مقاله پژوهشی
مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان
دوره ۱۹، مرداد ۱۳۹۹، ۴۸۴-۴۶۳

بررسی گروه‌های عاملی ترکیبات زیست‌فعال، توانایی رادیکال گیرندگی، فعالیت ضدمیکروبی و اثر سمیت سلولی عصاره آبی گیاه شیشه‌شور (*Callistemon citrinus*) بر رده سلولی HT29: یک مطالعه آزمایشگاهی

زهره سوسنی غریبوند[۱]، بهروز علیزاده بهبهانی[۲]، محمد نوشاد[۳]، حسین جوینده[۴]

دریافت مقاله: ۹۸/۱۲/۳ ارسال مقاله به نویسنده جهت اصلاح: ۹۹/۳/۲۰ دریافت اصلاحیه از نویسنده: ۹۹/۴/۷ پذیرش مقاله: ۹۹/۴/۱۵

چکیده

زمینه و هدف: کاربرد گسترده داروهای شیمیایی جهت درمان و کنترل بیماری‌های مزمن و عفونی و هم‌چنین سرطان کولون سبب افزایش تقاضا برای مواد دارویی و نگه‌دارنده طبیعی و ایمن شده است. بنابراین هدف از این پژوهش تعیین گروه‌های عاملی ترکیبات تشکیل دهنده، میزان فنول و فلاوونوئید کل، توانایی رادیکال گیرندگی، فعالیت ضدمیکروبی و برهم‌کنش عصاره آبی شیشه‌شور (*Callistemon citrinus*) با آنتی‌بیوتیک‌های رایج درمانی و اثر سمیت سلولی آن بر رده سلولی HT29 بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه آزمایشگاهی، حضور گروه‌های عاملی ترکیبات تشکیل دهنده عصاره آبی شیشه‌شور با کمک Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) بررسی گردید. توانایی گیرندگی رادیکال‌های آزاد، میزان فنول و فلاوونوئید کل، فعالیت ضدمیکروبی و برهم‌کنش عصاره آبی شیشه‌شور با آنتی‌بیوتیک‌های کلرامفنیکل و جنتامایسین و میزان زنده مانی رده سلولی HT29 تحت غلظت‌های مختلف عصاره با آزمون MTT (3-[4, 5-dimethylthiazol-2-yl]-2, 5 diphenyl tetrazolium bromide) بررسی شد. داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی Duncan تجزیه و تحلیل شد.

یافته‌ها: عصاره آبی شیشه‌شور فعالیت ضدمیکروبی قابل توجهی بر باکتری‌های *اشرشیا کلی*، *سودوموناس ائروژینوزا*، *سالمونلا تیفی*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *لیستریا اینوکوا* نشان داد. میزان مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد در محدوده ۵۱/۳۳-۷۱/۶۸ درصد بود. وجود گروه‌های C-C و OH ترکیبات پلی‌فنولی عصاره توسط FTIR تأیید شد. غلظت‌های مختلف عصاره رشد سلول HT29 را نسبت به گروه کنترل بعد از ۲۴ ساعت کاهش داد ($P<0/05$).

نتیجه‌گیری: عصاره آبی شیشه‌شور دارای فعالیت ضدمیکروبی، پتانسیل آنتی‌اکسیدانی و سمیت سلولی بر رده سلولی HT29 بود. بنابراین، استفاده از عصاره آبی شیشه‌شور در صنایع داروسازی و غذایی پیشنهاد می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: سمیت سلولی، حداقل غلظت مهارکنندگی، شرایط برون‌تنی، عصاره آبی شیشه‌شور

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران

۲- (نویسنده مسئول) استادیار گروه آموزشی علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران

تلفن: ۳۶۵۲۲۴۲۵-۰۶۱، دورنگار: ۳۶۵۲۲۴۲۵-۰۶۱، پست الکترونیکی: b.alizadeh@asnrukh.ac.ir

۳- استادیار گروه آموزشی علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران

۴- دانشیار گروه آموزشی علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-09]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1399.19.5.3.4]
[DOI: 10.29252/jrums.19.5.463]

مقدمه

یکی از مهم‌ترین عوامل ایجاد کننده بیماری‌های مزمن، رادیکال‌های آزاد می‌باشند. رادیکال‌های آزاد با ایجاد استرس اکسیداتیو می‌توانند نقش خود را ایفاء کنند. مهم‌ترین عامل جهت مهار و از بین بردن رادیکال‌های آزاد، آنتی‌اکسیدان‌ها هستند [۲-۱]. از جمله خواص آنتی‌اکسیدان، کاهش خطر ابتلاء به سکته مغزی، بیماری‌های قلبی-عروقی و کاهش آسیب به دزوکسی ریبونوکلئیک اسید می‌باشد. یکی از مهم ترین منابع آنتی‌اکسیدان‌ها، گیاهان می‌باشند [۴-۳]. متابولیت‌های ثانویه‌ای که توسط گیاهان تولید می‌شود دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بوده و از آن‌ها می‌توان به عنوان ترکیب دارویی استفاده کرد [۶-۵]. از جمله متابولیت‌های ثانویه فعال گیاهی، پلی‌فنول‌ها می‌باشند که در قسمت‌های مختلف گیاهان مانند برگ، میوه، دانه، ریشه و پوست وجود دارند [۴]. فلاوونوئیدها و اسیدهای فنولی از مهم‌ترین گروه‌های پلی فنولی با خواص هورمونی، دارویی و آنتی‌اکسیدانی می‌باشند [۷].

از جمله بیماری‌های مهم که همواره گریبان‌گیر انسان بوده، بیماری‌های عفونی می‌باشد [۸]. در این زمینه تلاش‌های متعددی جهت تشخیص عوامل ایجادکننده، درمان و کنترل آن‌ها صورت گرفته است [۹]. عمده‌ترین مشکل جهت درمان بیماری‌های عفونی، مقاومت باکتری‌ها در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها و عوارض جانبی عوامل ضدمیکروبی شیمیایی می‌باشد [۸]. همین امر باعث شده تا گیاهان به عنوان مواد طبیعی، کم خطر، در دسترس و ارزان قیمت بودن نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها جهت درمان عفونت‌های میکروبی رواج یابند [۱۰]. ترکیبات ضد میکروبی و ترکیبات فنولی مانند اسیدهای فنولیک، فلاوونوئید، تانن و دی‌ترپن‌های فنولی موجود در گیاهان دارویی سبب شده استفاده از این گیاهان مورد توجه پژوهش گران قرار گیرد [۱۱].

گیاه شیشه‌شور با نام علمی *Callistemon citrinus* از خانواده Myrtaceae می‌باشد و شامل بیش از ۳۰ گونه است [۱۲]. این گیاه ۰/۵ تا ۷ متر ارتفاع دارند که به صورت درخت یا درخت‌چه‌های چوبی معطر در نواحی استوایی مرطوب رشد می‌کنند [۱۳]. مقاومت در برابر خشکی، گرما، باد و زیبایی در زمان گلدهی از جمله دلایلی است که سبب شده از این گیاه در فضای سبز و حاشیه خیابان‌ها در سطح وسیع استفاده شود [۱۳]. در طب سنتی از برگ این درخت جهت درمان عفونت های دستگاه گوارش نیز استفاده می‌شود [۱۴]. در جامائیکا از این گیاه جهت درمان بیماری‌های معده و روده، عفونت‌های پوستی و اسهال به صورت چای داغ استفاده می‌شود [۱۳]. علاوه بر این، فعالیت ضد سرطانی گیاه شیشه‌شور نیز مشخص شده است [۱۶-۱۵].

سرطان کولون به عنوان سومین علت مرگ و میر در دنیا مطرح می‌باشد و پس از سرطان ریه، سرطان کولون به عنوان شایع‌ترین نوع سرطان در مردان می‌باشد [۱۸-۱۷]. این سرطان ابتدا به صورت خوش‌خیم بوده و در صورت تشخیص به موقع با عمل جراحی کاملاً قابل درمان می‌باشد و در صورت عدم درمان به موقع به صورت آدنومای پیشرفته با درجه دیسپلازی بالا و سپس به شکل سرطان بدخیم تکامل پیدا می‌کند [۱۹]. روش‌های درمان سرطان کولون شامل ترکیبی از شیمی درمانی، پرتو درمانی و جراحی می‌باشد که پرهزینه

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-09]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1399.19.5.3.4]
[DOI: 10.29252/jrums.19.5.463]

و پیچیده می‌باشد. به همین دلیل استفاده از گیاهان دارویی جهت مهار فرآیند تومورزایی و القاء آپوتیوز در سلول‌های سرطانی یک روش جدید جهت مبارزه با سرطان کولون می باشد که از مزایای این روش هزینه کم‌تر و اثر جانبی کم‌تر می‌باشد [۲۰]. در این مطالعه، فعالیت ضدسرطانی عصاره آبی گیاه شیشه‌شور بر رده سلولی HT29 بررسی شد که جزء سلول‌های سرطانی کولون انسان است و به‌طور گسترده‌ای در مطالعات سرطان کولون مورد استفاده قرار می‌گیرد [۲۱].

تاکنون پژوهش‌های بسیار اندکی در مورد عصاره آبی گیاه شیشه‌شور انجام شده است [۱۲، ۲۲]. لذا هدف از این پژوهش تعیین فعالیت ضدمیکروبی، برهم‌کنش آن با آنتی‌بیوتیک‌های رایج درمانی، تعیین پتانسیل آنتی‌اکسیدانی، شناسایی گروه‌های عاملی ترکیبات شیمیایی و تشخیص کیفی نوع پیوندها، تعیین میزان فنول و فلاوونوئید کل و در نهایت اثر سمیت سلولی عصاره آبی گیاه شیشه‌شور بر رده سلولی HT29 بود.

مواد و روش‌ها

این مطالعه آزمایشگاهی در سال ۱۳۹۸ در آزمایشگاه میکروبیولوژی و شیمی گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان انجام پذیرفت.

برگ‌های تازه گیاه شیشه‌شور در خرداد ماه ۱۳۹۸ از محوطه دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان جمع‌آوری شد. بعد از تأیید اسم علمی گیاه توسط مرکز هرباریوم دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان (کد هرباریوم KHAU302)، برگ‌های جمع‌آوری شده توسط آب سرد به صورت سطحی مورد شست‌وشو قرار گرفت و سپس به مدت ۵ روز در سایه خشک گردید.

