Environ. Water Eng., 2023, 9(4), 437-448 DOI: 10.22034/ewe.2022.336375.1761

Environment and Water Engineering

Homepage: www.jewe.ir

ISSN: 2476-3683

Research Paper

In Vitro Evaluation of Antibacterial Effects of Aqueous and Alcoholic Extracts of *Echinops dichorus L.* on *Escherichia coli*

Mahsa Salmanian[1], Arezoo Ghadi[2*] and Mazyar Sharifzadeh Baei[3]

[1]PhD Scholar, Department of Chemical Engineering, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University
[2]Assist. Professor, Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran
[3]Assoc. Professor, Department of Chemical Engineering, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran

Article information

Received: April 06, 2022
Revised: July 25, 2022
Accepted: July 26, 2022

Keywords:
Antibiotic
Antimicrobial
Echinops dichorus L.
Escherichia coli
Medicine Resistance

*Corresponding author:
a.ghadi@iauamol.ac.ir

Abstract

The use of antibiotics as major drugs in infectious diseases has always been associated with two problems of side effects and drug resistance. The compounds found in various plants have been used as a treatment method since the past until today because medicinal plants possess side effects compared to other drugs. Given that different species of *Echinops dichorus L.* plant have indicated good antimicrobial effects, in this study antimicrobial effects of ethanol and aqueous extracts of *Echinops dichorus L.* plant have been investigated by disk diffusion method and determining the minimum inhibitory concentration (MIC) on the 24-hr culture of Escherichia coli (E. coli) standard strain. Echinops dichorus L. plant was dried after collection and its ethanol and aqueous extracts of were prepared by maceration method. Afterward, the concentrated and dried samples were stored in clean containers under standard conditions for further tests. The antibacterial effect of different concentrations of the extracts was determined by agar diffusion and compared with penicillin, gentamicin, and tetracycline antibiotics. Ethanol and aqueous extracts possessed a MIC of 31.25 µg/ml (diameter of the bacterial growth inhibition (halo): 12 mm) and 125 µg/ml (diameter of the bacterial growth inhibition (halo): 10 mm), respectively, as anti-microbial effect against E. coli.

© Authors, Published by **Environment and Water Engineering** journal. This is an open-access article distributed under the CC BY (license http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

Introduction

Antibiotics are one of the great advances in medicine; however, overprescribing them can be led to resistant bacteria. Indeed, the use of antibiotics as major drugs in infectious diseases has always been associated with two problems of side effects and drug resistance. Moreover, the rapid emergence of resistant bacteria can decrease the efficacy of antibiotics, so many decades after the first patients were treated with antibiotics, bacterial infections have again become a threat. In this regard, the lack of new drugs development in the pharmaceutical industries due to decrease economic incentives, as well as challenges in regulatory requirements

have led to fueling these problems, although, in the past until today; the use of medicinal plants has been the focus of many researchers and possess special importance around the world to treat the different diseases. Hence, many studies have been carried out on different plants, and their antibacterial effects have been evaluated. The reports have shown that the compounds found in various plants have been used as a treatment method since the past until today because medicinal plants possess fewer side effects than other drugs. In this field, the secondary metabolisms existent in the plants have an important role in the treatment of diseases. Given that different species of *Echinops dichorus L.* plant have indicated good antimicrobial and anti-inflammation effects, in this study antimicrobial effects of ethanol and aqueous extracts of *Echinops dichorus L.* plant have been investigated by disk diffusion method and determining the minimum inhibitory concentration (MIC) on the 24-hr culture of Escherichia coli (E. coli) standard strain.

Material and Methods

The desired plant was collected from an herbal shop located in Babol City. Harvesting and collecting the aerial parts of the plant containing high sugar is done in August at an altitude of 450 meters in the city of Babol. It is caused by the activity of a inspect species on the Tighal sugar plant. The herbal samples were collected in the middle of autumn, washed in water, and dried by air, for 3-4 days (25 °C). Afterward, the samples were powdered and 25 g of powdered plant were added to 500 ml of ethanol and water, separately; and were stirred at 100 rpm, at 25 °C and 65° C, respectively, for 48 h. After that, the mixture of plant and solvents was filtered by 0.4 micron Whatman filter paper. The extracts were concentrated by a rotary device at 35 ºC and 55 ºC respectively for alcohol and water were stirred at 100 rpm and were placed in sterilized glass plates in the open air and exposed to air, free away from environmental dust. Finally, they completely lost their solvent and dried.

Results

The results showed that the aqueous extract of the *Echinops dichorus L.* plant can only inhibit bacterial growth at a high concentration. No anti-bacterial effect was observed in the 1.5 mg/ml concentration of its aqueous extract. While, the 1 mg/ml concentration showed the diameter of the bacterial growth inhibition (halo) of 10 mm, Table 1 and Fig. 1. Notably, the penicillin antibiotic disk could not suitably inhibit E. coli growth due to high drug resistance of E. coli against penicillin antibiotic. However, tetracycline and gentamicin antibiotics showed a diameter of bacterial growth inhibition (halo) of 17 and 25 mm, respectively.

Table 1 The diameter mean of E. coli growth inhibition (halo), against aqueous extract and penicillin, gentamicin, and tetracycline antibiotics

1 mg/ml concentration of aqueous extract of *Echinops dichorus L.* plant on E. coli			
aqueous extract	penicillin	gentamicin	tetracycline
9 mm	-	-	-
9 mm	-	25 mm	-
10 mm	-	-	18 mm

Fig. 1 The effect of aqueous extract of *Echinops dichorus L.* plant on E. coli, based on the bacterial growth inhibition (halo) on the disk containing extract and antibiotics

The ethanol extract of *Echinops dichorus L.* plant illustrated anti-bacterial effect in 0.5 mg/ml concentration, so that, the 1 mg/ml and 0.5 mg/ml concentrations of this extract showed the

diameter of the bacterial growth inhibition (halo) of 12 mm and 8 mm, respectively (Table 2, Fig.2). The results also showed that the penicillin antibiotic could not suitably inhibit E. coli growth that can be due to drug resistance of E. coli, against penicillin antibiotic, as well as, anti-bacterial properties of the ethanol extract than penicillin. Tetracycline and gentamicin antibiotics also showed the diameter of the bacterial growth inhibition (halo) of 19 mm and 26 mm (in 1 mg/ml concentration), and 25 mm and 18 mm (in 0.5 mg/ml concentration), respectively.

Table 2 The diameter mean of E. coli. Growth Inhibition (halo), against ethanol extract (0.5 mg/ml and 1 mg/ml) and penicillin, gentamicin, and tetracycline antibiotics

1 mg/ml concentration of ethanol extract of *Echinops dichorus L.* plant on *E. coli*			
ethanol extract	penicillin	gentamicin	tetracycline
12 mm	-		
12 mm		26 mm	
10 mm			19 mm
0.5 mg/ml concentration of ethanol extract of *Echinops dichorus L.* plant on *E. coli*			
ethanol extract	penicillin	gentamicin	tetracycline
8 mm	-		
8 mm		25 mm	
8 mm			8 mm

Fig. 2 The effect of ethanol extract of *Echinops dichorus L.* plant on *E. coli*, based on the bacterial growth inhibition (halo) on the disk containing extract and antibiotics

Conclusions

Screening, identification, and isolation of the active compounds of plants can help investigate their antimicrobial effects. In general, the sugarcane plant can be used as an antimicrobial agent; Especially for countries like Iran, where this plant is native to its regions and can be a suitable candidate for pharmaceutical industries. The results of this research can be stated as follows:

1. Both aqueous and alcoholic extracts of *Echinops dichorus L.* were effective on Escherichia coli.

2. The effect of alcoholic and aqueous extracts showed that at the lowest concentration, they cause sensitivity in *E. coli* and they were much more effective than selected antibiotics.

3. The antibacterial compounds present in the alcoholic (ethanolic) extract of *Echinops dichorus L.* have the ability and effectiveness to be used together with antibiotic regimens.

4. The used plant has an acceptable potential for medicinal use against diseases caused by Gram-negative bacteria.

Data Availability

The data used in this research are presented in the text of the article.

Conflicts of interest

The authors of this paper declared no conflict of interest regarding the authorship or publication of this article.

