اثر عصاره الکلی فلفل سیاه، قرمز و آویشن شیرازی بر مهار آنزیم DNase استافیلوکوکوس اورئوس

مریم زرین‌قلم مقدم[1]، مرتضی ستاری[2]*، جلال زرین‌قلم مقدم[3]، شمسعلی رضازاده[4]

۱- کارشناس ارشد، گروه باکتری‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس
۲- دانشیار، گروه باکتری‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس
۳- دکترای فیزیولوژی، مرکز تحقیقات علوم اعصاب، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شهید بهشتی
٤- استادیار، گروه فارماکوگنوزی و داروسازی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی
*آدرس مکاتبه: گروه باکتری‌شناسی، دانشکده پزشکی دانشگاه تربیت مدرس
تلفن: ۸۲۸۸۳۵٦۳ (۰۲۱)، نمابر: ۸۸۰۱۳۰۳۰ (۰۲۱)
پست الکترونیک: sattarim@modares.ac.ir

تاریخ دریافت: ۸۵/٦/۳۰ **تاریخ تصویب:** ۸٦/٦/۳

چکیده

مقدمه: آنزیم **DNase** یکی از شاخصه‌های تشخیصی و بیماری‌زایی در باکتری استافیلوکوکوس اورئوس است. عصاره‌های گیاهی به روش‌های مختلف اثر مهاری بر روی این باکتری دارند.

هدف: این تحقیق با هدف بررسی اثرات مهاری غلظت‌های کمتر از بازدارندگی رشد عصاره‌های الکلی فلفل سیاه، فلفل قرمز و آویشن شیرازی بر روی رشد و فعالیت **DNase** استافیلوکوکوس اورئوس انجام شد.

روش بررسی: ابتدا سویه استاندارد استافیلوکوکوس اورئوس را تهیه کردیم، سپس فلفل سیاه، فلفل قرمز و آویشن شیرازی را پس از تایید از باغ کشاورزی مرکز تحقیقات جهادکشاورزی استان تهران تهیه کردیم. عصاره الکلی هر سه گیاه به نسبت ۱ به ۵ توسط اتانل ۹٦ درجه تهیه شد. از روش رقت در آگار یا آبگوشت در محیط مولر هینتون برای تعیین کمترین رقت مهاری رشد استفاده شد. رشد باکتری در مجاورت رقت‌های ۱/۲ تا ۱/٦٤ از کمترین رقت مهاری رشد هر یک از عصاره‌ها در محیط مولر هینتون به مدت ۲٤ ساعت بررسی شد.

نتایج: عصاره هر سه گیاه منجر به مهار رشد استافیلوکوکوس اورئوس شدند. رقت‌های ۱/٦٤ و۱/۳۲ از عصاره الکلی آویشن و رقت‌های ۱/۱٦، ۱/۳۲ و ۱/٦٤ از فلفل سیاه و قرمز منجربه مهار آنزیم **DNase** در مقایسه با شاهد بدون عصاره شدند.

نتیجه‌گیری: می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که عصاره این گیاهان علاوه بر اثر از طریق غشای باکتری که در بررسی‌های قبلی نیز تایید شده، احتمالاً باید بر روی سنتز آنزیمی باکتری نیز نقش داشته باشند.

گل‌واژگان: استافیلوکوکوس اورئوس، فعالیت **DNase**، فلفل سیاه، فلفل قرمز، آویشن شیرازی

[Downloaded from jmp.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2007.6.24.3.0]

مقدمه

آنزیم DNase یکی از شاخصه‌های تشخیصی و بیماری‌زایی در باکتری استافیلوکوکوس اورئوس است. این آنزیم یک آنزیم مقاوم به حرارت بوده و منحصراً در استافیلوکوک اورئوس دیده می‌شود. آزاد شدن DNase به دلیل دارا بودن خاصیت اندونوکلئوتیک و اگزونوکلئوتیک منجر به شکسته شدن مولکول‌های DNA و RNA می‌شود. جلوگیری از تولید و پخش این متابولیت می‌تواند هدف بسیاری از مواد ضدباکتریایی باشد [۱۸].