جهت تهیه عصاره آبی گیاه شیشه‌شور، ابتدا برگ‌های خشک شده گیاه توسط آسیاب آزمایشگاهی (T3800، توس شکن، ایران) پودر شد. گیاه پودر شده از الک آزمایشگاهی جهت یکنواخت شدن اندازه ذرات عبور داده شد. عمل عصاره گیری از گیاه با روش خیساندن انجام شد. در این روش ۱۰۰ گرم از پودر برگ گیاه شیشه‌شور در ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شد. مخلوط حاصل به مدت ۷۲ ساعت روی دستگاه هم‌زن مغناطیسی (RH Basic، IKA، آلمان) در دمای اتاق به آرامی هم‌زده شد تا استخراج عصاره به صورت کامل انجام شود. مخلوط حاصل از پارچه توری تمیز عبور داده شد. عصاره اولیه به دست آمده با دور ۶۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ (K2042، Centurion، آمریکا) شد. پس از عمل سانتریفیوژ کردن عصاره اولیه گیاه شیشه‌شور، عصاره شفاف شده تحت عمل تغلیظ شدن (۵۰ درجه سانتی‌گراد، ۳۰ دقیقه) توسط دستگاه تقطیر در خلأ (روتاری) (Heidolph laborota 400، Heidolph Instruments، آلمان) قرار گرفت. در نهایت عصاره تغلیظ شده توسط دستگاه خشک‌کن انجمادی (Christ-Alpha 1–4، LD freeze dryer، آلمان) به طور کامل خشک شد. عصاره به دست آمده تا زمان انجام آزمون‌های میکروبیولوژی و شیمیایی در ظروف درب بسته تمیز که اطراف آن با فویل آلومینیومی پیچیده شده بود در یخچال نگه‌داری شد [۴، ۱۱].

از آنالیز طیف‌سنجی فروسرخ تبدیل فوریه (Fourier-transform infrared spectroscopy; FTIR) برای تعیین

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-09]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1399.19.5.3.4]
[DOI: 10.29252/jrums.19.5.463]

گروه‌های عاملی ترکیبات شیمیایی و شناسایی کیفی عصاره آبی گیاه شیشه‌شور استفاده شد. برای آماده‌سازی نمونه، ابتدا عصاره پودر شده با برمید پتاسیم (هیچ پیکی در طول‌موج مورد استفاده جهت شناسایی گروه‌های عاملی عصاره ایجاد نمی‌کند) مخلوط گردید. مخلوط حاصل جهت به دست آوردن قرص مناسب فشرده شد. طیف FTIR از عصاره در محدوده طول موج cm^{-1} ۵۰۰-۴۰۰۰ و توسط دستگاه FTIR (Thermo Nicolet، مدل Avatar 370، ساخت آمریکا) ثبت شد [۲۳].

از روش فولین سیوکالچو (Folin–Ciocalteu) برای تعیین میزان فنول کل عصاره آبی گیاه شیشه‌شور استفاده شد. جهت انجام آزمون، ۱ میلی‌لیتر از محلول عصاره ۰/۱ درصد با ۲/۵ میلی‌لیتر از واکنش‌گر فنول مخلوط شد. پس از گذشت مدت زمان ۵ دقیقه، ۲/۵ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۷ درصد به مخلوط اضافه شده و به مدت یک ساعت در دمای اتاق نگه داری شد. در نهایت میزان جذب با دستگاه اسپکتروفتومتر (Biochrom WPA Lightwave UV/VIS، S2000، انگلیس) در طول موج ۷۲۵ نانومتر خوانده شد و اعداد آن ثبت گردید. میزان کل ترکیبات فنولی موجود در عصاره آبی گیاه شیشه‌شور برحسب اسید گالیک و با استفاده از معادله حاصل از منحنی استاندارد محاسبه و نتایج برحسب گالیک اسید بیان گردید [۲۴].

برای اندازه‌گیری ترکیبات فلاوونوئیدی عصاره برگ گیاه شیشه‌شور از روش Zhishen و همکاران [۲۵]، با کمی تغییر استفاده شد. مطابق با این روش، ۱ میلی‌لیتر از محلول عصاره برگ گیاه شیشه‌شور با ۱/۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شده و سپس به آن ۷۵ میکرولیتر نیتریت سدیم ۵ درصد افزوده شد. پس از گذشت ۵ دقیقه، ۱۵۰ میکرولیتر آلومینیوم تری کلرید ۱۰ درصد به مخلوط اضافه شد. در نهایت ۱ میلی‌لیتر سود اضافه گردید و پس از ۵ دقیقه میزان جذب نمونه در طول موج ۵۱۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. از آب مقطر به عنوان شاهد استفاده شد. جهت رسم منحنی استاندارد از محلول کوئرستین استفاده شد [۲۶].

در آزمون میزان مهار رادیکال‌های آزاد DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) ابتدا ۱ میلی‌لیتر از غلظت‌های مختلف عصاره آبی برگ گیاه شیشه‌شور با ۳ میلی‌لیتر از DPPH (۰/۱ Mm در متانول) مخلوط شده و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و در مکان تاریک قرار داده شد. میزان جذب نمونه‌ها در برابر نمونه شاهد (آب) در طول‌موج ۵۱۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره آبی گیاه شیشه‌شور برحسب درصد بازدارندگی بر اساس معادله ذیل محاسبه شد [۲۴].

$$\text{فعالیت بازدارندگی} = \frac{\text{جذب نمونه اسانس} - \text{جذب نمونه کنترل}}{\text{جذب نمونه کنترل}} \times 100$$

جهت ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره آبی گیاه شیشه‌شور با مهار رادیکال آزاد ABTS (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) ابتدا رادیکال‌های آزاد ABTS تهیه شد. برای این منظور ابتدا محلول آبی با غلظت ۷ میلی مولار از ABTS تهیه شده و به محلول ساخته شده، پتاسیم پرسولفات اضافه شد تا غلظت نهایی آن به ۲/۴۵ میلیمولار برسد. محلول به دست آمده به مدت ۱۶ ساعت در مکان تاریک و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. رقیق‌سازی کاتیون رادیکال ABTS+ توسط متانول تا رسیدن

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-09]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1399.19.5.3.4]
[DOI: 10.29252/jrums.19.5.463]

جذب معرف به ۰/۰۲ ± ۰/۷ در طول‌موج ۷۳۴ نانومتر انجام شد. در نهایت ۳۰۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف عصاره به ۳/۹ میلی‌لیتر از محلول رادیکال ABTS اضافه و پس از گذشت ۵ دقیقه، جذب آن در دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت و ثبت شد [۲۴-۲۳].

قبل از انجام آزمون‌های میکروبیولوژی، عصاره خشک شده گیاه شیشه‌شور با استفاده از اشعه فرابنفش استریل شد. جهت تأیید عمل استریل شدن عصاره توسط اشعه فرابنفش، عصاره اشعه دیده به صورت سطحی بر سطح محیط کشت نوترینت آگار کشت داده شد. پس از ۲۴ ساعت گرم‌خانه گذاری و عدم رشد هیچ کلنی میکروبی، استریل بودن عصاره آبی گیاه شیشه‌شور تأیید شد [۸].

در این پژوهش از ۲ سویه استاندارد گرم مثبت *Listeria innocua* ATCC 33090 و *Staphylococcus aureus* ATCC 25923، و ۳ سویه استاندارد گرم منفی *Salmonella typhi* PTCC 1609، *Escherichia coli* ATCC 25992 و *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 استفاده شد. جهت انجام هر آزمون کشت تازه تهیه گردید [۲۷].

۲۴ ساعت قبل از شروع آزمون‌های ضدمیکروبی، تلقیح از کشت ذخیره به محیط کشت نوترینت آگار انجام شد. پس از گرمخانه گذاری (Model G25 & R25، New Brunswick Scientific، آمریکا) به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، از کلنی تک ایجاد شده بر سطح پتری دیش توسط لوپ حلقه‌ای استریل مقداری برداشته و به لوله آزمایش حاوی محلول رینگر استریل انتقال داده شد. کدورت سوسپانسیون میکروبی در اسپکتروفتومتر در طول‌موج ۶۲۵ نانومتر اندازه‌گیری شد و تا زمانی که کدورت محلول با کدورت استاندارد نیم مک‌فارلند برابر نشده، توسط محلول رینگر رقیق شد. در این حالت سوسپانسیون میکروبی حاوی colony forming unit/mL $۱/۵ \times ۱۰^{۸}$ است [۲۸، ۱۱].

در روش ضدمیکروبی انتشار در آگار به کمک دیسک، ابتدا محیط کشت مولر هینتون آگار تهیه و به پتری‌دیش‌های استریل اضافه شد. یک لوپ از کشت پایه هر باکتری بر این محیط کشت داده شد. دیسک‌های کاغذی (قطر ۶ میلی‌متر) با غلظت‌های ۱۸/۷۵، ۳۷/۵، ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره تهیه و با آن آغشته شد و به کمک پنس استریل در سطح محیط کشت با فواصل معینی قرار داده شد. در هر پتری‌دیش ۳ دیسک قرار گرفت، ۲ دیسک مربوط به غلظت‌ها و یک دیسک نیز به عنوان شاهد (دیسک فاقد عصاره) بود. هم‌چنین فعالیت ضد باکتریایی دیسک‌های آنتی‌بیوتیک استاندارد شامل جنتامایسین و کلرامفنیکل در پتری‌دیش‌های جداگانه مورد ارزیابی قرار گرفت. در انتها پتری‌دیش‌های تلقیح شده در انکوباتور (Model G25 & R25، New Brunswick Scientific، آمریکا) با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و پس از گذشت مدت زمان ۲۴ ساعت قطر هاله عدم رشد در اطراف دیسک‌ها با خط‌کش برحسب میلی‌متر اندازه‌گیری شد [۲۹، ۱۱].

در روش ضدمیکروبی انتشار در آگار به کمک چاهک، ابتدا با پیپت استریل چاهک‌هایی روی محیط کشت مولر هینتون آگار به عمق ۶ میلی‌متر ایجاد شد. سوسپانسیون میکروبی با غلظت معادل نیم مک فارلند روی سطح محیط کشت با سوآپ پخش گردید. سپس از غلظت‌های مختلف عصاره (۱۸/۷۵،

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-09]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1399.19.5.3.4]
[DOI: 10.29252/jrums.19.5.463]

۳۷/۵، ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)، ۵۰ میکرولیتر درون چاهک‌ها ریخته شد. در هر پتری‌دیش ۳ چاهک ایجاد شد. ۲ چاهک از غلظت‌های مختلف عصاره و یک چاهک به عنوان شاهد (فاقد عصاره) استفاده شد. در انتها پتری‌دیش ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه قرار داده شد و قطر هاله عدم رشد در اطراف چاهک‌ها با خط کش برحسب میلی‌متر اندازه‌گیری شد [۳۰، ۱۰].