دوره ۹، شماره ۴، صفحات: ۴۳۷-۴۴۸
DOI: 10.22034/ewe.2022.336375.1761

محیط‌زیست و مهندسی آب

Homepage: www.jewe.ir

ISSN: 2476-3683

مقاله پژوهشی

بررسی اثرات ضدباکتریایی عصاره‌های آبی و الکلی گیاه *شکرتیغال* (*Echinops dichorus L.*) بر سویه *اشرشیا کلی* در شرایط آزمایشگاهی

مهسا سلمانیان[۱]، آرزو قادی[۲*] و مازیار شریف زاده بایی[۳]

[۱]دانشجو دکتری، گروه مهندسی شیمی،دانشکده مهندسی شیمی، واحد آیت الله آملی،دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران

[۲]استادیار، گروه مهندسی شیمی،دانشکده مهندسی شیمی، واحد آیت الله آملی،دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران

[۳] دانشیار، گروه مهندسی شیمی،دانشکده مهندسی شیمی، واحد آیت الله آملی،دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران

چکیده

استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها به‌عنوان داروی عمده در بیماری‌های عفونی همیشه با دو مشکل اساسی عوارض جانبی و ایجاد مقاومت دارویی همراه است. ترکیبات موجود در گیاهان مختلف از گذشته تا امروز به‌عنوان درمان مورداستفاده قرارگرفته‌اند؛ زیرا گیاهان دارویی در مقایسه با سایر داروها، دارای عوارض جانبی کمتری هستند. ازآنجاکه گونه‌های مختلف گیاه *شکرتیغال* اثرات ضد میکروبی خوبی از خود نشان داده‌اند، در این پژوهش اثرات ضدمیکروبی عصاره اتانولی و آبی گیاه *شکرتیغال* با روش دیسک دیفیوژن و تعیین حداقل غلظت بازدارندگی بر روی کشت ۲۴ hr سویه استاندارد *اشرشیا کلی* بررسی شد. گیاه *شکرتیغال* پس از جمع‌آوری، خشک شده و عصاره‌های اتانولی و آبی با روش ماسراسیون تهیه شد. فراکسیون‌ها پس از تغلیظ و خشک شدن در ظروف تمیز و شرایط استاندارد تا زمان استفاده نگهداری شدند. تعیین اثر ضد باکتریایی غلظت‌های مختلف عصاره به روش انتشار در آگار انجام و با آنتی‌بیوتیک‌های *پنی‌سیلین*، *جنتامایسین* و *تتراسایکلین* مقایسه شد. عصاره اتانولی و آبی به ترتیب توانستند در MIC = ۳۱/۲۵ µg/ml (۱۲ mm قطر عدم رشد هاله) و MIC = ۱۲۵ µg/ml (۱۰ mm قطر عدم رشد هاله) اثر ضدمیکروبی قابل قبولی علیه *اشرشیا کلی* از خود نشان دهند.

اطلاعات مقاله

تاریخ دریافت: [۱۴۰۱/۰۱/۱۷]

تاریخ بازنگری: [۱۴۰۱/۰۵/۰۳]

تاریخ پذیرش: [۱۴۰۱/۰۵/۰۴]

واژه‌های کلیدی:

آنتی‌بیوتیک

سویه اشرشیا کلی

شکرتیغال

ضدمیکروبی

مقاومت دارویی

***نویسنده مسئول:**

a.ghadi@iauamol.ac.ir

۱- مقدمه

امروزه درمان بیماری‌ها بیشتر از طریق مصرف داروهایی صورت می‌گیرد که منشأ صناعی داشته و اختصاصاً در آزمایشگاه‌ها تهیه می‌شوند؛ عوارض جانبی بسیاری از آنها ثابت شده و مصرف اکثر آنها به بدن زیان می‌رساند (Gonelimali et al. 2015). در اوایل قرن حاضر پیشرفت علم شیمی و کشف سیستم‌های پیچیده سنتز ارگانیک منجر به توسعه صنعت داروسازی و جایگزینی شیمی درمانی شد (Chugh et al. 2018). بدین طریق پزشکی مدرن توانست

بسیاری از بیماری‌های غیرقابل علاج و غالباً مرگ‌آور را درمان کند. باوجود این گیاهان دارویی و داروهایی که از آنها تهیه می‌شدند، هرگز به طور کامل کنار گذاشته نشدند (Wikler et al. 2006). یکی از مشکلات کنونی درمان عفونت‌های باکتریایی افزایش مقاومت آنها به آنتی‌بیوتیک‌ها می‌باشد. باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک باعث مرگ‌ومیر قابل توجهی در مقایسه با باکتری‌های غیرمقاوم می‌شوند. از بین باکتری‌های گرم منفی مقاوم به آنتی‌بیوتیک که ایجاد عفونت‌های بیمارستانی[1] می‌کنند، می‌توان به گونه‌های *انتروباکتریاسه*، *سودوموناس*، *اسینتوباکتر* و از بین باکتری-های گرم مثبت می‌توان به گونه‌های *استافیلوکوک*، *استرپتوکوک* و *انتروکوک* اشاره کرد (Gupta et al. 2017). گیاه دارویی دارای مواد مؤثره‌ای می‌باشد که برای مداوای برخی بیمارها مورد استفاده قرار می‌گیرد، که این مواد در قسمت‌های مختلف گیاه ممکن است تشکیل شود (Das et al. 2010). قدمت شناخت خواص دارویی گیاهان به دوران قبل از تاریخ برمی‌گردد و دقیقاً مشخص نیست که گیاهان از چه زمانی به‌عنوان دارو مورد استفاده بشر قرار گرفته‌اند. هزاران سال است که بشر از گیاهان به‌عنوان منابع مطمئن و کارآمد برای درمان بیماری‌ها استفاده می‌کند (Parasuraman et al 2018). تعدادی از مهم‌ترین داروهای با ارزش ضدسرطان *مانند پاکلی‌تاکسل* و *وینبلاستین* منحصراً از منابع گیاهی به دست آمده‌اند (Mohammadi et al. 2019). *شکرتیغال* (*Echinops dichorus L.*) از خانواده آفتابگردان (*Asteraceae*) بوده و تاکنون ۱۲۰ گونه از شکر تیغال در سراسر جهان گزارش شده است. بر اساس فلور ایرانیکا، ۵۴ گونه شکر تیغال در نقاط مختلف ایران پراکنش دارد. گونه‌های این جنس به‌صورت خودرو در بسیاری از نقاط ایران از جمله ارومیه، تفرش، تبریز، خرم آباد، اطراف تهران، فارس، همدان و غیره می‌روید. شکر تیغال از گیاهان دارویی با ارزش می‌باشد که از قدیم‌الایام از بعضی گونه‌های آن برای مداوای بیماری‌های پوستی، بند آوردن خون، درمان آبسه، جوش و دمل، رفع التهاب حفرات بینی، درمان تشنج، سرماخوردگی و چشم درد استفاده شده است (Van Vuuren et al. 2008).

سویه‌های *انتروتوکسیژنیک* باکتری *اشرشیا کلی* دو نوع سم شامل توکسین حساس به حرارت و توکسین مقاوم به حرارت تولید می‌کنند. انتروتوکسین حساس به حرارت این باکتری، دارای فعالیت آنزیمی مشابه با سم عامل بیماری وبا یا *ویبریو کلرا* می‌باشد، در حالیکه انتروتوکسین مقاوم به حرارت باکتری *اشرشیا کلی* چنین فعالیت آنزیمی ندارد. سندرم *گاستروآنتریت* ناشی از باکتری *اشرشیا کلی* هنگامی ایجاد می‌شود که حداقل ۱۰ عدد از سلول‌های زنده باکتری از طریق لوله گوارش وارد بدن شده، در روده کوچک تجمع نموده و تولید انتروتوکسین نمایند (Pal et al. 2007). دوره بیماری مسمومیت غذایی ناشی از باکتری *اشرشیا کلی* به‌طور متوسط d ۲ می‌باشد. نشانه‌های بیماری شامل: اسهال، تب و تهوع است. این نشانه‌ها گاهی همراه با دل‌پیچه، دردهای عضلانی شکم، لرزه، استفراغ، دردهای متفرقه و سردرد می-باشد (Mukherjee et al. 2008). از آنجا که تشخیص سریع باکتری‌های *اشرشیا کلی* و کُلی‌فرم‌ها[2] روز به روز اهمیت بیش‌تری پیدا می‌کرد، دانشمندان درصدد آن برآمدند تا با سرعت بیشتری بتوان به تشخیص قطعی این باکتری دسترسی پیدا کرد. یک روش تشخیص سریع این باکتری، آزمایش بررسی آنزیم *گلوکورونیداز* می‌باشد (Khan et al. 2005). یکی از مکانیسم‌هایی که منجر به مقاومت باکتری در برابر آنتی‌بیوتیک می‌شود، قابلیت تولید آنزیم است. ساده-ترین مکانیسم آن تولید آنزیم *پنی‌سلیناز* است که باعث هیدرولیز یا از بین بردن آنتی‌بیوتیک *پنی‌سیلین* می‌شود. باکتری‌هایی که دچار جهش ژنتیکی شده‌اند، به‌محض قرار گرفتن در برابر *پنی‌سیلین* تولید آنزیم می‌کنند (Amin et al. 2012).

