DOI: 10.48305/jims.v43.i846.1923

مجله دانشکده پزشکی اصفهان — سال چهل و سوم/شماره‌ی ۸۴۶/هفته‌ی دوم اسفند ۱۴۰۴

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۱۰/۰۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۱۱/۲۷ تاریخ چاپ: ۱۴۰۴/۱۲/۱۴

بررسی فعالیت ضدباکتریایی عصاره‌های آبی، اتانولی و گلیکولی پروپولیس و عسل برضد باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک: رویکردی با کاربردهای درمانی بالقوه

شهرام دادگستر[1]، محمد ربانی خوراسگانی[2]، سعید احمدی مجد[2]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: هدف این مطالعه، ارزیابی اثرات ضدباکتریایی عصاره‌های آبی (PWE)، اتانولی (PEE) و پروپیلن‌گلیکولی (PPE) بره موم (پروپولیس) و همچنین عسل، علیه باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک و بررسی ارتباط این اثرات با میزان ترکیبات فنلی و اسیدهای چرب آن‌ها می‌باشد.

روش‌ها: سویه‌های باکتریایی *Staphylococcus aureus*، *Escherichia coli* و *Pseudomonas aeruginosa* با الگوهای مقاومت چند آنتی‌بیوتیکی تأیید شده، با استفاده از آزمایش هاله در آگار و رقیق‌سازی در محیط مایع مورد آزمایش قرار گرفتند. عصاره‌های پروپولیس با روش خیساندن تهیه، لیوفیلیزه شده و در غلظت‌های مشخص بازسازی شدند. میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی به‌ترتیب با روش فولین- سیوکالتیو و HPLC و با استفاده از استانداردهای تجاری اسید گالیک، کاتچین و کوئرستین اندازه‌گیری شد. تجزیه اسیدهای چرب نیز پس از تبدیل به متیل‌استر، با کروماتوگرافی گازی و با بهره‌گیری از استانداردهای مناسب انجام گرفت.

یافته‌ها: PPE قوی‌ترین فعالیت ضدباکتریایی را نشان داد؛ به‌طوری‌که بیشترین قطر نواحی مهار شده (تا ۶/۳ میلی‌متر) و کمترین مقادیر MIC (۰/۰۴۱ تا ۰/۳۲۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) را در تمام سویه‌ها داشت. همچنین *S. aureus* بیشترین حساسیت و *E. coli* بیشترین مقاومت را نشان داد. از طرف دیگر میزان کل فنل‌ها و فلاونوئیدها در PEE و PPEبیشتر از PWE و عسل بود. بررسی اسیدهای چرب نیز نشان داد که عصاره‌های PPE و PEE حاوی سطوح بالاتری از اسید لینولئیک و اولئیک هستند.

نتیجه‌گیری: عصاره‌های PPEو PEE فعالیت ضدباکتریایی قدرتمندی علیه باکتری‌های مقاوم به چند آنتی‌بیوتیک نشان می‌دهند که این امر با میزان ترکیبات فنلی و اسیدهای چرب آن‌ها مرتبط است. این نتایج، ضرورت بررسی‌های بیشتر جهت استفاده از عصاره‌های پروپولیس به‌عنوان جایگزین‌های طبیعی در مقابله با مقاومت آنتی‌بیوتیکی را تأیید می‌کند.

واژگان کلیدی: پروپولیس؛ عسل؛ مقاومت آنتی‌بیوتیکی؛ بیوفیلم‌های باکتریایی؛ استرس اکسیداتیو؛ درمان‌های مکمل

ارجاع: دادگستر شهرام، ربانی خوراسگانی محمد، احمدی مجد سعید. **بررسی فعالیت ضدباکتریایی عصاره‌های آبی، اتانولی و گلیکولی پروپولیس و عسل برضد باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک: رویکردی با کاربردهای درمانی بالقوه.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۴۰۴؛ ۴۳ (۸۴۶): ۱۹۲۳- ۱۹۳۲.

مقدمه

مقاومت آنتی‌بیوتیکی یکی از جدی‌ترین تهدیدهای بهداشت عمومی در قرن ۲۱ به شمار می‌رود که سازمان جهانی بهداشت (World Health Organization) WHO آن را در فهرست ده چالش اصلی سلامت جهانی قرار داده است (۱). پیش‌بینی‌ها نشان می‌دهد که در صورت عدم مداخله مؤثر، مقاومت‌های میکروبی سالانه می‌تولند جان حدود ۱۰ میلیون نفر را تا سال ۲۰۵۰ بگیرد. پاتوژن‌های مقاوم به چند آنتی بیوتیک دارویی (MDR) همچون *Staphylococcus aureus*، *Escherichia coli* و *Pseudomonas aeruginosa* به‌طور ویژه اهمیت دارند؛ زیرا عفونت‌های شدید و تهدیدکننده زندگی ایجاد و به‌طور فزاینده‌ای در برابر آنتی‌بیوتیک‌های موجود غیرحساس شده‌اند (۲).