آزمون تعیین کم‌ترین غلظت مهارکنندگی (Minimum inhibitory concentration; MIC) و کمترین غلظت باکتری کش (Minimum bactericidal concentration; MBC) مطابق با مطالعه Alizadeh Behbahani و همکاران، انجام پذیرفت [۳۱]. به طور خلاصه، ۱۰۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف عصاره (۱، ۲، ۴، ۸، ۱۶، ۳۲، ۶۴، ۱۲۸، ۲۵۶ و ۵۱۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) در پلیت ۹۶ خانه استریل ریخته شد. ۲۰ میکرولیتر سوسپانسیون میکروبی با کدورت نیم مک فارلند به هر چاهک اضافه شد. از محیط کشت حاوی باکتری و بدون عصاره به عنوان کنترل مثبت و از محیط کشت بدون باکتری حاوی عصاره به عنوان کنترل منفی استفاده شد. سپس میکروپلیت ۹۶ خانه‌ای در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شد. پس از گذشت مدت زمان گرمخانه‌گذاری (۲۴ ساعت) محلول تری‌فنیل تترازولیوم کلراید با غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به عنوان شاخص رنگی رشد باکتری تهیه و به هر خانه ۱۰ میکرولیتر از این معرف افزوده شد. اولین چاهکی که بعد از ۱۵ دقیقه گرمخانه گذاری مجدد تغییر رنگ قرمز یا ارغوانی در آن مشاهده نشد به عنوان MIC در نظر گرفته شد [۳۱].

حداقل غلظت کشندگی عصاره برگ شیشه‌شور با توجه به نتایج به دست آمده از حداقل غلظت مهارکنندگی از رشد در آزمون قبل تعیین شد. ۱۰۰ میکرولیتر از چاهک‌هایی که باکتری در آن‌ها رشد نکرده بود (تغییر رنگ قرمز یا ارغوانی مشاهده نشد) توسط سمپلر برداشته و به محیط کشت مولر هینتون آگار منتقل شد. پتری دیش‌های کشت داده شده در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری شد. اولین غلظتی از عصاره که مانع از رشد ۹۹/۹ درصد باکتری‌ها شد (در سطح پتری‌دیش هیچ کلنی مشاهده نشد) به عنوان حداقل غلظت کشندگی تعیین گردید [۳۲، ۲۹].

برای ارزیابی برهم‌کنش (هم‌افزایی یا کاهندگی) عصاره برگ شیشه‌شور در ترکیب با آنتی‌بیوتیک‌های کلرامفنیکل و جنتامایسین از غلظت تحت مهاری (Sub-MIC) استفاده شد. در این پژوهش از غلظت تحت مهاری که ۱/۲ غلظت حداقل غلظت مهارکنندگی بود استفاده شد. عصاره برگ شیشه‌شور به محیط مولر هینتون آگار اضافه شد و سوسپانسیون میکروبی معادل نیم مک فارلند بر سطح محیط کشت توسط سوآپ کشت داده شد و سپس دیسک‌های آنتی‌بیوتیک کلرامفنیکل و جنتامایسین روی سطح محیط کشت قرار داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه قرار داده شد. پس از گذشت مدت زمان ۲۴ ساعت، قطر هاله عدم رشد میکروبی توسط خط‌کش اندازه‌گیری شده و برحسب میلی‌متر گزارش شد [۳۲].

جهت بررسی اثر سمیت سلولی عصاره برگ گیاه شیشه‌شور بر رده سلولی HT29 (شماره سلول IBRC C10097، مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران) از روش MTT (3-[4, 5-

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-09]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1399.19.5.3.4]
[DOI: 10.29252/jrums.19.5.463]

dimethylthiazol-2-yl]-2, 5 diphenyl tetrazolium bromide) استفاده شد. این آزمون مطابق با مطالعه Alizadeh Behbahani و همکاران، انجام پذیرفت. به طور خلاصه بعد از رشد سلول‌ها، میزان 10^5 سلول به هر چاهک اضافه گردید. سپس محیط کشت DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium)، ۲۰۰ میکرولیتر سرم جنینی گاو و غلظت‌های ۱، ۳/۱۲۵، ۶/۲۵، ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره برگ شیشه‌شور به چاهک‌ها اضافه شد. در انتها ۳۰ میکرولیتر از محلول MTT به تمام چاهک‌ها اضافه شده و صفحات به مدت ۳ ساعت در انکوباتور دی‌اکسید کربن قرار گرفت. پس از حذف محیط، ۲۰۰ میکرولیتر DMSO (Dimethyl sulfoxide) به هر چاهک اضافه شد و میزان جذب در طول‌موج ۵۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه الایزا ریدر (ELX 808، Bio Tek Instruments، آمریکا) خوانده شد. با استفاده از سلول‌های کنترل منحنی زنده‌مانی سلولی ترسیم گشت [۲۳].

از نرم‌افزارSPSS نسخه ۱۸ جهت آنالیز نتایج استفاده گردید. آزمون نرمالیته Shapiro-Wilk's جهت تأیید نرمال بودن داده‌ها مورد استفاده قرار گرفت و توزیع فراوانی داده‌ها نرمال بود. نتایج به‌صورت "انحراف معیار ± میانگین" سه تکرار گزارش شدند و از آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی Duncan برای تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده شد. سطح معنی‌داری در آزمون‌ها ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج ارزیابی فعالیت ضدباکتریایی عصاره آبی گیاه شیشه‌شور به روش دیسک دیفیوژن بر باکتری‌های بیماری‌زا در جدول ۱، آورده شده است. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت‌های عصاره آبی شیشه‌شور قطر هاله عدم رشد نیز افزایش یافت. به‌طور کلی، حساس‌ترین و مقاوم‌ترین باکتری در برابر عصاره آبی گیاه شیشه‌شور به ترتیب *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشرشیا کلی* بود. مقایسه آماری نتایج نشان داد که میان غلظت‌های ۱۸/۷۵ و ۳۷/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر برای تمامی باکتری‌ها اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد مشاهده نشد. با مقایسه دوتایی میان غلظت‌های ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر مشخص گردید غلظت بالاتر عصاره اثر ضدمیکروبی قوی‌تری در برابر باکتری‌های *اشرشیا کلی*، *سالمونلا تیفی* و *لیستریا اینوکوا* نشان می‌دهد ($P<0/05$). لازم به ذکر است که اختلاف معنی‌داری بین اثر ضدمیکروبی غلظت‌های مذکور برای باکتری‌های *سودوموناس ائروژینوزا* و *استافیلوکوکوس اورئوس* مشاهده نشد ($P>0/05$). مقایسه نتایج آماری بین غلظت‌های ۳۷/۵ و ۷۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر نشان داد که فعالیت ضدمیکروبی غلظت ۷۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره آبی گیاه شیشه‌شور در برابر باکتری‌های *اشرشیا کلی*، *سودوموناس ائروژینوزا* و *استافیلوکوکوس اورئوس* به‌طور معنی‌داری بالاتر از غلظت ۳۷/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود ($P<0/05$). در غلظت ثابت عصاره، به استثناء غلظت ۷۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر که در آن قطر هاله عدم رشد برای باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* به‌طور معنی‌داری بالاتر از *سالمونلا تیفی* بود، اختلاف معنی‌داری بین قطر هاله عدم رشد برای باکتری‌های مورد مطالعه مشاهده نشد ($P>0/05$)، با این‌حال، به‌طور کلی باکتری‌های گرم مثبت حساسیت

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-09]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1399.19.5.3.4]
[DOI: 10.29252/jrums.19.5.463]

بیشتری نسبت به عصاره آبی شیشه‌شور در مقایسه با انواع گرم منفی نشان دادند (جدول ۱).

جدول ۱- میانگین قطر هاله عدم رشد میکروبی (دیسک دیفیوژن) عصاره آبی شیشه‌شور بر باکتری‌های بیماری‌زا برحسب میلی‌متر

باکتری	غلظت (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)			
	۱۸/۷۵	۳۷/۵	۷۵	۱۵۰
اشرشیا کلی	۷/۱۰±۰/۵۸^{aA}	۷/۷۰±۰/۵۰^{aA}	۹/۶۰±۰/۵۷^{bAB}	۱۱/۱۰±۰/۲۰^{cA}
سودوموناس ائروژینوزا	۸/۰۰±۰/۲۹^{aA}	۸/۸۰±۰/۴۳^{aA}	۱۰/۴۰±۰/۲۹^{bAB}	۱۱/۰۰±۰/۱۴^{bA}
سالمونلا تیفی	۸/۱۰±۰/۵۸^{aA}	۸/۶۰±۰/۵۲^{aA}	۹/۰۰±۰/۴۴^{aB}	۱۱/۲۰±۰/۱۴^{bA}
استافیلوکوکوس اورئوس	۸/۲۰±۰/۳۷^{aA}	۹/۱۰±۰/۵۰^{aA}	۱۰/۸۰±۰/۳۵^{bA}	۱۱/۹۰±۰/۲۰^{bA}
لیستریا اینوکوا	۸/۱۰±۰/۳۰^{aA}	۸/۸۰±۰/۲۶^{aA}	۹/۵۰±۰/۵۰^{aAB}	۱۱/۳۰±۰/۵۰^{bA}

نتایج به‌صورت "انحراف معیار± میانگین" سه تکرار (n=3) گزارش شده اند و از آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی Duncan برای تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده شده است.

حروف غیر مشابه کوچک در یک ردیف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح معنی‌داری ۵ درصد میان غلظت‌های مختلف عصاره آبی شیشه‌شور است (P<۰/۰۵).

حروف غیر مشابه بزرگ در یک ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح معنی‌داری ۵ درصد میان باکتری‌های مختلف است (P<۰/۰۵).