مطالعات صورت گرفته در این زمینه بسیار محدود است و انجام این پروژه دیدگاه و اطلاعات مفیدی برای شکل‌گیری بررسی‌های هدفمند را در اختیار می‌گذارد. لذا، .هدف از انجام این پژوهش، بررسی غلظت های مختلف عصاره‌های آبی و الکلی (اتانولی) *شکرتیغال* بر سویه *اشرشیا کلی* و بررسی حساسیت آنتی بیوتیک ها در شرایط آزمایشگاهی بود.

۲- مواد و روش‌ها

ابتدا گیاه مورد نظر از یک عطاری واقع در شهرستان بابل جمع‌آوری شد. برداشت و جمع‌آوری اندام هوایی گیاه حاوی مان شکر تیغال در مرداد ماه در ارتفاعات ۴۵۰ متری شهر بابل انجام می‌پذیرد. مان در اثر فعالیت یک گونه حشره

[1] Infections Nosocomial

[2] Coliforms

سرخرطومی بر روی گیاه شکر تیغال به وجود می‌آید. نمونه‌های گیاهی توسط آب مقطر استریل شستشو و سپس داخل پارچه سفیدرنگ تمیزی به مدت d ۲-۴ در دمای محیط، در سایه و دور از نور و رطوبت خشک شد. در انتها توسط آسیاب برقی کاملا پودر شده و در ظرف‌های شیشه‌ای تیره‌رنگ و در بسته و مقاوم در برابر نور و رطوبت نگهداری شدند. پس از اینکه گیاه مورد نیاز خشک شد و بافت‌های گیاهی به شکل پودر درآمد، g ۲۵ از پودر گیاه را در cc ۵۰۰ به‌صورت جداگانه در حلال‌های آب مقطر و اتانول اضافه شدند و طی دو مرحله‌ی دمایی مختلف (برای حلال اتانول ۲۵ ^{o}C و برای حلال آب ۶۵ ^{o}C) در انکوباتور شیکردار با دور ۱۰۰rpm به مدت hr ۴۸ قرار داده شدند. بعد از گذشت این زمان مخلوط گیاه و حلال‌ها را توسط گاز استریل و کاغذ صافی واتمن µ ۰/۴ صاف شدند. پس از جمع‌آوری عصاره‌ها آنها را توسط دستگاه Rotary در دمای ۳۵ ^{o}C برای الکل و دمای ۵۵ ^{o}C برای آب و دور ۱۰۰rpm تغلیظ کرده و با قرار دادن عصاره تغلیظ شده در پلیت‌های شیشه‌ای استریل شده در هوای آزاد و به دور از گرد و خاک‌های محیطی، کاملا حلال خود را از دست داده و خشک شدند (Hymete et al. 2007).

۲-۱- تهیه محیط کشت

۲-۱-۱- محیط کشت مولر هینتون آگار

این محیط، یک محیط انتخابی برای آزمون بیوگرام اکثر باکتری‌ها می‌باشد. pH مناسب برای این محیط ۲٪ ± ۷.۹ می‌باشد. مطابق با دستور تهیه محیط مولر هینتون آگار که بر روی برچسب آن ذکر گردیده است باید g ۳۴ آن را در l ۱ آب مقطر حل کرد. ارلن مایر حاوی این محتویات، باید روی شعله گاز حرارت داده تا محیط کشت کاملا در آب مقطر حل شود. هر چند وقت یک‌بار با میله شیشه‌ای این خطوط را باید به هم زد تا از ته‌نشین شدن محیط جلوگیری شود. زمانی که یک محلول زلال، شفاف و زردرنگی به دست آمد که فاقد ذرات پراکنده باشد، ارلن مایر را از روی حرارت برداشته و در آن را با پنبه بسته و در اتوکلاو قرار داده تا به مدت ۱۵ دقیقه در فشار PSI ۱۵ و درجه حرارت ^{o}C ۱۲۱ استریل شود. میز کار را کاملا ضدعفونی کرده و پس از اینکه دمای محیط کشت به دمای محیط رسید، به کمک پیپت یک‌بار مصرف مقدار ml ۱۳ از محیط را در پلیت‌های یک‌بار مصرف cm ۸ ریخته شدند. پس از مدت‌زمان کمی محیط کشت داخل پلیت‌ها سرد و سفت می‌شود و می‌توان در پلیت‌ها را بست و در یخچال نگهداری کرد.

۲-۱-۲- محیط کشت نوترینت

مطابق با دستور تهیه محیط مولر هینتون آگار (مرک آلمان) که بر روی برچسب آن ذکر گردیده است باید gr ۲۰ آن را در L ۱ آب مقطر حل کرد. ارلن مایر حاوی این محتویات، باید روی شعله گاز حرارت داده شده تا محیط کشت کاملا در آب مقطر حل شود. هر چند دقیقه یک‌بار با میله شیشه‌ای این محتویات را باید به هم زد تا از ته‌نشین شدن محیط جلوگیری شود. زمانی که یک محلول زلال، شفاف و زردرنگ به دست آمد که فاقد ذرات پراکنده باشد، ارلن مایر را از روی حرارت برداشته و در آن را با پنبه بسته و در اتوکلاو قرار داده تا به مدت ۱۵ دقیقه در فشار PSI ۱۵ و درجه حرارت ^{o}C ۱۲۱ استریل شود. میز کار را کاملا ضدعفونی کرده و پس از اینکه دمای محیط کشت به دمای محیط رسید، به کمک پیپت یک‌بار مصرف مقدار ml ۱۳ از محیط را در پلیت‌های یک‌بار مصرف cm ۸ ریخته شدند. پس از مدت زمان کمی محیط کشت داخل پلیت‌ها سرد و سفت می‌شود و می‌توان در پلیت‌ها را بست و در یخچال نگهداری کرد. در انجام آزمون‌های باکتری *اشرشیا کلی*، روش ماکرودایلوشن (رقت لوله‌ای) جهت تعیین حداقل غلظت کشندگی (MBC) و حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) بکار رفت. حداقل غلظت بازدارندگی، حداقل غلظتی از یک عصاره است که می‌تواند از رشد باکتری در شرایط آزمایشگاهی جلوگیری کند. در این روش از ۱۳ لوله استفاده شد که لوله اول شامل cc ۲ محیط کشت براث و باقی لوله‌ها cc ۱ از محیط کشت براث را دارا بودند. لوله‌های ۱۲ و ۱۳ نیز به‌عنوان کنترل مثبت و کنترل منفی تلقی گردید. کنترل مثبت شامل باکتری *اشرشیا کلی* PTCC 1330T و محیط کشت و کنترل منفی شامل عصاره و محیط کشت بوده است. در واقع مقدار mg ۱۰۰۰ عصاره در لوله اول ریخته شد و بعد از پیپتینگ cc ۱ از آن، به‌ترتیب در سایر لوله‌ها اضافه گردید. در ادامه کار، cc ۱ از سوسپانسیون میکروبی به هر کدام از لوله‌ها اضافه شده و ۲۴ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷ ^{o}C قرار گرفت. برای تنظیم غلظت سوسپانسیون میکروبی، مقداری از سوسپانسیون در لوله آزمایش حاوی محلول ریخته شد و کدورت آن توسط اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد تا هنگام برابر شدن کدورت محلول با کدورت

۰٫۵ محلول استاندارد مک فارلند، توسط محلول رقیق‌سازی شد. سوسپانسیون تولیدی باید حاوی 1.5×10^8 CFU/ml باشد (Valero et al. 2003).