عصاره‌های گیاهی نیز به روش‌های مختلف بر روی این باکتری اثر مهاری دارند. فلفل سیاه، فلفل قرمز و آویشن گیاهانی هستند که در طب سنتی در درمان عفونت‌های چرکی استفاده می‌شوند. فلفل گیاهی است علفی و دارای ساقه بی‌کرک که از تیره پیپراسه[1] است. برخی از ترکیبات ضدمیکروبی استخراج شده عبارتند از ترپینز[2]، بتاپینن[3]، آلفاپینن[4]، لینالئول[5] و ترپینئول[6]. خواص دارویی ذکر شده عبارتند از: خواص ضدانقباضی، ضدعفونی‌کننده، ضدباکتریایی، تب بر، مسهل و نظایر آن [۲،۳].

آویشن نیز از گیاهان تیره نعناع است که قسمت مورداستفاده آن کلیه اعضای هوایی، مخصوصاً سرشاخه‌های گل‌دار است که اثرات ضدعفونی کننده دارد [٦]. تیمیدل ترکیبی فنلی و مهم‌ترین ماده موثر آن است. ترکیب موثر دیگر کارواکرول است که به خوبی در الکل و حلال‌های آلی حل می‌شوند. این مواد عمدتاً در طی رشد گیاه در برگ‌های جوان ذخیره می‌شوند. عصاره الکلی آن اثر ضدعفونی کننده و خلط‌آور دارد [۲،۳،٤]. بنابراین در پژوهش حاضر علاوه بر بررسی اثر مهاری عصاره‌های الکلی آویشن شیرازی، فلفل سیاه و قرمز بر روی رشد استافیلوکوک اورئوس، تاثیر آن‌ها بر روی کاهش بیماری‌زایی این نوع استافیلوکوک از طریق مهار ترشح آنزیم DNase نیز بررسی شد.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی گیاه

هر سه گیاه فلفل سیاه، فلفل قرمز و آویشن شیرازی پس از تایید از باغ کشاورزی مرکز تحقیقات جهادکشاورزی استان تهران به محل انجام تحقیق در گروه باکتری‌شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه تربیت مدرس انتقال داده شدند و پس از خشک کردن، در محلی تاریک و بدون رطوبت کاملاً خرد شدند [۹].

تهیه عصاره الکلی

پودرهای حاصله به نسبت ۱ به ۵ (W/V) با الکل ۹٦ درجه خالص به صورت سوسپانسیون درآورده شدند. پس از ۲٤ ساعت مخلوط حلال و گیاه از هم جدا شد تا عصاره اولیه[1] حاصل شود. عصاره اولیه در دستگاه تقطیر در خلا قرار گرفت و در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد حلال آن‌ها به مدت یک ساعت به آرامی تبخیر و عصاره تغلیظ شده به دست آمد [۱۰].

سویه مورد آزمایش

در این تحقیق سویه استاندارد استافیلوکوک اورئوس (ATCC ۲۹۲۱)، از مرکز رفرانس بیمارستان بوعلی تهیه و استفاده شد.

بررسی اثر بازدارندگی عصاره‌ها بر روی باکتری

باکتری استافیلوکوک اورئوس به مدت یک شب در محیط مولر هینتون براث کشت شد. از سوسپانسوین حاوی ۱۰۵ × ۵ باکتری به روش کشت سفره‌ای بر روی محیط مولرهینتون آگار کشت داده شد. چاهک‌هایی به قطر ۵ میلی‌متر در پلیت‌ها ایجاد شد و به هر چاهک ۵۰ میکرولیتر از هریک از عصاره‌ها به طور جداگانه اضافه گردید. قطر هاله عدم رشد پس از ۲٤ ساعت با خط‌کش اندازه‌گیری شد. آزمایش سه بار تکرار شد و میانگین داده‌ها محاسبه گردید. در هر مجموعه، از الکل خالص و سرم فیزیولوژی به عنوان شاهد استفاده شد [۹].

[1] Crude extract

[1] Piperaceae
[2] Terpinene
[3] β-pinene
[4] α-pinene
[5] Linaleol
[6] Terpineol

[Downloaded from jmp.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2007.6.24.3.0]

تعیین کمترین رقت مهاری رشد

در این روش جهت تعیین نسبی حداقل رقت مهاری رشد باکتری، از عصاره تغلیظ شده الکلی هر سه گیاه سریال‌های رقتی $\frac{1}{2}, \frac{1}{4}, \frac{1}{8}, \frac{1}{16}, \frac{1}{32}$ و $\frac{1}{64}$ در محیط مولر هینتون براث تهیه گردید. سپس به هرکدام از رقت‌ها به ازای هر میلی‌لیتر محیط مایع ۱۰۵ × ۵ باکتری فعال اضافه گردید، در کنار لوله‌ها از کنترل مثبت (محیط کشت حاوی باکتری، بدون عصاره) و کنترل منفی (محیط کشت بدون باکتری) استفاده شد. در نهایت لوله‌ها به مدت ۲٤ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه و سپس نتایج بررسی شد.