جدول ۲، نتایج فعالیت ضدمیکروبی عصاره آبی شیشه‌شور به روش چاهک آگار بر باکتری‌های عامل عفونت و مسمومیت را نشان می‌دهد. نتایج نشان داد که باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* با قطر هاله ۱۰/۳۰ میلی‌متر در کم‌ترین غلظت (۱۸/۷۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) حساس‌ترین بود. در غلظت‌های بالاتر اثر ضدمیکروبی بر باکتری‌های گرم منفی (*سودوموناس ائروژینوزا* و *سالمونلا تیفی*) به طور قابل توجهی افزایش یافت، به نحوی که در غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم بر میلی لیتر برای باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سالمونلا تیفی* قطر هاله ۱۴/۱۰ میلی‌متر مشاهده شد. مقایسه نتایج آماری میان غلظت‌های ۱۸/۷۵ و ۳۷/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر نشان داد که برای باکتری‌های گرم منفی (*اشرشیا کلی*، *سالمونلا تیفی* و *سودوموناس ائروژینوزا*) هیچ اختلاف معنی-داری در سطح ۵ درصد وجود ندارد (P>۰/۰۵)، در حالی که برای باکتری‌های گرم مثبت (*استافیلوکوکوس اورئوس* و *لیستریا اینوکوا*) اختلاف معنی‌داری مشاهده گردید (P<۰/۰۵). همان‌طور که در جدول ۲ نیز مشخص است در غلظت‌های ۳۷/۵ و ۷۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره آبی گیاه شیشه‌شور برای تمامی باکتری‌های گرم منفی اختلاف معنی-داری در سطح ۵ درصد وجود داشت (P<۰/۰۵)، در حالی که برای باکتری‌های گرم مثبت اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵). در شکل ۱، نمایی از فعالیت ضدباکتریایی عصاره آبی شیشه‌شور و آنتی‌بیوتیک‌های رایج درمانی بر باکتری *اشرشیا کلی* نشان داده شده است.

جدول ۲- میانگین قطر هاله عدم رشد میکروبی (چاهک آگار) عصاره آبی شیشه‌شور بر باکتری‌های بیماری‌زا برحسب میلی‌متر

باکتری	غلظت (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)			
	۱۸/۷۵	۳۷/۵	۷۵	۱۵۰

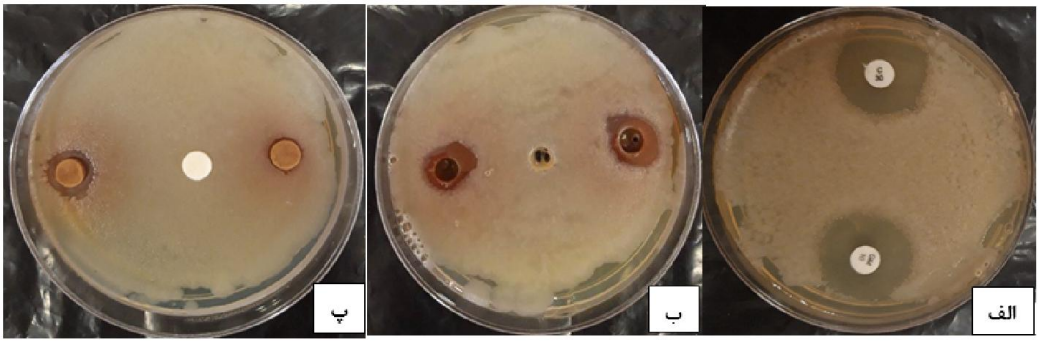
[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-09]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1399.19.5.3.4]
[DOI: 10.29252/jrums.19.5.463]

اشرشیا کلی	۸/۲۰±۰/۱۹^{aB}	۹/۷۰±۰/۲۳^{aB}	۱۰/۱۰±۰/۲۷^{bC}	۱۱/۲۰±۰/۳۳^{bB}
سودوموناس ائروژینوزا	۸/۱۰±۰/۲۹^{aB}	۸/۵۰±۰/۴۰^{aC}	۱۰/۶۰±۰/۱۳^{bBC}	۱۳/۰۰±۰/۶۸^{bAB}
سالمونلا تیفی	۸/۳۰±۰/۳۷^{aB}	۸/۵۰±۰/۱۲^{aC}	۱۱/۵۰±۰/۶۴^{bABC}	۱۴/۱۰±۰/۱۴^{cA}
استافیلوکوکوس اورئوس	۱۰/۳۰±۰/۶۲^{aA}	۱۲/۰۰±۰/۴۰^{bA}	۱۲/۵۰±۰/۳۲^{bA}	۱۴/۱۰±۰/۷۲^{bA}
لیستریا اینوکوا	۸/۹۰±۰/۷۹^{aAB}	۱۱/۵۰±۰/۳۵^{bA}	۱۱/۹۰±۰/۵۰^{bAB}	۱۲/۲۰±۰/۶۰^{bAB}

نتایج به‌صورت "انحراف معیار± میانگین" سه تکرار (n=3) گزارش شده اند و از آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی Duncan برای تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده شده است.

حروف غیر مشابه کوچک در یک ردیف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح معنی‌داری ۵ درصد میان غلظت‌های مختلف عصاره آبی شیشه‌شور است (P<۰/۰۵).

حروف غیر مشابه بزرگ در یک ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح معنی‌داری ۵ درصد میان باکتری‌های مختلف است (P<۰/۰۵).



شکل ۱- اثر ضدمیکروبی عصاره آبی شیشه‌شور و آنتی‌بیوتیک‌های رایج درمانی بر باکتری اشرشیا کلی
الف) اثر آنتی‌بیوتیک کلرامفنیکل و جنتامایسین، ب) اثر عصاره به روش چاهک آگار و پ) اثر عصاره به روش دیسک دیفیوژن.

نتایج حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی عصاره آبی شیشه‌شور برای باکتری‌های بیماری‌زا در جدول ۳، آورده شده است. نتایج نشان داد که حداقل غلظت مهارکنندگی برای باکتری‌های *اشرشیا کلی*، *سودوموناس ائروژینوزا*، *سالمونلا تیفی*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *لیستریا اینوکوا* به ترتیب ۸، ۸، ۱۶، ۴ و ۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. در شکل ۲، نمایی از اثر عصاره آبی گیاه شیشه‌شور به روش میکرودایلوشن براث (تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی) نشان داده شده است. نتایج حداقل غلظت کشندگی نیز بزرگتر از حداقل غلظت مهارکنندگی بود.

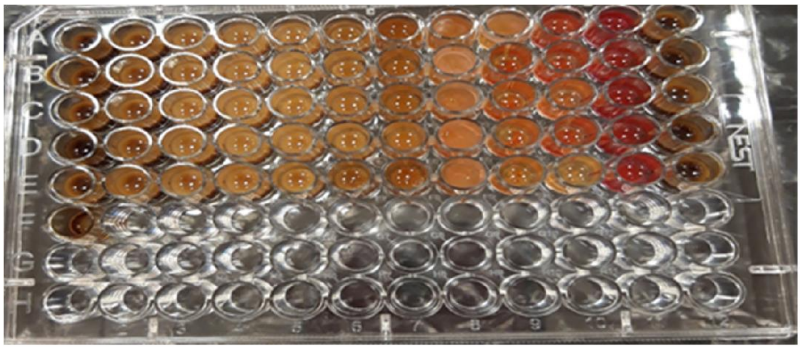
جدول ۳- حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی عصاره آبی شیشه‌شور بر باکتری‌های بیماری‌زا

باکتری	MIC (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)	MBC (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)
اشرشیا کلی	۸	>۵۱۲
سودوموناس ائروژینوزا	۸	>۵۱۲
سالمونلا تیفی	۱۶	>۵۱۲
استافیلوکوکوس اورئوس	۴	۵۱۲

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-09]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1399.19.5.3.4]
[DOI: 10.29252/jrums.19.5.463]

لیستریا اینوکوا	۸	۵۱۲

MIC= Minimum inhibitory concentration
MBC= Minimum bactericidal concentration



شکل ۲- نمایی از تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره آبی گیاه شیشه‌شور به روش میکرودایلوشن براث

نتایج اثر آنتی‌بیوتیک‌های کلرامفنیکل و جنتامایسین و هم‌چنین برهم‌کنش عصاره آبی گیاه شیشه‌شور با آنتی بیوتیک‌های مذکور در جدول ۴، آورده شده است. نتایج نشان داد که آنتی‌بیوتیک کلرامفنیکل با قطر ۲۴/۳۰ میلی‌متر بالاترین اثر را بر باکتری گرم منفی *اشرشیاکلی* داشت. بیش ترین اثر ضدمیکروبی آنتی‌بیوتیک جنتامایسین بر باکتری گرم مثبت *لیستریا اینوکوا* مشاهده شد. نتایج حاصل از برهم‌کنش عصاره آبی شیشه‌شور با آنتی‌بیوتیک کلرامفنیکل برای باکتری‌های *اشرشیا کلی*، *سودوموناس ائروژینوزا*، *سالمونلا تیفی*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *لیستریا اینوکوا* به ترتیب حالت سینرژیستی، سینرژیستی، سینرژیستی، سینرژیستی و آنتاگونیستی بود. به‌طور کلی می‌توان بیان کرد که ترکیب عصاره آبی شیشه‌شور با آنتی‌بیوتیک‌های رایج درمانی به‌ویژه برای باکتری‌های گرم منفی که معمولاً از مقاومت بالاتری نسبت به باکتری‌های گرم مثبت برخوردارند می‌تواند باعث افزایش اثر ضدباکتریایی گردد.

میزان فنول کل و فلاوونوئید عصاره آبی شیشه‌شور به ترتیب ۱۰۲/۱۷ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم وزن خشک و ۴۴/۹۵ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن خشک بود. نتایج بررسی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره آبی شیشه‌شور در جدول ۵، آورده شده است. نتایج نشان داد که میزان درصد مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد با افزایش غلظت عصاره افزایش پیدا کرد. میزان درصد مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد با استفاده از DPPH و ABTS در غلظت ۱۲۵ میلی‌گرم بر میلی لیتر به ترتیب ۷۱/۶۸ و ۵۱/۳۳ بود.