۳- یافته‌ها و بحث

موارد استفاده از گیاهان دارویی برای تجویز درمان بیماری‌ها از گذشته معمول بوده و بشر از اثرات مفید گیاهان و همچنین تنوع آن برای درمان استفاده می‌کرده است. با توجه به پیشرفت علمی و تحولات اجتماعی از جمله زندگی شهری به‌تدریج از مصرف گیاهان دارویی کاسته شده و داروهای شیمیایی که براساس نوع عامل بیماری به‌وجود آمده است، به نسبت زیادی جایگزین گیاهان دارویی شده‌اند. با مصرف این داروها عوارض جانبی و مشکلاتی از قبیل ایجاد مقاومت دارویی در میکروارگانیسم‌ها و کاهش اثر دارویی در اثر مصرف طولانی ایجاد شده است. گیاه مورد مطالعه در این پژوهش در آزمایش‌هایی گسترده و مختلف خاصیت‌های درمانی مفیدی از خود نشان داده است (Falah et al. 2021). لذا در این پژوهش گزارش‌های علمی مهم انجام گرفته در زمینه گیاه *شکرتیغال* مورد بحث قرار گرفت تا با آگاهی از مطالعات گذشته، چگونگی اثرات فیزیولوژیک و فارماکولوژیک این گیاه بررسی شود.

۳-۱- اثرات ضدمیکروبی عصاره آبی *شکرتیغال*

۳-۱-۱- انتشار دیسک آگار

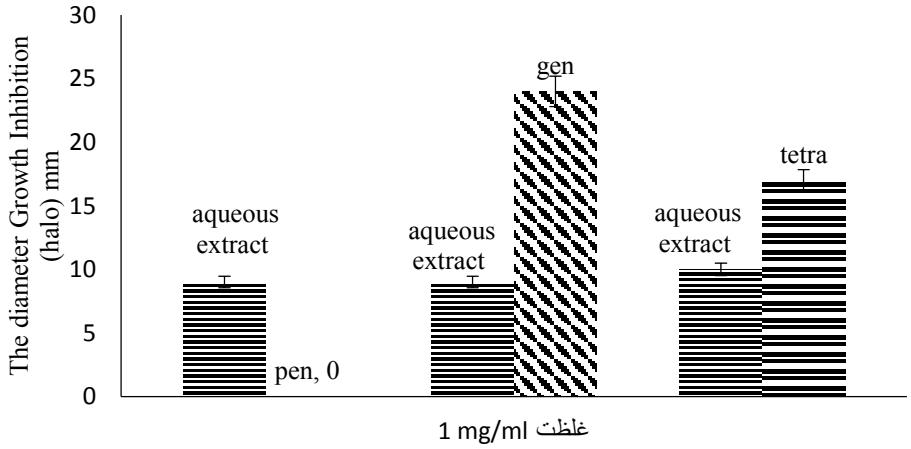
نتایج حاصل از بررسی اثر ضد میکروبی عصاره آبی در جدول (۱) آورده شده است. این نتایج نشان می‌دهد که عصاره آبی *شکرتیغال* فقط در غلظت بالا از رشد باکتری *اشرشیا کلی* ممانعت نموده است. به‌گونه‌ای که در غلظت ۱/۵ mg/ml از عصاره، هیچ اثر ضدباکتریایی بر باکتری وجود نداشت.

جدول ۱- میانگین قطر هاله عدم رشد باکتری *اشرشیا کلی* در حضور عصاره آبی و آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین، تتراسایکلین و پنی-سیلین

Table 1 The diameter mean of E. coli growth inhibition (halo), against aqueous extract and penicillin, gentamicin, and tetracycline antibiotics

1 mg/ml concentration of aqueous extract of Echinops dichorus L. plant on E. coli			
aqueous extract	penicillin	gentamicin	tetracycline
9 mm	-	-	-
9 mm	-	25 mm	-
10 mm	-	-	18 mm

با توجه به شکل (۱) و (۲) عصاره آبی در غلظت ۱ mg/ml توانست قطر هاله عدم رشد به‌اندازه ۱۰ mm را از خود نشان دهد؛ در صورتیکه دیسک آنتی‌بیوتیک *پنی‌سیلین* نتوانست از خود حساسیتی بر روی باکتری *اشرشیا کلی* به نمایش بگذارد که نشان از مقاومت بالای باکتری *اشرشیا کلی* مقابل *پنی‌سیلین* بود؛ اما آنتی‌بیوتیک‌های *تتراسایکلین* و *جنتامایسین* به‌ترتیب توانستند حساسیتی به‌اندازه قطر هاله عدم رشد ۱۷ و ۲۵ mm را از خود نشان دهند.



شکل ۱- مقایسه آماری اثر عصاره آبی گیاه شکرتیغال بر باکتری اشرشیا کلی با غلظت ۱ mg/ml

Fig. 1 Statistical comparison of the effect of aqueous extract of *Echinops dichorus L.* on E. coli bacteria with a concentration of 1 mg/ml

شکل ۲- تصاویر تأثیر عصاره آبی شکرتیغال بر اشرشیا کلی بر اساس هاله عدم رشد در اطراف دیسک‌های آغشته به عصاره و دیسک‌های آنتی‌بیوتیک

Fig. 2 The effect of aqueous extract of *Echinops dichorus L.* plant on *E. coli*, based on the bacterial growth inhibition (halo) on the disk containing extract and antibiotics

نتایج حاصل از بررسی اثر ضد میکروبی عصاره الکی در جدول (۲) نشان می دهد عصاره اتانولی *شکرتیغال* بر خلاف عصاره آبی توانست در غلظت ۰/۵ mg/ml بر روی باکتری *اشرشیا کلی* اثر مثبت بگذارد. نتایج بیانگر عملکرد مناسب‌تر ضد میکروبی عصاره اتانولی می‌باشد زیرا عصاره‌های تهیه شده با حلال‌های آلی، اثر ضدمیکروبی پایدارتر و بیش‌تری دارند. اغلب ترکیبات فعال ضدمیکروبی شناخته شده، در آب نامحلول هستند بنابراین عصاره‌های حاصل از حلال‌های آلی برای استخراج ترکیبات ضدمیکروبی توانمندی بیش‌تری دارند که با نتایج پژوهش Mohebat and Bidoki (2018) مطابقت دارد.

جدول ۲- میانگین قطر هاله عدم رشد باکتری *اشرشیا کلی* در حضور عصاره اتانولی با رقت ۱ mg/ml و ۰/۵ mg/ml و آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین، تتراسایکلین و پنی‌سیلین

Table 2 The diameter mean of *E. coli*. growth inhibition (halo), against ethanol extract (0.5 mg/ml and 1 mg/ml) and penicillin, gentamicin, and tetracycline antibiotics

1 mg/ml concentration of ethanol extract of *Echinops dichorus L.* plant on *E. coli*			
ethanol extract	penicillin	gentamicin	tetracycline
12 mm	-		
12 mm		26 mm	
10 mm			19 mm
0.5 mg/ml concentration of ethanol extract of *Echinops dichorus L.* plant on *E. coli*			
ethanol extract	penicillin	gentamicin	tetracycline
8 mm	-		
8 mm		25 mm	
8 mm			8 mm

با توجه به شکل (۳)، (۴) و (۵) عصاره اتانولی *شکرتیغال* در غلظت ۱ و ۰/۵ mg/ml به‌ترتیب قطر هاله عدم رشد به‌اندازه ۱۲ mm و ۸ mm را از خود نشان داد. در این قسمت نیز آنتی‌بیوتیک *پنی‌سیلین* نتوانست اثر مثبتی از خود در مقابل باکتری نشان دهد که نشان از قوی بودن عصاره مورد مطالعه نسبت به *پنی‌سیلین* بود؛ اما آنتی‌بیوتیک‌های *تتراسایکلین* و *جنتامایسین* مطابق شکل (۵) توانستند به‌ترتیب قطر هاله عدم رشد به‌اندازه ۱۹ mm و ۲۶ mm در غلظت mg/ml ۱ و قطر هاله عدم رشد ۱۸ mm و ۲۵ mm در غلظت ۰/۵ mg/ml از خود به نمایش بگذارند.

سرخرطومی بر روی گیاه شکر تیغال به وجود می‌آید. نمونه‌های گیاهی توسط آب مقطر استریل شستشو و سپس داخل پارچه سفیدرنگ تمیزی به مدت d ۲-۴ در دمای محیط، در سایه و دور از نور و رطوبت خشک شد. در انتها توسط آسیاب برقی کاملا پودر شده و در ظرف‌های شیشه‌ای تیره‌رنگ و در بسته و مقاوم در برابر نور و رطوبت نگهداری شدند. پس از اینکه گیاه مورد نیاز خشک شد و بافت‌های گیاهی به شکل پودر درآمد، g ۲۵ از پودر گیاه را در cc ۵۰۰ به‌صورت جداگانه در حلال‌های آب مقطر و اتانول اضافه شدند و طی دو مرحله‌ی دمایی مختلف (برای حلال اتانول ۲۵ ^{o}C و برای حلال آب ۶۵ ^{o}C) در انکوباتور شیکردار با دور ۱۰۰rpm به مدت hr ۴۸ قرار داده شدند. بعد از گذشت این زمان مخلوط گیاه و حلال‌ها را توسط گاز استریل و کاغذ صافی واتمن µ ۰/۴ صاف شدند. پس از جمع‌آوری عصاره‌ها آنها را توسط دستگاه Rotary در دمای ۳۵ ^{o}C برای الکل و دمای ۵۵ ^{o}C برای آب و دور ۱۰۰rpm تغلیظ کرده و با قرار دادن عصاره تغلیظ شده در پلیت‌های شیشه‌ای استریل شده در هوای آزاد و به دور از گرد و خاک‌های محیطی، کاملا حلال خود را از دست داده و خشک شدند (Hymete et al. 2007).