برای هرکدام از رقت‌های عصاره الکلی، آخرین رقتی که در آن هیچ‌گونه کدورتی مشاهده نگردید (عدم رشد) به عنوان μID در نظر گرفته شد [۱۰،۱۱].

بررسی مهار فعالیت آنزیم DNase

از سوسپانسیون‌های باکتریایی تیمار شده با رقت‌های $\frac{1}{32}$ از عصاره الکلی آویشن و رقت‌های $\frac{1}{16}$ و $\frac{1}{32}$ و $\frac{1}{64}$ عصاره فلفل سیاه و قرمز برای بررسی فعالیت آنزیم مذکور استفاده شد. به منظور ارزیابی میزان ترشح آنزیم DNase از این سوسپانسیون‌ها به طور جداگانه به میزان ۱۰ میکرولیتر بر روی محیط DNase آگار به صورت یک خط ممتد با پهنای یکسان کشت داده شد. پس از ۲٤- ۱۸ ساعت انکوباسیون پلیت‌ها در ۳۷ درجه سانتی‌گراد، بر روی کلنی‌های موجود اسید کلریدریک ۱ نرمال ریخته شد و پس از گذشت چند دقیقه هاله‌های شفاف ناشی از تجزیه قطعات اسیدنوکلئیک توسط آنزیم مذکور ارزیابی شد [۱۰،۱۱].

نتایج

عصاره الکلی هرسه گیاه برای تعیین قطر هاله عدم رشد، μIO و بررسی مهار آنزیم DNase استفاده شد (جدول شماره ۱)

مهار رشد استافیلوکوک اورئوس

قطر هاله عدم رشد برای عصاره الکلی آویشن ۲ ± ۲۰، برای فلفل سیاه ۲ ± ۱۵ و برای فلفل قرمز ۲ ± ۱٦ میلی‌متر ثبت گردید. در تعیین μIO به روش سریال نیز آویشن در رقت $\frac{1}{16}$ و فلفل سیاه و قرمز در رقت $\frac{1}{4}$ با عث مهار رشد و مرگ استافیلوکوک اورئوس شدند (جدول شماره ۲).

مهار فعالیت آنزیم DNase

در بررسی مهار فعالیت آنزیم DNase مشاهده شد که در رقت‌های $\frac{1}{32}$ و $\frac{1}{64}$ از عصاره الکلی آویشن و رقت‌های $\frac{1}{16}$ و $\frac{1}{32}$ و $\frac{1}{64}$ فلفل سیاه و قرمز باکتری رشد کرده ولی توانایی تولید آنزیم DNase را به دلیل وجود عصاره از دست داده است (جدول شماره ۳)

جدول شماره ۱- مقایسه نقش مهاری عصاره‌ها بر رشد استافیلوکوک اورئوس

عصاره گیاهی	استافیلوکوک اورئوس (ATCC 29213)
عصاره الکلی آویشن	+++
عصاره فلفل سیاه	++
عصاره فلفل قرمز	++
Alcenol	+

قطر منطقه مهار رشد: +++، قوی (۳۰ -۲۰ میلی‌متر)، ++ معمولی (۲۰ – ۱۳ میلی‌متر)، - منفی

[Downloaded from jmp.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2007.6.24.3.0]

جدول شماره ۲ – مقایسه حداقل غلظت مهارکننده استافیلوکوک توسط عصاره‌های گیاهی

عصاره گیاهی	حداقل غلظت مهارکننده
عصاره الکلی آویشن	۱/۱٦
عصاره فلفل سیاه	۱/٤
عصاره فلفل قرمز	۱/٤

جدول شماره ۳- مقایسه حداقل غلظت موثر بر فعالیت DNase توسط عصاره‌های گیاهی

نمونه‌ها	فلفل سیاه			فلفل قرمز			آویشن	
	۱/۱۶	۱/۳۲	۱/۶۴	۱/۱۶	۱/۳۲	۱/۶۴	۱/۳۲	۱/۶۴
فعالیت DNase	–	–	–	–	–	–	–	–