جدول ۴- اثر آنتی‌بیوتیک‌های کلرامفنیکل و جنتامایسین به تنهایی و توام (برهم‌کنش) با عصاره آبی شیشه‌شور بر باکتری‌های بیماری‌زا (میانگین قطر هاله عدم رشد میکروبی برحسب میلی‌متر)

	ماده ضدمیکروب			
باکتری	کلرامفنیکل	جنتامایسین	کلرامفنیکل + عصاره	جنتامایسین + عصاره
اشرشیا کلی	۲۴/۳۰±۰/۵۷[a]	۱۸/۲۵±۰/۴۴[c]	۳۱/۵۰±۰/۵۹[a]	۲۲/۳۰±۰/۴۱[a]

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-09]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1399.19.5.3.4]
[DOI: 10.29252/jrums.19.5.463]

سودوموناس ائروژینوزا	۱۸/۱۰±۰/۱۵^{c}	۲۰/۵۰±۰/۳۸^{b}	۲۲/۵۰±۰/۱۸^{c}	۲۲/۸۰±۰/۶۲^{a}
سالمونلا تیفی	۱۸/۴۰±۰/۶۶^{c}	۱۸/۵۰±۰/۸۱^{c}	۲۰/۴۰±۰/۸۶^{d}	۲۰/۰۰±۰/۵۴^{b}
استافیلوکوکوس اورئوس	۲۰/۲۰±۰/۳۲^{b}	۲۴/۴۰±۰/۷۸^{a}	۲۶/۱۰±۰/۲۷^{b}	۲۰/۲۰±۰/۷۷^{b}
لیستریا اینوکوا	۱۸/۰۰±۰/۷۲^{c}	۲۴/۵۰±۰/۳۷^{a}	۱۰/۳۰±۰/۶۶^{e}	۲۰/۱۰±۰/۴۶^{b}

نتایج به‌صورت "انحراف معیار± میانگین" سه تکرار (n=3) گزارش شده اند و از آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی Duncan برای تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده شده است.

حروف غیر مشابه در یک ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح معنی‌داری ۵ درصد میان غلظت‌های مختلف عصاره آبی شیشه‌شور است.

جدول ۵- بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره آبی شیشه‌شور بر رادیکال‌های آزاد DPPH و ABTS

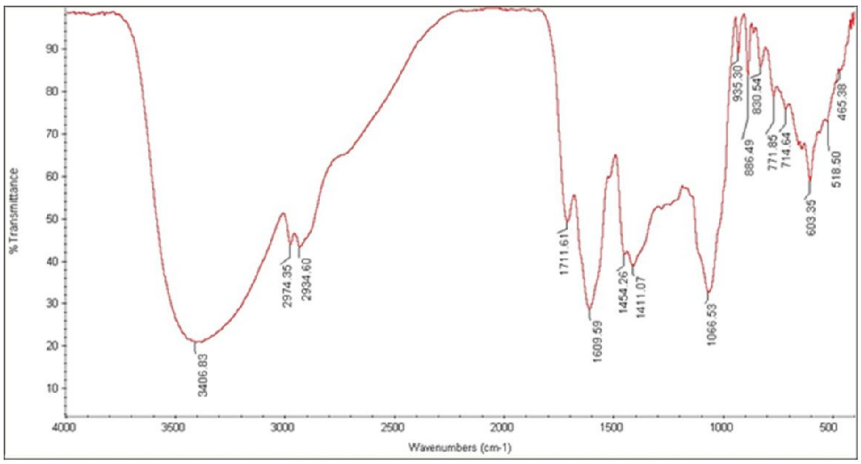
غلظت عصاره (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)	فعالیت مهارکنندگی (درصد)	
	DPPH	ABTS
۲۵	۳۹/۴۵ ± ۰/۴۲^{d}	۵/۵۰ ± ۰/۲۸^{e}
۵۰	۵۶/۱۶ ± ۰/۳۲^{c}	۱۴/۲۳ ± ۰/۴۳^{d}
۷۵	۵۷/۹۰ ± ۰/۸۰^{c}	۳۲/۰۱ ± ۰/۶۹^{c}
۱۰۰	۶۸/۱۵ ± ۰/۱۵^{b}	۳۸/۱۴ ± ۰/۶۸^{b}
۱۲۵	۷۱/۶۸ ± ۰/۵۵^{a}	۵۱/۳۳ ± ۰/۸۹^{a}

نتایج به‌صورت "انحراف معیار± میانگین" سه تکرار (n=3) گزارش شده اند و از آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی Duncan برای تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده شده است.

حروف غیر مشابه در یک ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح معنی‌داری ۵ درصد میان غلظت‌های مختلف عصاره آبی شیشه‌شور است.

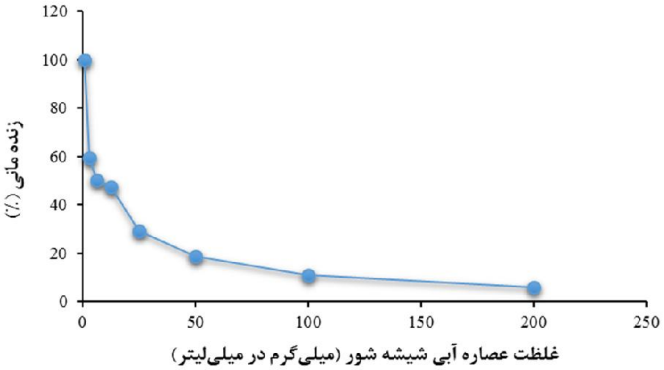
یکی از متداول‌ترین روش‌های ارزیابی ساختار ترکیبات آلی، استفاده از طیف‌سنجی زیر قرمز است. شکل ۳، طیف FTIR عصاره آبی گیاه شیشه‌شور را نشان می‌دهد. نتایج نشان داد که نوار پهن به مرکزیت ۳۴۰۶ cm^{-1} به دلیل وجود گروه های هیدروکسیل و گستره عدد موج ۲۸۰۰-۳۰۰۰ cm^{-1} به دلیل وجود پیوندهای C-H گروه‌های متیل در ساختار عصاره بود. حضور پیوند کششی C=O (گروه کربوکسیل) باعث ایجاد پیک در گستره عدد موج ۱۶۰۰-۱۷۰۰ cm^{-1} در طیف است. وجود پیک در گستره‌ی ۱۴۰۰-۱۵۰۰ cm^{-1} نشان دهنده وجود گروه‌های C-C در حلقه آروماتیک ترکیبات پلی فنولی و گروه‌های OH موجود در ترکیبات فنولی در ساختار عصاره بود. وجود پیک‌ها در طول‌موج ۱۰۲۳-۱۰۶ احتمالاً به دلیل ارتعاشات کششی C-O در نمونه بود.

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-09]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1399.19.5.3.4]
[DOI: 10.29252/jrums.19.5.463]



شکل ۳- طیف FTIR عصاره آبی گیاه شیشه‌شور

نتایج مربوط به آزمون سمیت سلولی و اثر غلظت‌های مختلف عصاره آبی گیاه شیشه‌شور بر رده سلولی HT29 در شکل ۴، نشان داده شده است. برای تعیین سمیت سلولی عصاره آبی گیاه شیشه‌شور از غلظت‌های ۱، ۳/۱۲۵، ۶/۲۵، ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر استفاده گردید. درصد زنده‌مانی سلول‌های HT29 در غلظت‌های مذکور به ترتیب ۱۰۰، ۵۹/۳۳، ۵۰/۱۲، ۴۷/۶۶، ۲۹/۲۴، ۱۸/۶۵، ۱۰/۸۶ و ۶/۱۲ بود. بر اساس نتایج مشاهده شده، با افزایش غلظت عصاره آبی گیاه شیشه‌شور، تأثیر بر رده سلولی HT29 افزایش پیدا کرد و درصد زنده‌مانی آن کاهش یافت. بیش‌ترین اثر سمیت سلولی عصاره آبی شیشه‌شور در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و در مقابل کم‌ترین اثر آن در غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر مشاهده گردید.



شکل ۴- اثر غلظت‌های مختلف عصاره آبی شیشه‌شور بر زنده‌مانی رده سلولی HT29

بحث

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-09]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1399.19.5.3.4]
[DOI: 10.29252/jrums.19.5.463]

با توجه به مقاومت میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های رایج درمانی، یافتن ترکیبات ضدمیکروبی جدید با کم‌ترین اثر جانبی بسیار حائز اهمیت است. در این پژوهش آزمایشگاهی فعالیت ضدمیکروبی، ظرفیت آنتی اکسیدانی، ترکیبات فنولی و فلاوونوئید کل، ساختار شیمیایی و اثر سمیت سلولی عصاره آبی گیاه شیشه‌شور مورد بررسی قرار گرفت.

با توجه به نتایج به دست آمده از آزمون ضد میکروبی عصاره آبی گیاه شیشه‌شور (جداول ۱، ۲، ۳ و ۴) مشخص شد که عصاره آبی گیاه شیشه‌شور به خوبی توانست در غلظت‌های مورد بررسی از رشد باکتری‌های بیماری‌زا به‌ویژه باکتری‌های گرم مثبت جلوگیری کند. فعالیت ضد میکروبی اسانس و عصاره‌های آبی و الکلی گیاه شیشه‌شور در مطالعات مختلف گزارش شده است. با مطالعه اثر ضدمیکروبی اسانس گیاه شیشه‌شور بر تعدادی از باکتری‌های گرم مثبت و منفی، Oyedeji و همکاران گزارش نمودند که سویه *استافیلوکوکوس اورئوس* نسبت به اسانس شیشه‌شور حساس‌ترین بود که این اثر ضد میکروبی به ترکیبات اصلی تشکیل دهنده اسانس از قبیل ۸ و ۱-سینئول (۸۳/۲ درصد)، آلفا پینن (۶/۴ درصد) و آلفا تریپینئول (۴/۹ درصد) نسبت داده شد [۳۳]. نتایج حاکی از آن است که سویه *اشرشیا کلی* مقاوم‌ترین سویه در برابر عصاره آبی شیشه‌شور بود. چنین نتیجه‌ای در خصوص بررسی اثر عصاره اتانولی و متانولی گیاه شیشه‌شور توسط Seyydnejad و همکاران بر فعالیت ضدمیکروبی عصاره‌های الکلی شیشه‌شور گزارش شده است. نتایج این محققین نشان داد که عصاره اتانولی و متانولی گیاه شیشه‌شور دارای فعالیت ضد میکروبی در برابر میکروارگانیسم‌های مورد بررسی (باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی) بود. به‌طوری‌که فعالیت ضدباکتریایی عصاره‌های الکلی شیشه‌شور با اثر آنتی‌بیوتیکی استاندارد قابل مقایسه بود [۲۲]. اثر ضد میکروبی بالاتر عصاره آبی گیاه شیشه‌شور در برابر باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی به تفاوت در غشاء و دیواره سلولی این باکتری‌ها نسبت داده می‌شود، به‌طوری‌که باکتری‌های گرم مثبت دارای لایه موکوپپتیدی ضخیم‌تری در دیواره سلولی خود می‌باشند، درحالی‌که این لایه در باکتری‌های گرم منفی نازک‌تر است و ساختار سلولی آن‌ها اغلب متشکل از لیپوپروتئین و لیپوپلی‌ساکارید می‌باشد که منجر به مقاومت بیش‌تر باکتری نسبت به ترکیبات ضد میکروبی می‌گردد [۳۴]. جهت تأیید این فرضیه، انجام آزمون‌های تکمیلی از قبیل بررسی ویژگی‌های مورفولوژیکی سلول باکتری توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی و اندازه‌گیری میزان خروج گلوکز، لاکتات دهیدروژناز و پروتئین از سلول‌های باکتریایی پیشنهاد می‌گردد. علاوه براین، ترکیبات اصلی تشکیل دهنده عصاره آبی شیشه‌شور بایستی توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی شناسایی و تعیین مقدار گردند. با جداسازی و خالص‌سازی این ترکیبات و بررسی فعالیت ضد میکروبی آن‌ها می‌توان به طور دقیق‌تری در مورد ساز و کار ضدمیکروبی عصاره آبی شیشه‌شور بحث نمود. با این‌حال، با مقایسه اثر ضد میکروبی عصاره‌های آبی، اتانولی و کلروفرمی برگ گیاه شیشه‌شور،Krishna و همکاران گزارش نمودند که عصاره کلروفرمی دارای بالاترین اثر ضدمیکروبی بود و عصاره آبی فاقد فعالیت ضدمیکروبی بر باکتری‌های