۲-۱- تهیه محیط کشت

۲-۱-۱- محیط کشت مولر هینتون آگار

این محیط، یک محیط انتخابی برای آزمون بیوگرام اکثر باکتری‌ها می‌باشد. pH مناسب برای این محیط ۲٪ ± ۷.۹ می‌باشد. مطابق با دستور تهیه محیط مولر هینتون آگار که بر روی برچسب آن ذکر گردیده است باید g ۳۴ آن را در l ۱ آب مقطر حل کرد. ارلن مایر حاوی این محتویات، باید روی شعله گاز حرارت داده تا محیط کشت کاملا در آب مقطر حل شود. هر چند وقت یک‌بار با میله شیشه‌ای این خطوط را باید به هم زد تا از ته‌نشین شدن محیط جلوگیری شود. زمانی که یک محلول زلال، شفاف و زردرنگی به دست آمد که فاقد ذرات پراکنده باشد، ارلن مایر را از روی حرارت برداشته و در آن را با پنبه بسته و در اتوکلاو قرار داده تا به مدت ۱۵ دقیقه در فشار PSI ۱۵ و درجه حرارت ^{o}C ۱۲۱ استریل شود. میز کار را کاملا ضدعفونی کرده و پس از اینکه دمای محیط کشت به دمای محیط رسید، به کمک پیپت یک‌بار مصرف مقدار ml ۱۳ از محیط را در پلیت‌های یک‌بار مصرف cm ۸ ریخته شدند. پس از مدت‌زمان کمی محیط کشت داخل پلیت‌ها سرد و سفت می‌شود و می‌توان در پلیت‌ها را بست و در یخچال نگهداری کرد.

۲-۱-۲- محیط کشت نوترینت

مطابق با دستور تهیه محیط مولر هینتون آگار (مرک آلمان) که بر روی برچسب آن ذکر گردیده است باید gr ۲۰ آن را در L ۱ آب مقطر حل کرد. ارلن مایر حاوی این محتویات، باید روی شعله گاز حرارت داده شده تا محیط کشت کاملا در آب مقطر حل شود. هر چند دقیقه یک‌بار با میله شیشه‌ای این محتویات را باید به هم زد تا از ته‌نشین شدن محیط جلوگیری شود. زمانی که یک محلول زلال، شفاف و زردرنگ به دست آمد که فاقد ذرات پراکنده باشد، ارلن مایر را از روی حرارت برداشته و در آن را با پنبه بسته و در اتوکلاو قرار داده تا به مدت ۱۵ دقیقه در فشار PSI ۱۵ و درجه حرارت ^{o}C ۱۲۱ استریل شود. میز کار را کاملا ضدعفونی کرده و پس از اینکه دمای محیط کشت به دمای محیط رسید، به کمک پیپت یک‌بار مصرف مقدار ml ۱۳ از محیط را در پلیت‌های یک‌بار مصرف cm ۸ ریخته شدند. پس از مدت زمان کمی محیط کشت داخل پلیت‌ها سرد و سفت می‌شود و می‌توان در پلیت‌ها را بست و در یخچال نگهداری کرد. در انجام آزمون‌های باکتری *اشرشیا کلی*، روش ماکرودایلوشن (رقت لوله‌ای) جهت تعیین حداقل غلظت کشندگی (MBC) و حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) بکار رفت. حداقل غلظت بازدارندگی، حداقل غلظتی از یک عصاره است که می‌تواند از رشد باکتری در شرایط آزمایشگاهی جلوگیری کند. در این روش از ۱۳ لوله استفاده شد که لوله اول شامل cc ۲ محیط کشت براث و باقی لوله‌ها cc ۱ از محیط کشت براث را دارا بودند. لوله‌های ۱۲ و ۱۳ نیز به‌عنوان کنترل مثبت و کنترل منفی تلقی گردید. کنترل مثبت شامل باکتری *اشرشیا کلی* PTCC 1330T و محیط کشت و کنترل منفی شامل عصاره و محیط کشت بوده است. در واقع مقدار mg ۱۰۰۰ عصاره در لوله اول ریخته شد و بعد از پیپتینگ cc ۱ از آن، به‌ترتیب در سایر لوله‌ها اضافه گردید. در ادامه کار، cc ۱ از سوسپانسیون میکروبی به هر کدام از لوله‌ها اضافه شده و ۲۴ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷ ^{o}C قرار گرفت. برای تنظیم غلظت سوسپانسیون میکروبی، مقداری از سوسپانسیون در لوله آزمایش حاوی محلول ریخته شد و کدورت آن توسط اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد تا هنگام برابر شدن کدورت محلول با کدورت

۰٫۵ محلول استاندارد مک فارلند، توسط محلول رقیق‌سازی شد. سوسپانسیون تولیدی باید حاوی 1.5×10^8 CFU/ml باشد (Valero et al. 2003).

۳- یافته‌ها و بحث

موارد استفاده از گیاهان دارویی برای تجویز درمان بیماری‌ها از گذشته معمول بوده و بشر از اثرات مفید گیاهان و همچنین تنوع آن برای درمان استفاده می‌کرده است. با توجه به پیشرفت علمی و تحولات اجتماعی از جمله زندگی شهری به‌تدریج از مصرف گیاهان دارویی کاسته شده و داروهای شیمیایی که براساس نوع عامل بیماری به‌وجود آمده است، به نسبت زیادی جایگزین گیاهان دارویی شده‌اند. با مصرف این داروها عوارض جانبی و مشکلاتی از قبیل ایجاد مقاومت دارویی در میکروارگانیسم‌ها و کاهش اثر دارویی در اثر مصرف طولانی ایجاد شده است. گیاه مورد مطالعه در این پژوهش در آزمایش‌هایی گسترده و مختلف خاصیت‌های درمانی مفیدی از خود نشان داده است (Falah et al. 2021). لذا در این پژوهش گزارش‌های علمی مهم انجام گرفته در زمینه گیاه *شکرتیغال* مورد بحث قرار گرفت تا با آگاهی از مطالعات گذشته، چگونگی اثرات فیزیولوژیک و فارماکولوژیک این گیاه بررسی شود.

۳-۱- اثرات ضدمیکروبی عصاره آبی *شکرتیغال*

۳-۱-۱- انتشار دیسک آگار

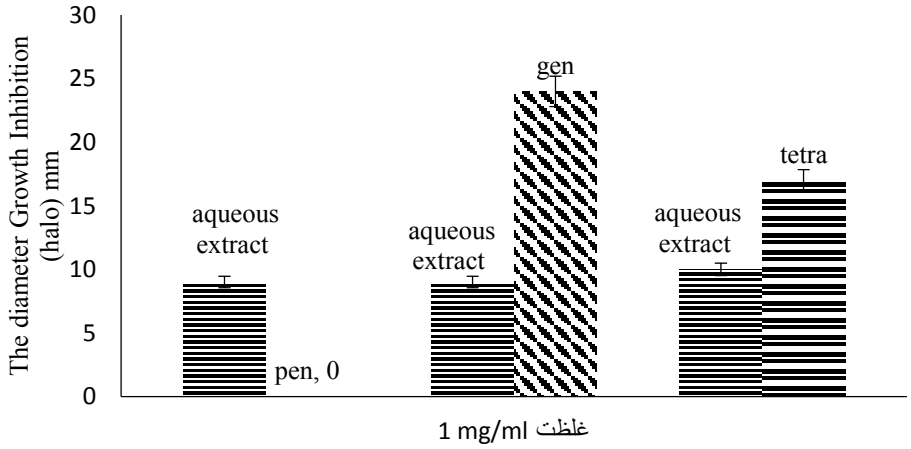
نتایج حاصل از بررسی اثر ضد میکروبی عصاره آبی در جدول (۱) آورده شده است. این نتایج نشان می‌دهد که عصاره آبی *شکرتیغال* فقط در غلظت بالا از رشد باکتری *اشرشیا کلی* ممانعت نموده است. به‌گونه‌ای که در غلظت ۱/۵ mg/ml از عصاره، هیچ اثر ضدباکتریایی بر باکتری وجود نداشت.