بحث

گیاهان دارویی از دیرباز برای درمان عفونت‌های باکتریال استفاده می‌شده‌اند. اخیراً نیز به دلیل بروز مقاومت‌های دارویی، به منابع گیاهی به عنوان مخازن طبیعی توجه بیشتری شده است. میزان بیان متابولیت‌های موجود در اندام‌های مختلف گیاه برحسب شرایط اکولوژیکی متفاوت است. بر این اساس ارزیابی مواد موثر گیاهان دارویی بر حسب مناطق جغرافیایی تحت کشت آن‌ها ضروری به نظر می‌رسد. از جمله این گیاهان گونه‌های آویشن شیرازی، فلفل سیاه و قرمز است که تحت شرایط اقلیمی متفاوت مواد موثر آن‌ها تغییر می‌کند [۵].

در سال ۲۰۰۳ عثمان سانگلیک[1] گزارش کرد که اسانس گیاه آویشن شیرازی بر روی باکتری‌های اشرشیاکلی، سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوک اورئوس اثر بازدارندگی دارد [۷].

در سال ۲۰۰۰ نیز بررسی‌های دورمن[2] و همکارانش بر روی عصاره تعدادی از گیاهان دارویی از جمله فلفل سیاه نشان داد که عصاره این گیاه اثر بازدارندگی بر روی سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوک اورئوس دارد [۸].

طی تحقیق حاضر نیز نه تنها اثر عصاره الکلی آویشن شیرازی، فلفل سیاه و قرمز بر روی استافیلوکوک اورئوس تایید شد بلکه در این پژوهش مشاهده شد که عصاره هر سه گیاه توانایی مهار ترشح آنزیم DNase استافیلوکوک اورئوس را دارند. به نظر می‌رسد که این گیاهان احتمالاً عمده اثر ضدباکتریایی خود را از طریق مهار DNase اعمال می‌کنند. مشاهده اثرات مهاری رقت‌های کمتر از بازدارندگی رشد عصاره‌های گیاهی فلفل سیاه قرمز و آویشن موید این نکته است که مواد تشکیل‌دهنده عصاره علاوه بر اثر بر روی غشای باکتری که در بررسی‌های قبلی نیز تایید شده است، شاید بر روی سنتز آنزیم‌های مختلف باکتری نیز نقش داشته باشند که نیاز به بررسی‌های بیشتری دارد. هم‌چنین این پژوهش همسو با نتایج بررسی‌های عثمان سانگلیک نشان داد که عصاره الکلی آویشن شیرازی در رقت‌های مساوی اثر مهاری محسوس‌تری نسبت به دو گیاه دیگر دارد. البته نتیجه‌گیری در مورد قوی‌تر بودن اثر ضدباکتریایی آویشن شیرازی بررسی‌های بیشتری را می‌طلبد.

[1] Osman Sangclic

[2] Dorman

[Downloaded from jmp.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2007.6.24.3.0]

منابع

1. Willett J, Wilfer J. Zinsser Microbiology. Division of prentice Hall. 19th. 1998, pp: 343-356.

2. Newall C. Anderson LA, Philipson JD. Herbal Medicines a guide for health care professionals. The pharmaceutical press. London. 1996.

3. Zargari A. Herbal drugs. 4th. Tehran University. 1989.

4. Parfitt K. The Complete drug reference. 4th. The pharmaceutical press. London. 1999.

5. Cohen ML. Epidemiology of drug resistance: Implications for a post-antimicrobial era. *Science* 1992; 1050-1055.

6. Dean SG. Natural antioxidant from thymus vulgaris (thyme) volatile oil. *Acta Horicultural* 1992, 322, 171 - 182.

7. Osman S. Sensitivity of four pathogenic bacteria to Turkish thyme and oregano. *Wissenchaft. Und. Technologic* 2003; 36 (5): 467 - 473.

8. Dorman HJD. Deans SG. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of applied microbiology* 2000; 88: 308 - 314.

9. Gislen GF. Antimicrobial activity of plants on antibiotic resistance bacteria. *Brae. J. Microbiology* 2000; 31: 247- 256.

10. Ejechi BO, Akpomedye DE. Activity of essential oil and phenolic acid extracts of pepper aquinst some food borne microqanisms. *African Journal of Biotechnology* 2005; 4 (3): p. 258-261.

11. Baraon EJ, Finegold SM. Diagnostic Microbiology. 8th ed. Mosby co. USA, 1990, PP: 171-194.

[Downloaded from jmp.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2007.6.24.3.0]