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-09]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1399.19.5.3.4]
[DOI: 10.29252/jrums.19.5.463]

باسیلوس سوبتلیس، *باسیلوس پومیلیس* و *اشرشیا کلی* بود [۳۵]. به طور کلی شاید بتوان دلیل اختلاف بین نتایج مطالعه‌های مختلف انجام شده در جهان را به عوامل مختلفی همانند گونه گیاه، شرایط کشت، نوع خاک، شرایط آب و هوایی، نوع عصاره‌گیری و حلال‌های مورد استفاده جهت عصاره‌گیری نسبت داد [۳۲-۳۱].

آنتی‌اکسیدان‌ها نقش اساسی در کنترل و درمان بیماری‌ها دارند و فلاوونوئیدها و ترکیبات فنولی به‌عنوان منابع طبیعی آنتی‌اکسیدانی موجود در گیاهان دارویی شناخته می‌شوند [۳۶]. ترکیبات فلاوونوئیدی متعددی از قبیل callistine A، 6,7-dimethyl-5,7-dihydroxy-4'-methoxy flavone، astragalin، quercetin، catechin، eucalyptin و 8-demethyleucalyptin در ساقه و برگ گیاه شیشه‌شور شناسایی شده‌اند [۳۷]. از دیگر ترکیبات فنولی شناسایی شده در گیاه شیشه‌شور می‌توان به blumenol A، *n*-tetratriacontanol، gallic acid، methyl gallate، protocatechuic acid، β-sitosterol و 2,6,10-bisabolatriene اشاره نمود [۳۸]. محتوای فنول و فلاوونوئید کل عصاره آبی شیشه‌شور به ترتیب ۱۰۲/۱۷ میلی‌گرم گالیک اسید و ۴۴/۹۵ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن خشک بود. محتوای فنول کل از ۱۲۳/۳۰ تا ۵۴۸/۸۵ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم عصاره‌های الکلی خشک برگ شیشه‌شور در مطالعه Saad و همکاران گزارش شده است [۳۹]. در مطالعه‌ای دیگر، مشخص گردید که عصاره متانولی شیشه‌شور دارای میزان فنول کل (۲۲۵/۱۱ در برابر ۱۰۹/۶۴ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم عصاره) و فلاوونوئید کل (۶/۸۸ در برابر ۳/۶۸ میلی‌گرم روتین بر گرم عصاره) بالاتری نسبت به عصاره اتیل استات است که دلیل این امر به اثر حلال بر محتوای ترکیبات فنولی هنگام استخراج نسبت داده شد [۴۰]. میزان فنول کل حدود ۱۰۰ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم و فلاوونوئید کل حدود ۲۵ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم عصاره آبی برگ شیشه‌شور در مطالعه Ahmed و Rahman گزارش گردید [۴۱]. تفاوت در میزان فنول و فلاوونوئید کل در این مطالعه با سایر مطالعات به شرایط مختلف آب و هوایی و جغرافیایی محل رشد گیاه از قبیل نوع خاک، میزان آب و ارتفاع محیط و هم‌چنین روش‌های مختلف اندازه‌گیری و بیان نتایج این دو ترکیب وابسته می‌باشد [۴۲]. بنابراین، شناسایی و اندازه‌گیری ترکیبات فنولی و فلاوونوئیدی عصاره آبی شیشه‌شور توسط روش‌های تجزیه‌ای دقیق‌تر از قبیل کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا پیشنهاد می‌گردد.

رادیکال‌های آزاد سبب تغییر عملکرد طبیعی ماکرومولکول‌های سلولی مانند کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها، لیپیدها و نوکلئیک اسیدها و در نهایت تسریع صدمات التهابی، آب‌مروارید، سرطان، پیری و سایر بیماری‌های وابسته می‌شوند [۴۳]. بنابراین، دریافت مقادیر کافی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی جهت جلوگیری و درمان این اختلالات ضروری می‌باشد. ترکیبات فلاوونوئیدی و فنولی نقش مهمی در فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان دارویی ایفاء می‌کنند. فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره آبی شیشه‌شور وابسته به غلظت بود و غلظت‌های بالاتر قدرت مهارکنندگی قوی‌تری در برابر رادیکال‌های آزاد نشان دادند. قابلیت اسانس شیشه‌شور در مهار رادیکال آزاد DPPH به‌صورت تابعی از غلظت اسانس در

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-09]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1399.19.5.3.4]
[DOI: 10.29252/jrums.19.5.463]

مطالعه Abdelhady و همکارش نشان داده شده است، به طوری‌که بالاترین درصد مهارکنندگی (۹۱/۱ درصد) در غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر اسانس به‌دست آمد [۴۴]. با مطالعه عالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی گل، برگ و ساقه شیشه‌شور بر پایه روش آنتی‌اکسیدانی DPPH، Jamzad و همکاران گزارش نمودند که بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۹۳/۳۲ درصد) در عصاره حاصل از گل‌های گیاه به‌دست آمد و درصد مهارکنندگی رادیکال عصاره متانولی برگ و ساقه گیاه به ترتیب ۶۴/۱۱ و ۴۴/۱۷ درصد بود [۴۵]. در مطالعه‌ای دیگر، فعالیت آنتی‌اکسیدانی (مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و ABTS) عصاره اتیل‌استات و متانول شیشه‌شور مورد بررسی قرار گرفت. نتایج پتانسیل آنتی‌اکسیدانی نشان داد که IC_{50} عصاره اتیل‌استات (۰/۲۵ ± ۲/۴۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) کمتر از عصاره متانولی (۰/۲۴ ± ۱/۳۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) در روش DPPH بود. هم‌چنین در روش ABTS نیز IC_{50} عصاره اتیل‌استات و متانولی به ترتیب ۰/۳۶ ± ۰/۸۰ و ۰/۵۲ ± ۰/۵۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود [۴۰]. مقایسه نتایج این پژوهش‌گران با مطالعه حاضر نشان می‌دهد که اختلاف میان اعداد گزارش شده برای پتانسیل آنتی‌اکسیدانی ممکن است ناشی از شرایط کشت گیاه، شرایط آب و هوایی، زمان جمع‌آوری گیاه و هم‌چنین نوع حلال مورد استفاده و روش اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی باشد [۴۸-۴۶]. فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره آبی گیاه شیشه‌شور عمدتاً ناشی از ترکیبات فنولی و فلاوونوئیدی آن است، به‌طوری‌که حضور کشش پیوند O-H الکل/فنول، C-H آلکیل و C=O آلدئید، کتون، استر و کربوکسیلیک اسید در طیف FTIR عصاره آبی شیشه‌شور تأیید گردید [۴۹]. با این‌حال، مطالعات بیش‌تری جهت شناسایی ترکیبات مسئول فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره آبی این گیاه نیاز می‌باشد. علاوه براین، ترکیبات زیست فعال گیاهان دارویی دارای جنبه‌های واکنش‌پذیری پیچیده‌ای می‌باشند و بنابراین پیشنهاد می‌شود که آزمون‌های آنتی‌اکسیدانی مختلفی جهت تعیین و صحت فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس‌های گیاهی استفاده گردند. دو آزمون آنتی‌اکسیدانی استفاده شده در این مطالعه بر پایه اهداء هیدروژن از عصاره آبی شیشه‌شور به رادیکال‌های آزاد DPPH و ABTS استوار می‌باشند و بنابراین پیشنهاد می‌شود که از سایر روش‌های آنتی‌اکسیدانی برپایه اهداء الکترون (مانند قدرت کاهندگی) و شلاته کنندگی (شلاته کردن فلزات واسطه) جهت بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره آبی شیشه‌شور استفاده شود.

ترکیبات فنولی و فلاوونوئیدی فعالیت ضد سرطانی قابل توجهی نشان می‌دهند. نتایج حاکی از آن است که با افزایش غلظت عصاره آبی گیاه شیشه‌شور، تأثیر بر رده سلولی سرطانی HT29 افزایش پیدا کرد و درصد زنده مانی آن کاهش یافت. در راستای نتایج این مطالعه، سمیت سلولی اسانس برگ و گل گیاه شیشه‌شور در برابر سرطان ریه انسان (A549)، گلیومای موش (C-6)، سرطان روده بزرگ انسان (Colo-205) و سرطان دهانه رحم (siHa) توسط Kumar و همکاران بررسی گردید. مطابق نتایج این محققین، سمیت سلولی وابسته به غلظت اسانس گل و برگ بود و بالاترین فعالیت سمیت سلولی در برابر سلول‌های A594 و C-6 مشاهده شد. اما اثرات اسانس بر سلول‌های SiHa و Colo-205 ناچیز بود [۱۶]. اثر سمیت

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-09]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1399.19.5.3.4]
[DOI: 10.29252/jrums.19.5.463]

سلولی قابل توجه عصاره‌های الکلی و آبی برگ شیشه‌شور در برابر سلول‌های سرطانی در مطالعهSaad و همکاران نیز گزارش شده است [۳۹]. علاوه بر این، غلظت پایین متیل اوژنول (ترکیب زیست فعال گیاه شیشه‌شور) دارای اثر ضد توموری در برابر سرطان سینه است، اما غلظت‌های بالای آن منجر به ایجاد جهش در دزوکسی ریبونوکلئیک اسید و متعاقباً افزایش حساست به سرطان کبد می‌شود [۴۴]. بنابراین، گیاه شیشه‌شور حاوی ترکیبات زیست فعالی است که در غلظت‌های مشخص قادر به ایجاد فعالیت ضدسرطانی می‌باشند. در حقیقت، ترکیبات فنولی اثر ضدسرطانی خود را از طریق جلوگیری از آنزیم‌های متابولیک دخیل در فعال‌سازی عوامل سرطان‌زا و یا توقف سیکل سلول سرطانی بروز می‌دهند [۴۴]. لازم به ذکر است که در آزمون MTT، ترکیب تترازولیوم توسط آنزیم دهیدروژناز میتوکندری سلول زنده به فورمازان ارغوانی رنگ احیاء می‌شود که مقدار فورمازان تولیدی با اندازه گیری جذب محلول در ۵۷۰ نانومتر تعیین می‌گردد [۵۰]. بنابراین، ترکیبات احیاء کننده مانند پلی فنول‌ها قادر به احیاء کردن تترازولیوم به فورمازان و تداخل در این آزمون می‌باشند. در این راستا، پیشنهاد می‌شود که از آزمون‌های تکمیلی از قبیل زنده‌مانی سلول بر پایه ATP (Adenosine triphosphate) و ارزیابی ریزساختار سلول توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی جهت تأیید فعالیت ضدسرطانی عصاره‌های گیاهی غنی از ترکیبات فنولی استفاده گردد.