جدول ۱- میانگین قطر هاله عدم رشد باکتری *اشرشیا کلی* در حضور عصاره آبی و آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین، تتراسایکلین و پنی-سیلین

Table 1 The diameter mean of E. coli growth inhibition (halo), against aqueous extract and penicillin, gentamicin, and tetracycline antibiotics

1 mg/ml concentration of aqueous extract of Echinops dichorus L. plant on E. coli			
aqueous extract	penicillin	gentamicin	tetracycline
9 mm	-	-	-
9 mm	-	25 mm	-
10 mm	-	-	18 mm

با توجه به شکل (۱) و (۲) عصاره آبی در غلظت ۱ mg/ml توانست قطر هاله عدم رشد به‌اندازه ۱۰ mm را از خود نشان دهد؛ در صورتیکه دیسک آنتی‌بیوتیک *پنی‌سیلین* نتوانست از خود حساسیتی بر روی باکتری *اشرشیا کلی* به نمایش بگذارد که نشان از مقاومت بالای باکتری *اشرشیا کلی* مقابل *پنی‌سیلین* بود؛ اما آنتی‌بیوتیک‌های *تتراسایکلین* و *جنتامایسین* به‌ترتیب توانستند حساسیتی به‌اندازه قطر هاله عدم رشد ۱۷ و ۲۵ mm را از خود نشان دهند.



شکل ۱- مقایسه آماری اثر عصاره آبی گیاه شکرتیغال بر باکتری اشرشیا کلی با غلظت ۱ mg/ml

Fig. 1 Statistical comparison of the effect of aqueous extract of *Echinops dichorus L.* on E. coli bacteria with a concentration of 1 mg/ml

شکل ۲- تصاویر تأثیر عصاره آبی شکرتیغال بر اشرشیا کلی بر اساس هاله عدم رشد در اطراف دیسک‌های آغشته به عصاره و دیسک‌های آنتی‌بیوتیک

Fig. 2 The effect of aqueous extract of *Echinops dichorus L.* plant on *E. coli*, based on the bacterial growth inhibition (halo) on the disk containing extract and antibiotics

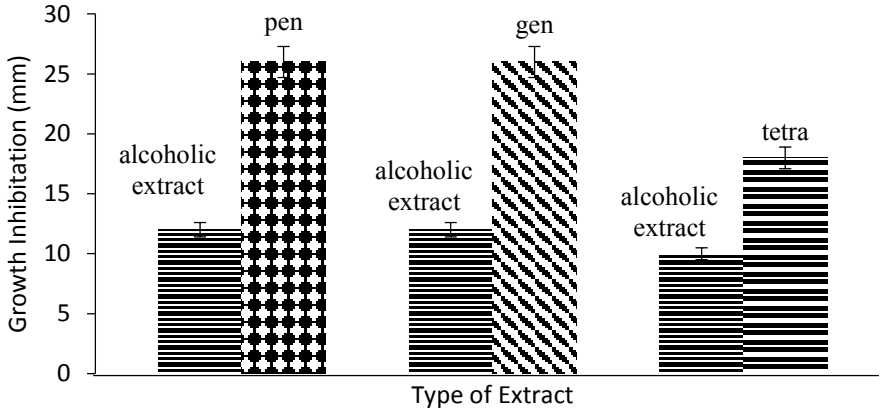
نتایج حاصل از بررسی اثر ضد میکروبی عصاره الکی در جدول (۲) نشان می دهد عصاره اتانولی *شکرتیغال* بر خلاف عصاره آبی توانست در غلظت ۰/۵ mg/ml بر روی باکتری *اشرشیا کلی* اثر مثبت بگذارد. نتایج بیانگر عملکرد مناسب‌تر ضد میکروبی عصاره اتانولی می‌باشد زیرا عصاره‌های تهیه شده با حلال‌های آلی، اثر ضدمیکروبی پایدارتر و بیش‌تری دارند. اغلب ترکیبات فعال ضدمیکروبی شناخته شده، در آب نامحلول هستند بنابراین عصاره‌های حاصل از حلال‌های آلی برای استخراج ترکیبات ضدمیکروبی توانمندی بیش‌تری دارند که با نتایج پژوهش Mohebat and Bidoki (2018) مطابقت دارد.

جدول ۲- میانگین قطر هاله عدم رشد باکتری *اشرشیا کلی* در حضور عصاره اتانولی با رقت ۱ mg/ml و ۰/۵ mg/ml و آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین، تتراسایکلین و پنی‌سیلین

Table 2 The diameter mean of *E. coli*. growth inhibition (halo), against ethanol extract (0.5 mg/ml and 1 mg/ml) and penicillin, gentamicin, and tetracycline antibiotics

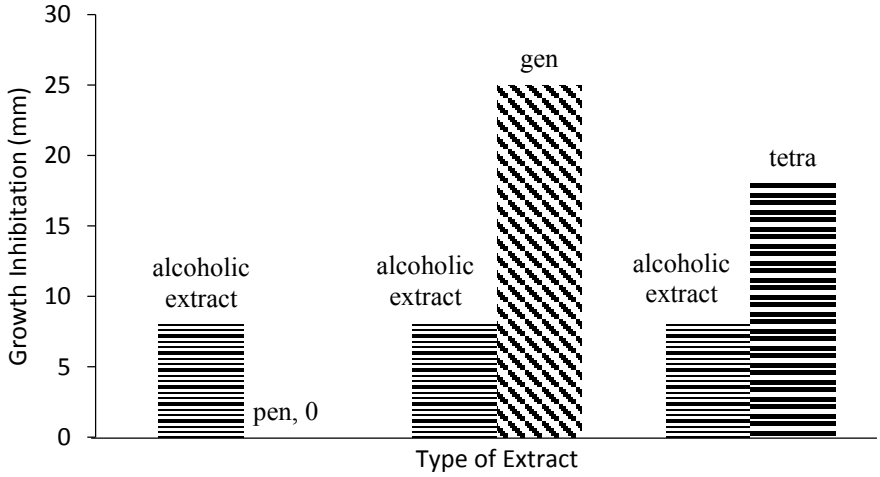
1 mg/ml concentration of ethanol extract of *Echinops dichorus L.* plant on *E. coli*			
ethanol extract	penicillin	gentamicin	tetracycline
12 mm	-		
12 mm		26 mm	
10 mm			19 mm
0.5 mg/ml concentration of ethanol extract of *Echinops dichorus L.* plant on *E. coli*			
ethanol extract	penicillin	gentamicin	tetracycline
8 mm	-		
8 mm		25 mm	
8 mm			8 mm

با توجه به شکل (۳)، (۴) و (۵) عصاره اتانولی *شکرتیغال* در غلظت ۱ و ۰/۵ mg/ml به‌ترتیب قطر هاله عدم رشد به‌اندازه ۱۲ mm و ۸ mm را از خود نشان داد. در این قسمت نیز آنتی‌بیوتیک *پنی‌سیلین* نتوانست اثر مثبتی از خود در مقابل باکتری نشان دهد که نشان از قوی بودن عصاره مورد مطالعه نسبت به *پنی‌سیلین* بود؛ اما آنتی‌بیوتیک‌های *تتراسایکلین* و *جنتامایسین* مطابق شکل (۵) توانستند به‌ترتیب قطر هاله عدم رشد به‌اندازه ۱۹ mm و ۲۶ mm در غلظت mg/ml ۱ و قطر هاله عدم رشد ۱۸ mm و ۲۵ mm در غلظت ۰/۵ mg/ml از خود به نمایش بگذارند.



