities of methanolic extract of plants. EJBio. 2016; 1:42-4.
2. Farahmand S, Rezaei F, Kavosi S. Phytochemical investigation and inhibitory effect of *Thymus eriocalyx* (Ronniger) Jalas 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.
3. 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.
4. 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).
5. 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.
6. Davarpanah M, Bakhtiari R, Karimi M, Hosseini SF, Esmaeili 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.
7. Naghibi 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.
8. Kalvandi R, Atri M, Jamzad Z, Safikhani K. Taxonomic study of *Thymus eriocalyx* (Ronniger) Jalas 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.
9. 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.
10. 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).
11. 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.
12. Talei GR, Meshkatalsadat MH, Mosavi SZ. Antibacterial activity native medicinal plants extracts in Lorestan, Iran. J Gorgan Univ Med Sci. 2008; 10:31-35. (Persian).
13. 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.
14. 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.
15. 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.
16. 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.
17. Cimolai N. MRSA and the environment: implications for comprehensive control measures. ESCMID 2008; 27:481-93. doi: 10.1007/s10096-008-0471-0.
18. 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.
19. 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.
20. 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).
21. Marouf RS, Mbarga JAM, Ermolaev AV, Podoprigora 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.
22. 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, Tahmuzi 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).