نتیجه‌گیری

نتایج فعالیت ضد باکتریایی عصاره آبی برگ شیشه‌شور نشان داد که فعالیت ضد میکروبی بر باکتری‌های گرم مثبت بیشتر از باکتری‌های گرم منفی بود. با این‌حال با توجه به نتایج به‌دست آمده از برهم‌کنش عصاره با آنتی‌بیوتیک‌های کلرامفنیکل و جنتامایسین و افزایش اثر ضد میکروبی (اثر سینرژیستی) به‌ویژه بر باکتری‌های گرم منفی پیشنهاد می شود به طور هم‌زمان از ترکیب آنتی‌بیوتیک و عصاره آبی شیشه‌شور استفاده شود. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که عصاره آبی برگ شیشه‌شور از پتانسیل آنتی‌اکسیدانی بالایی برخوردار است. با توجه به نتایج فعالیت آنتی‌اکسیدانی و فنول کل عصاره و هم‌چنین اثر سمیت سلولی عصاره بر رده سلولی HT29 به نظر می‌آید بتوان از پتانسیل بالقوه این گیاه در پیش‌گیری و درمان بیماری استفاده نمود. هرچند لازم است در ادامه پژوهش‌های بیش‌تری در شرایط مختلف (آزمایشگاهی و مدل حیوانی) انجام گیرد.

تشکر و قدردانی

مقاله حاضر مستخرج از پایان‌نامه کارشناسی ارشد می‌باشد، لذا نویسندگان مقاله بر خود لازم می‌دانند از معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان به دلیل حمایت های مادی و معنوی صمیمانه تشکر و قدردانی نمایند.

References

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-09]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1399.19.5.3.4]
[DOI: 10.29252/jrums.19.5.463]

[1] Minadipour MM, Sharifi, A. Evaluation of chemical composition and antioxidant activity of *Cydonia Oblonga* extract. *Innov Food Sci Technol* 2019; 10(1): 109-19. [Farsi]

[2] Lobo V, Patil A, Phatak A, Chandra N. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Phco Rev* 2010; 4(8): 118-26.

[3] Azadedel S, Hanachi P, Saboora A. Investigation on antioxidant activity of pistachio (*Pistacia vera L.*) skin extraction. *J Plant Res* 2018; 30(4): 722-31. [Farsi]

[4] Mirzaei A, Mohammadi J, Mirzaei N, Mirzaei M. The antioxidant capacities and total phenolic contents of some medicinal plants in Iran. *J Fasa Univ Med Sci* 2011; 1(3): 160-7. [Farsi]

[5] Jafari N, Naderi P, Ebrahimzadeh MA. Evaluation of phenolic content, total flavonoid and survey of antioxidant activity of leaves of *Ficus carica* and *Pterocarya fraxinifolia* trees using spectrophotometry and high-performance liquid chromatograph methods. *Iran J Plant Biol* 2015; 7(25): 1-16. [Farsi]

[6] Kiarostami Kh, Mosafa N. The study of antioxidant properties of *Lavandula angustifolia* in tissue culture. *J Plant Res* 2016; 28(4): 835-43. [Farsi]

[7] Salmanian SH, Sadeghi Mahoonak AR, KHomeiri M, Masteri Farahani MR. Phenolic acid content, antiradical and antimicrobial properties of *Mentha aquatic* leaf methanolic extract. *Iran J Nutr Sci Food Technol* 2013; 7(2): 145-54. [Farsi]

[8] Pedram Nia A, Mortazavi A, Nemat Shahi MM. Study of chemical compounds and the antimicrobial effects of leaf extract of *Laurus nobilis* L on various microbial strains. *Food Sci Technol* 2018; 15(81): 217-26. [Farsi]

[9] Majnouni MB, Ebiri R, Adibi H. Study of antimicrobial effects of *Trigonella Foenum* hydro-alcoholic extract on different bacterial strains. *Med Lab J* 2009; 3(1): 32-35. [Farsi]

[10] Mobaiyen H, Jafari Sales A, Sayyahi J. Evaluating Antimicrobial effects of centaurea plant's essential oil on pathogenic bacteria: *Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis*, and *Escherichia coli* isolated from clinical specimens. *J Fasa Univ Med Sci* 2016; 5(4): 479-87. [Farsi]

[11] Alizadeh Behbahani B, Tabatabaei Yazdi F, Shahidi F, Mohebbi M, Vasiee A. Antimicrobial effect aqueous and ethanolic extract of *Avicennia marina* on microorganisms the infection and intoxication in vitro. *J North Khorasan Univ Med Sci* 2014; 6(1): 99-109. [Farsi]

[12] Cock I. Antimicrobial activity of *Callistemon citrinus* and *Callistemon salignus* methanolic extracts. *Phcog Commn* 2012; 2(3): 50-57.

[13] Ashraf Mansuri SJA, Ramezanian M. Comparing the effect of methanolic and aquatic extract of *Callistemon viminalis* (SOl. Ex Gaertn.) G. Don with amphotericin B and their synergistic effects. *J Fasa Univ Med Sci* 2017; 7(1): 86-93. [Farsi]

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-09]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1399.19.5.3.4]

[DOI: 10.29252/jrums.19.5.463]

[14] Larayetan RA, Okoh OO, Sadimenko A, Okoh AI. Terpene constituents of the aerial parts, phenolic content, antibacterial potential, free radical scavenging and antioxidant activity of *Callistemon citrinus* (Curtis) Skeels (Myrtaceae) from Eastern Cape Province of South Africa. *BMC Complement Altern Med* 2017; 17(1): 292.

[15] Sampath S, Veeramani V, Krishnakumar GS, Sivalingam U, Madurai SL, Chellan R. Evaluation of in vitro anticancer activity of 1, 8-Cineole–containing n-hexane extract of *Callistemon citrinus* (Curtis) Skeels plant and its apoptotic potential. *Biomed Pharmacother* 2017; 93: 296-307.

[16] Kumar D, Sukapaka M, Babu GDK, Padwad Y. Chemical composition and in vitro cytotoxicity of essential oils from leaves and flowers of *Callistemon citrinus* from western Himalayas. *Plos One* 2015; 10(8): e0133823.

[17] Mirzaei R, Mirzaei H, Alikhani MY, Sholeh M, Arabestani MR, Saidijam M, et al. Bacterial biofilm in colorectal cancer: What is the real mechanism of action?. *Microb Pathogenesis* 2020; 142: 104052.

[18] International Agency for Research on Cancer. Cancer Fact Sheets. Available online: http://gco.iarc.fr/today/factsheets-cancers. Last access: July 4, 2019.

[19] Dalali Isfahani L, Monajemi R, Amjad L. Cytotoxic effects of extract and essential oil leaves of *Achillea wilhelmsii* C. Koch on colon cancers cells. *Exp Anim Biol* 2013; 1(3): 1-6.

[20] Abdalan S, Baghbani-Arani F, Sadat Shandiz SA. Evaluation of anticancer effect of aqueous and hydroalcoholic extracts of *Quercusin fectoria* leaf against colon cancer HT29 cell line. *J Arak Univ Med Sci* 2018; 21(4): 48-57. [Farsi]

[21] Schwarz SB, Schaffer PM, Kulka U, Ertl-Wagner B, Hell R, Schaffer M. The effect of radio-adaptive doses on HT29 and GM637 cells. *Radiat Oncol* 2008; 3(1): 1-6.

[22] Seyydnejad SM, Niknejad M, Darabpoor I, Motamedi H. Antibacterial activity of hydroalcoholic extract of *Callistemon citrinus* and *Albizia lebbeck*. *Am J Appl Sci* 2010; 7(1): 13-16.

[23] Alizadeh Behbahani B, Noshad M, Falah F. Study of chemical structure, antimicrobial, cytotoxic and mechanism of action of *Syzygium aromaticum* essential oil on foodborne pathogens. *Potravinarstvo Slovak J Food Sci* 2019; 13(1): 875-83.

[24] Dehghan N, Barzegar H, Mehrnia MA, Jooyandeh H. Investigation on the effect of Methanolic Bene (*pistachia atlantica*) hull extract on oxidative stability of soybean oil. *Innov Food Technol* 2018; 5(3): 499-507. [Farsi]

[25] Zhishen J, Mengcheng T, Jianming W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem* 1999; 64(4): 555-9.

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-09]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1399.19.5.3.4]
[DOI: 10.29252/jrums.19.5.463]

[26] Ansaripour A, Mehrnia M. A, Noshad M, Barzegar H, Alizadeh Behbahani B. Antimicrobial effect of garlic essential oil on a number of foodborne pathogens and determination of its chemical composition and antioxidant activity. *Food Sci Technol* 2019; 16(91): 17-29. [Farsi]

[27] Alizadeh Behbahani B, shahidi F, Tabatabai Yazdi F, Mortazavi A, Mohebbi M. The antimicrobial effect and interaction between the aqueous and ethanolic extracts of *Plantago major* on *Staphylococcus aureus, Listeria Inocova, Escherichia coli,* and *Pseudomonas aeruginosa* in vitro. *Iran J Infect Dis and Trop Med* 2017; 21(75): 1-8. [Farsi]

[28] Khosravi A, Malecan M. Effects of *Lavandula stoechas* extracts on *Staphylococcus aureus* and other gram negative bacteria. *J Qazvin Univ Med Sci* 2004; 7(5): 3-9. [Farsi]

[29] Derakhshan S, Sattari M, Bigdeli M, Zarei Eskikand N. Antibacterial activity of essential oils from Artemisia and Cumin plants against *Staphylococcus aureus, Escherichia coli* and *Vibrio cholera*. *J Qazvin Univ Med Sci* 2011; 15(1): 6-14. [Farsi]

[30] Mahmodi R, Amini K, Asadi Dashbolagh J, Farhoodi A. Antioxidant and antibacterial properties of the *Melissa officinalis* essential oil. *J Qazvin Univ Med Sci* 2016; 20(2): 49-57. [Farsi]

[31] Alizadeh Behbahani B, Noshad M, Falah F. Cumin essential oil: Phytochemical analysis, antimicrobial activity and investigation of its mechanism of action through scanning electron microscopy. *Microb Pathogenesis* 2019; 136: 103716.