شکل ۳- مقایسه آماری اثر عصاره الکلی گیاه *شکرتیغال* بر باکتری *اشرشیا کلی* با غلظت ۱ mg/ml

Fig. 3 Statistical comparison of the effect of alcoholic extract of Echinops orientalis Trauv on Escherichia coli bacteria with a concentration of 1 mg/ml



شکل ۴- مقایسه آماری اثر عصاره الکلی گیاه *شکرتیغال* بر باکتری *اشرشیا کلی* با غلظت ۰/۵ mg/ml

Fig. 4 Statistical comparison of the effect of alcoholic extract of *Echinops dichorus L.* on Escherichia coli bacteria with a concentration of 0.5 mg/ml

شکل۵- تأثیر عصاره الکلی *شکرتیغال* بر *اشرشیا کلی* بر اساس هاله عدم رشد در اطراف دیسک‌های آغشته به عصاره و دیسک‌های آنتی-بیوتیک

Fig. 5 The effect of ethanol extract of *Echinops dichorus L.* plant on *E. coli*, based on the bacterial growth inhibition (halo) on the disk containing extract and antibiotics

۳-۱-۲- تعیین حداقل غلظت بازدارندگی عصاره آبی و اتانولی علیه باکتری *اشرشیا کلی*

نتایج به دست آمده از میزان کدورت لوله‌های شماره‌گذاری شده بر اساس غلظت و مطابق شکل‌های (۶) و (۷) نشان می‌دهد که عصاره‌های آبی و اتانولی گیاه *شکرتیغال* می‌توانند از رشد باکتری‌های *اشرشیا کلی* جلوگیری کنند. عصاره آبی گیاه *شکرتیغال* با غلظت ۶۲/۵ µg/ml دارای حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و با غلظت ۱۲۵ µg/ml حداقل غلظت کشندگی (MBC) بر باکتری *اشرشیا کلی* می‌باشد. همچنین عصاره اتانولی آن توانایی مهار باکتری *اشرشیا کلی* در غلظت ۳۱/۲۵ µg/ml و کشندگی باکتری در غلظت ۶۲/۵ µg/ml را دارا می‌باشد. عصاره‌های حاصل از حلال‌های غیرقطبی یا کمتر قطبی بر مهار رشد باکتری‌های گرم منفی موثرتر هستند. این یافته‌ها با قطبیت ترکیبات موجود در عصاره‌ها و توانایی آنها در نفوذ به دیواره سلول‌ها با ویژگی آب‌دوستی (باکتری های گرم مثبت) و ویژگی‌های آب‌گریزی یا چربی-دوستی (باکتری‌های گرم منفی) ارتباط دارد (Mehrabian, 2007).

شکل ۶- کدورت لوله‌های حاوی محیط کشت براث، باکتری *اشرشیا کلی* و عصاره اتانولی بعد از گذشت ۲۴ hr

Fig. 6 Turbidity of tubes containing broth culture medium, Escherichia coli bacteria and ethanol extract after 24 hr

شکل ۷- کدورت لوله‌های حاوی محیط کشت براث، باکتری *اشرشیا کلی* و عصاره آبی بعد از گذشت ۲۴ hr

Fig. 7 Turbidity of tubes containing broth culture medium, Escherichia coli bacteria and aqueous extract after 24 hr

۴- نتیجه‌گیری

غربالگری، شناسایی و جداسازی ترکیبات فعال گیاهان می تواند در بررسی اثرات ضدمیکروبی آنها موثر و کاربردی باشد. به‌طور کلی می‌توان گیاه *شکرتیغال* را به‌عنوان یک عامل ضدمیکروبی مورد استفاده قرار داد؛ به‌ویژه برای کشورهایی مانند ایران که این گیاه بومی مناطق آن است و می‌تواند به-عنوان کاندیدایی مناسب برای صنایع دارویی قرار گیرد.

نتایج این پژوهش را می‌توان به‌صورت زیر بیان نمود.

۱- هر دو عصاره آبی و الکلی گیاه *شکرتیغال*، بر روی باکتری *اشرشیا کلی* تأثیر داشته است.

۲- اثر عصاره‌های اتانولی و آبی نشان دادند که در پایین‌ترین غلظت، باعث بروز حساسیت در *اشرشیا کلی* می‌شوند و بسیار مؤثرتر از آنتی‌بیوتیک‌های انتخابی عمل کردند.

۳- ترکیبات آنتی‌باکتریال موجود در عصاره الکلی (اتانولی) *شکرتیغال*، توانایی و اثرگذاری کافی برای استفاده به‌همراه رژیم‌های حاوی آنتی‌بیوتیک در آینده را دارند.

۴- گیاه مورد استفاده پتانسیل قابل‌قبولی در کاربرد دارویی در مقابل بیماری‌های با منشأ باکتری گرم منفی دارد.

پیشنهادها برای ادامه بررسی‌های مرتبط با پژوهش حاضر، عبارت‌اند از:

- بررسی تأثیر اثرات ضدباکتری گیاه مورد مطالعه در این تحقیق در شرایط برون‌آزمایشگاهی و در بدن موجود زنده

- بررسی تأثیر روش‌های استخراج عصاره‌ها و اسانس‌ها بر میزان مبارزه با باکتری‌ها

- بررسی تأثیر ترکیب چند عصاره بر میزان رشد باکتری‌ها

دسترسی به داده‌ها

داده‌های استفاده شده (یا تولید شده) در این پژوهش در متن مقاله ارائه شده است.

تضاد منافع نویسندگان

نویسندگان این مقاله اعلام می‌دارند که، هیچ‌گونه تضاد منافعی در رابطه با نویسندگی و یا انتشار این مقاله ندارند.

References

Amin, M., Anwar, F., Janjua, M. R. S. A., Iqbal, M. A., & Rashid, U. (2012). Green synthesis of silver nanoparticles through reduction with *Solanum xanthocarpum L.* berry extract: characterization, antimicrobial, and urease inhibitory activities against Helicobacter pylori. *Int. J. Molecul. Sci*., *13*(8), 9923-9941. DOI: 10.3390/ijms13089923

Bitew, H., & Hymete, A. (2019). The Genus Echinops: Phytochemistry and Biological Activities: A Review. *Front. Pharmacol*., *10*, 1234, DOI: 10.3389/fphar.2019.01234

Chugh, N. A., Bali, S., & Koul, A. (2018). Integration of botanicals in contemporary medicine: road blocks, checkpoints and go-ahead signals. *Integr. Med. Res*., *7*(9), 109-125. DOI: 10.1016/j.imr.2018.03.005

Das, K., Tiwari, R. K. S., & Shrivastava, D. K. (2010). Techniques for evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agents: current methods and future trends. *J. Med. Plant Res*., *4*(2), 104-111, DOI: 10.5897/JMPR09.030

Falah, F., Shirani, K., Vasiee, A., Yazdi, F. T., & Behbahani, B. A. (2021). In vitro screening of phytochemicals, antioxidant, antimicrobial, and cytotoxic activity of Echinops setifer extract. *Biocatal. Agri. Biotechnol*., *35*, 102102, DOI: 10.1016/j.bcab.2021.102102

Gonelimali, F. D., Lin, J., Miao, W., Xuan, J., Charles, F., Chen, M., & Hatab, S. R. (2018). Antimicrobial properties and mechanism of action of some plant extracts against food pathogens and spoilage microorganisms. *J. Front. Microbiol*., *9*(50). DOI: 10.3389/fmicb.2018.01639

Gupta, P. D., & Birdi, T. J. (2017). Development of botanicals to combat antibiotic resistance. *J. Ayurveda Integr. Med*., *8*(4), 266-275. DOI: 10.1016/j.jaim.2017.05.004

Khan, M., Shaik, M. R., Adil, S. F., Khan, S. T., Al-Warthan, A., Siddiqui, M. R. H., Tahir, M. N. and Tremel, W. (2018). Plant extracts as green reductants for the synthesis of silver nanoparticles: lessons from chemical synthesis. *Dalton Trans*., *47*(35), 11988-12010, DOI: 10.1039/C8DT01152D

Manandhar, S., Luitel, S., & Dahal, R. K. (2019). *In vitro* antimicrobial activity of some medicinal plants against human pathogenic bacteria. *J. Tropic. Med*., *2019*. DOI: 10.1155/2019/1895340

Mehrabian, S. (2007). The study of antioxidant and anticarcinogenic green tea and black tea. *Pakistan J. Bio. Sci*., *10*(6), 989-991, DOI: 10.3923/pjbs.2007.989.991

Mohammadi, S., Piri, K., & Dinarvand, M. (2019). Antioxidant and antibacterial effects of some medicinal plants of Iran. *Int. J. Second. Metab*., *6*(1), 62-78, DOI: 10.21448/ijsm.514968

Mohebat, R., & Bidoki, M. Z. (2018). Comparative chemical analysis of volatile compounds of *Echinops ilicifolius* using hydrodistillation and headspace solid-phase microextraction and the antibacterial activities of its essential oil. *R. Soc. Open Sci*., *5*(2), 171424, DOI: 10.1098/rsos.171424