[32] Barzegar H, Alizadeh Behbahani B, Mehrnia M. A. Identification of the chemical compounds andantibacterial activity of *Ocimum basilicum* essential oil and the effects of its interaction with tetracycline and chloramphenicol antibiotics on some pathogenic microorganisms causing infection and food poisoning. *Food Sci Technol* 2019; 16(90): 113-25. [Farsi]

[33] Oyedeji OO, Lawal OA, Shode FO, Oyedeji AO. Chemical composition and antibacterial activity of the essential oils of *Callistemon citrinus* and *Callistemon viminalis* from South Africa. *Molecules* 2009; 14(6): 1990-8.

[34] Heidari-Sureshjani M, Tabatabaei-Yazdi F, Alizadeh-Behbahani B, Mortazavi A. Antimicrobial effect of aqueous, ethanol, methanol and glycerin extracts of *Satureja bachtiarica* on *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus epidermidis*. *Zahedan J Res Med Sci* 2015; 17(7): e1011.

[35] Krishna K, Surendra G, Anjana M, Siva Nagini K. Phytochemical screening and antimicrobial activity of *Callistemon citrinus* (L.) l*eaves* extracts. *Int J Pharm Tech Res* 2012; 4(2): 700-4.

[36] Hosseinimehr SJ, Pourmorad F, Shahabimajd N, Shahrbandy K, and Hosseinzadeh R. In vitro antioxidant activity of *Polygonium hyrcanicum*, *Centaurea depressa*, *Sambucus ebulus*, *Mentha spicata*

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-09]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1399.19.5.3.4]
[DOI: 10.29252/jrums.19.5.463]

and *Phytolacca americana*. *Pakistan J Biol Sci* 2007; 10(4): 637-40.

[37] Cuong NM, Khanh PN, Duc HV, Huong TT, Kim YC, Long PQ, et al. Flavonoids and triterpenoids from *Callistemon citrinus* and their inhibitory effect on no production in LPS-stimulated Raw264.7 macrophages. *Vietnam J Sci Technol* 2016; 54(2): 214-23.

[38] Khanh PN, Đuc HV, Huong TT, Ha VT, Van DT, Kim YH, et al. Phenolic compounds from *Callistemon citrinus* leaves and stems. *Vietnam J Sci Technol* 2016; 54(2): 190-7.

[39] Saad AM, Abdel-Aleem AAH, Ghareeb MA, Hamed MM, Abdel-Aziz MS, Hadad AH. In vitro antioxidant, antimicrobial and cytotoxic activities and green biosynthesis of silver & gold nanoparticles using *Callistemon citrinus* leaf extract. *J App Pharm Sci* 2017; 7(06): 141-9.

[40] Larayetan R, Ololade ZS, Ogunmola OO, Ladokun A. Phytochemical constituents, antioxidant, cytotoxicity, antimicrobial, antitrypanosomal, and antimalarial potentials of the crude extracts of *Callistemon citrinus*. *Evid-Based Compl Alt* 2019; 2019: 1-14.

[41] Ahmed F, Rahman MS. Preliminary assessment of free radical scavenging, thrombolytic and membrane stabilizing capabilities of organic fractions of *Callistemon citrinus* (Curtis.) skeels leaves. *BMC Compl Alt Med* 2016; 16(1): 1-8.

[42] Barzegar H, Behbahani BA, Mehrnia MA. Quality retention and shelf life extension of fresh beef using Lepidium sativum seed mucilage-based edible coating containing *Heracleum lasiopetalum* essential oil: an experimental and modeling study. *Food Sci Biotechnol* 2020; 29: 717–28.

[43] Schetter AJ, Heegaard NH, Harris CC. Inflammation and cancer: interweaving microRNA, free radical, cytokine and p53 pathways. *Carcinogenesis* 2010; 31(1): 37-49.

[44] Abdelhady MI, Aly HAH. Antioxidant antimicrobial activities of *callistemon comboynensis* essential oil. *Free Radical Antioxid* 2012; 2(1): 37-41.

[45] Jamzad M, Kazembakloo A, Tehrani AD, Rostami F. Essential oil composition and antioxidant activity of hydromethanolic extract from the flowers, leaves and stems of *Callistemon citrinus* (Curtis) Skeels. *Indian J Nat Prod Resour* 2015; 5(4): 308-12.

[46] Alizadeh Behbahani B, Shahidi F, Yazdi FT, Mortazavi SA, Mohebbi M. Antioxidant activity and antimicrobial effect of tarragon (*Artemisia dracunculus*) extract and chemical composition of its essential oil. *J Food Meas Charact* 2017; 11(2): 847-63.

[47] Noshad M, Hojjati M, Alizadeh Behbahani B. Black Zira essential oil: Chemical compositions and antimicrobial activity against the growth of some pathogenic strain causing infection. *Microb Pathogenesis* 2018; 116: 153-7.

[48] Yeganegi M, Yazdi FT, Mortazavi SA, Asili J, Alizadeh Behbahani B, Beigbabaei A. *Equisetum telmateia* extracts: Chemical compositions, antioxidant activity

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-09]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1399.19.5.3.4]
[DOI: 10.29252/jrums.19.5.463]

and antimicrobial effect on the growth of some pathogenic strain causing poisoning and infection. *Microb Pathogenesis* 2018; 116: 62-67.

[49] Fayemi PO, Ozturk I, Kaan D, Özcan S, Yerer MB, Dokumaci AH, et al. Bioactivities of phytochemicals in *Callistemon citrinus* against multi-resistant foodborne pathogens, alpha glucosidase inhibition and MCF-7 cancer cell line. *Biotechnol Biotech Eq* 2019; 33(1): 764-78.

[50] Van Tonder A, Joubert AM, Cromarty AD. Limitations of the 3-(4, 5-dimethylthiazol-2-yl)-2, 5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide (MTT) assay when compared to three commonly used cell enumeration assays. *BMC Res Notes* 2015; 8(1): 1-10.

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-09]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1399.19.5.3.4]

[DOI: 10.29252/jrums.19.5.463]

Investigation of the Functional Groups of Bioactive Compounds, Radical Scavenging Potential, Antimicrobial Activity and Cytotoxic Effect of *Callistemon Citrinus* Aqueous Extract on Cell Line HT29: A Laboratory Study

Z. Sosani Gharibvand[1], B. Alizadeh Behbahani[2], M. Noshad[3], H. Jooyandeh[4]

Received: 22/02/2020 Sent for Revision: 09/06/2020 Received Revised Manuscript: 27/06/2020 Accepted: 05/07/2020

Background and Objectives: The extensive use of chemical drugs for the treatment and control of chronic and infectious diseases as well as colorectal cancer, has led to an increased demand for natural and safe drugs and preservatives. Therefore, this study aimed to evaluate the presence of functional groups of constituents, total phenol and flavonoids content, radical scavenging potential, and antimicrobial activity of *Callistemon citrinus* aqueous extract (CCE). Its interaction with common therapeutic antibiotics and cytotoxic effect on cell line HT29 was also evaluated.

Materials and Methods: In this laboratory study, the presence of functional groups of chemical constituents of *C. citrinus* aqueous extract was evaluated by Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy. Free radical scavenging activity, total phenol and flavonoids content, antimicrobial activity of *C. citrinus* aqueous extract and its interaction with chloramphenicol and gentamicin antibiotics, and the viability of cell line HT29 (through MTT [3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide] test) under different concentrations of *C. citrinus* aqueous extract were investigated. Data were analyzed using one-way ANOVA followed by Duncan's test.

Results: The *C. citrinus* aqueous extract had a considerable antimicrobial effect on *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa, Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus,* and *Listeria innocua*. The free radicals scavenging effect of *C. citrinus* aqueous extract was in the range of 51.33-71.68%. The presence of C-C and OH groups of phenolic compounds of *C. citrinus* aqueous extract was confirmed by FTIR. After 24 hours, the different concentrations of *C. citrinus* aqueous extract reduced the growth of cell line HT29 compared to the control group ($p<0.05$).

Conclusion: The *C. citrinus* aqueous extract had antimicrobial activity, antioxidant potential and inhibitory effect on cell line HT29. Therefore, the use of *C. citrinus* aqueous extract could be suggested in pharmaceutical and food industries.

Key words: Cytotoxic effect, Minimum inhibitory concentration, In vitro, *Callistemon citrinus* aqueous extract

Funding: This study was funded by Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan.

Conflict of interest: None declared.

Ethical approval: This study has been approved by the Research Deputy of Agricultural Science and Natural Resources of University of Khuzestan and Iranian Research Institute for Information Science and Technology (IR.AC.IRANDOC. SABT.1520449).

How to cite this article: Sosani Gharibvand Z, Alizadeh Behbahani B, Noshad M, Jooyandeh H. Investigation of the Functional Groups of Bioactive Compounds, Radical Scavenging Potential, Antimicrobial Activity and Cytotoxic Effect of Callistemon Citrinus Aqueous Extract on Cell Line HT29: A Laboratory Study. *J Rafsanjan Univ Med Sci* 2020; 19 (5): 463-84. [Farsi]

1- MSc Student of Food Science and Technology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran, ORCID: 0000-0001-7194-0903

2- Assistant Prof., Dept. of Food Science and Technology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran, ORCID: 0000-0002-1447-5088

(Corresponding Author) Tel: (061) 36522425, Fax: (061) 36522425, E-mail: b.alizadeh@asnrukh.ac.ir

3- Assistant Prof., Dept. of Food Science and Technology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran, ORCID: 0000-0002-4060-9254

4- Associate Prof., Dept. of Food Science and Technology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran, ORCID: 0000-0002-1516-7052

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-09]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1399.19.5.3.4]
[DOI: 10.29252/jrums.19.5.463]