Mukherjee, P., Roy, M., Mandal, B. P., Dey, G. K., Mukherjee, P. K., Ghatak, J., Tyagi, A. K., & Kale, S. P. (2008). Green synthesis of highly stabilized nanocrystalline silver

particles by a non-pathogenic and agriculturally important fungus *T. asperellum*. *Nanotechnol*., *19*(7), 075103, DOI: 10.1088/0957-4484/19/7/075103

Pal, S., Tak, Y. K., & Song, J. M. (2007). Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the gram-negative bacterium Escherichia coli. *Appl. Environ. Microbiol*., *73*(6), 1712-1720, DOI: 10.1128/AEM.02218-06

Parasuraman, S. (2018). Herbal drug discovery: challenges and perspectives. *Curr. Pharmacogenomics Person. Med*., *16*(1), 63-68(6), DOI: 10.2174/1875692116666180419153313

Valero, M., & Salmeron, M. (2003). Antibacterial activity of 11 essential oils against Bacillus cereus in tyndallized carrot broth. *Int. J. Food Micro*., *85*(1), 73-81. DOI: 10.1016/S0168-1605(02)00484-1

Van Vuuren, S. F. (2008). Antimicrobial activity of South African medicinal plants. *J. Ethnopharmacol*., *119*(3), 462-472, DOI: 10.1016/j.jep.2008.05.038

Wikler, M. A. (2006). Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically: approved standard. *CLSI (NCCLS)*, *26*, M7-A7. DOI: 10.1007/s10156-012-0543-z

How to cite this paper:
Salmanian, M., Ghadi, A., & Sharifzadeh Baei, M. (2023). *In Vitro* evaluation of antibacterial effects of aqueous and alcoholic extracts of *Echinops dichorus L*. on *Escherichia coli*. *Environ. Water Eng*., *9*(4), 437–448. DOI: 10.22034/ewe.2022.336375.1761

۳- ترکیبات آنتی‌باکتریال موجود در عصاره الکلی (اتانولی) *شکرتیغال*، توانایی و اثرگذاری کافی برای استفاده به‌همراه رژیم‌های حاوی آنتی‌بیوتیک در آینده را دارند.

۴- اثرات ضدمیکروبی گیاه *شکرتیغال* مورد استفاده حاکی از پتانسیل قابل‌قبول این گیاه در کاربرد دارویی آن در مقابل بیماری‌های با منشأ باکتری گرم منفی *اشرشیا کلی* در تحقیق موجود می‌باشد.

پیشنهادها برای ادامه بررسی‌های مرتبط با پژوهش حاضر، عبارت‌اند از:

الف) بررسی تأثیر اثرات ضدباکتری گیاه مورد مطالعه در این تحقیق در شرایط برون‌آزمایشگاهی و در بدن موجود زنده

ب) بررسی تأثیر روش‌های استخراج عصاره‌ها و اسانس‌ها بر میزان مبارزه با باکتری‌ها

ج) بررسی تأثیر ترکیب چند عصاره بر میزان رشد باکتری‌ها

دسترسی به داده‌ها

داده‌های استفاده شده (یا تولید شده) در این پژوهش در متن مقاله ارائه شده است.

تضاد منافع نویسندگان

نویسندگان این مقاله اعلام می‌دارند که، هیچ‌گونه تضاد منافعی در رابطه با نویسندگی و یا انتشار این مقاله ندارند.

References

Amin, M., Anwar, F., Janjua, M. R. S. A., Iqbal, M. A., & Rashid, U. (2012). Green synthesis of silver nanoparticles through reduction with *Solanum xanthocarpum L.* berry extract: characterization, antimicrobial, and urease inhibitory activities against Helicobacter pylori. *Int. J. Molecul. Sci*., *13*(8), 9923-9941. DOI: 10.3390/ijms13089923

Bitew, H., & Hymete, A. (2019). The Genus Echinops: Phytochemistry and Biological Activities: A Review. *Front. Pharmacol*., *10*, 1234, DOI: 10.3389/fphar.2019.01234

Chugh, N. A., Bali, S., & Koul, A. (2018). Integration of botanicals in contemporary medicine: road blocks, checkpoints and go-ahead signals. *Integr. Med. Res*., *7*(9), 109-125. DOI: 10.1016/j.imr.2018.03.005

Das, K., Tiwari, R. K. S., & Shrivastava, D. K. (2010). Techniques for evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agents: current methods and future trends. *J. Med. Plant Res*., *4*(2), 104-111, DOI: 10.5897/JMPR09.030

Falah, F., Shirani, K., Vasiee, A., Yazdi, F. T., & Behbahani, B. A. (2021). In vitro screening of phytochemicals, antioxidant, antimicrobial, and cytotoxic activity of Echinops setifer extract. *Biocatal. Agri. Biotechnol*., *35*, 102102, DOI: 10.1016/j.bcab.2021.102102

Gonelimali, F. D., Lin, J., Miao, W., Xuan, J., Charles, F., Chen, M., & Hatab, S. R. (2018). Antimicrobial properties and mechanism of action of some plant extracts against food pathogens and spoilage microorganisms. *J. Front. Microbiol*., *9*(50). DOI: 10.3389/fmicb.2018.01639

Gupta, P. D., & Birdi, T. J. (2017). Development of botanicals to combat antibiotic resistance. *J. Ayurveda Integr. Med*., *8*(4), 266-275. DOI: 10.1016/j.jaim.2017.05.004

Khan, M., Shaik, M. R., Adil, S. F., Khan, S. T., Al-Warthan, A., Siddiqui, M. R. H., Tahir, M. N. and Tremel, W. (2018). Plant extracts as green reductants for the synthesis of silver nanoparticles: lessons from chemical synthesis. *Dalton Trans*., *47*(35), 11988-12010, DOI: 10.1039/C8DT01152D

Manandhar, S., Luitel, S., & Dahal, R. K. (2019). *In vitro* antimicrobial activity of some medicinal plants against human pathogenic bacteria. *J. Tropic. Med*., *2019*. DOI: 10.1155/2019/1895340

Mehrabian, S. (2007). The study of antioxidant and anticarcinogenic green tea and black tea. *Pakistan J. Bio. Sci*., *10*(6), 989-991, DOI: 10.3923/pjbs.2007.989.991

Mohammadi, S., Piri, K., & Dinarvand, M. (2019). Antioxidant and antibacterial effects of some medicinal plants of Iran. *Int. J. Second. Metab*., *6*(1), 62-78, DOI: 10.21448/ijsm.514968

Mohebat, R., & Bidoki, M. Z. (2018). Comparative chemical analysis of volatile compounds of *Echinops ilicifolius* using hydrodistillation and headspace solid-phase microextraction and the antibacterial activities

of its essential oil. *R. Soc. Open Sci*., *5*(2), 171424, DOI: 10.1098/rsos.171424

Mukherjee, P., Roy, M., Mandal, B. P., Dey, G. K., Mukherjee, P. K., Ghatak, J., Tyagi, A. K., & Kale, S. P. (2008). Green synthesis of highly stabilized nanocrystalline silver particles by a non-pathogenic and agriculturally important fungus *T. asperellum*. *Nanotechnol*., *19*(7), 075103, DOI: 10.1088/0957-4484/19/7/075103

Pal, S., Tak, Y. K., & Song, J. M. (2007). Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the gram-negative bacterium Escherichia coli. *Appl. Environ. Microbiol*., *73*(6), 1712-1720, DOI: 10.1128/AEM.02218-06

Parasuraman, S. (2018). Herbal drug discovery: challenges and perspectives. *Curr. Pharmacogenomics Person. Med*., *16*(1), 63-68(6), DOI: 10.2174/1875692116666180419153313

Valero, M., & Salmeron, M. (2003). Antibacterial activity of 11 essential oils against Bacillus cereus in tyndallized carrot broth. *Int. J. Food Micro*., *85*(1), 73-81. DOI: 10.1016/S0168-1605(02)00484-1

Van Vuuren, S. F. (2008). Antimicrobial activity of South African medicinal plants. *J. Ethnopharmacol*., *119*(3), 462-472, DOI: 10.1016/j.jep.2008.05.038

Wikler, M. A. (2006). Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically: approved standard. *CLSI (NCCLS)*, *26*, M7-A7. DOI: 10.1007/s10156-012-0543-z

How to cite this paper:
Salmanian, M., Ghadi, A., & Sharifzadeh Baei, M. (2023). *In Vitro* evaluation of antibacterial effects of aqueous and alcoholic extracts of *Echinops dichorus L*. on *Escherichia coli*. *Environ. Water Eng*., *9*(4), 437–448. DOI: 10.22034/ewe.2022.336375.1761