برای مقابله با این بحران رو به رشد، محصولات طبیعی به‌عنوان گزینه‌هایی جایگزین یا مکمل درمان‌های موجود مورد توجه قرار گرفته‌اند. فرآورده‌های زنبورعسل، از جمله پروپولیس و عسل، به دلیل خواص ضدباکتریایی، آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی گسترده، توجه علمی قابل‌توجهی را به خود جلب کرده‌اند (۳، ٤). پروپولیس، ماده‌ای رزینی است که زنبورها آن را از ترشحات گیاهی جمع‌آوری کرده و سرشار از اسیدهای فنلی، فلاونوئیدها، ترپن‌ها و اسیدهای چرب می باشند که

۱- پژوهشکده زنبورعسل و گیاهان دارویی پردیس خوانسار، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

۲- گروه زیست‌شناسی سلولی- مولکولی و میکروبیولوژی، دانشکده علوم و فناوری زیستی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: شهرام دادگستر: پژوهشکده زنبورعسل و گیاهان دارویی پردیس خوانسار، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

Email: sh.dadgostar@khc.ui.ac.ir

اثرات فارماکولوژیک آن را تعیین می‌کنند (۳، ۵). فعالیت ضدباکتریایی پروپولیس عمدتاً به فلاونوئیدها و اسیدهای آروماتیک نظیرCAPE ، پینوسمبرین، گالانجین و کرایسین نسبت داده می‌شود که علیه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی اثرگذاری نشان داده‌اند (٦).

مطالعات مختلفی اثربخشی پروپولیس بر پاتوژن‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک را مورد تأیید قرار داده‌اند. برای نمونه، Scazzocchio و همکاران، اثرات مهاری قابل‌توجهی بر MRSA و VRE گزارش کرده‌اند (۷). تحقیقات جدیدتر نیز نشان داده‌اند که پروپولیس می‌تواند تشکیل بیوفیلم باکتریایی را تعدیل کرده و حتی در ترکیب با آنتی‌بیوتیک‌های متداول، اثرات هم‌افزا ایجاد کند (۸، ۹). این ویژگی‌ها، پروپولیس را به گزینه‌ای ارزشمند در مواجهه با چالش مقاومت دارویی تبدیل می‌کند.

عسل نیز به‌عنوان یک عامل ضدباکتری طبیعی شناخته شده است. فعالیت ضد میکروبی آن چندعاملی است و شامل تولید هیدروژن پراکسید، اثرات اسمزی، و حضور ترکیبات فیتوشیمیایی فعال مانند متیل‌گلیوکسال و اسیدهای فنلی می‌شود (۱۰، ۱۱). عسل مانوکا به دلیل اثرات قوی ضدباکتریایی به‌خوبی مطالعه شده است، اما عسل‌های بومی مانند عسل کُنار (Ziziphus) ایران نیز فعالیت ضدباکتریایی قابل‌توجهی نشان داده‌اند (۱۲). با این حال، قدرت ضدباکتریایی عسل معمولاً کمتر از پروپولیس بوده که این امر ناشی از غلظت پایین‌تر ترکیبات فنلی در عسل می‌باشد (۱۳).

با وجود مطالعات متعدد زمینه ی اثرات ضدباکتریایی محصولات زنبورعسل، ارزیابی‌های مقایسه‌ای بین عصاره‌های پروپولیس با حلال‌های مختلف و عسل همچنان محدود است. علاوه بر این، بررسی ارتباط بین ترکیبات شیمیایی (به‌ویژه فنول‌ها و اسیدهای چرب) و فعالیت‌های ضدباکتریایی ضرورت دارد. مطالعه‌ی حاضر با هدف رفع این چالش ها، به ارزیابی جامع عصاره‌های آبی (PWE)، اتانولی (PEE) و گلیکولی (PPE) پروپولیس و نیز عسل کنار ایرانی در برابر سویه‌های مقاوم به آنتی بیوتیک *S. aureus* ، *E. coli* و *P. aeruginosa* پرداخته است. همچنین ارتباط میان فعالیت ضدباکتریایی با میزان ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و اسیدهای چرب بررسی شده و جنبه‌های جدیدی درباره ترکیبات زیست‌فعال مؤثر در محصولات زنبورعسل ارائه می‌شود. از طرف دیگر در این پژوهش به جنبه درمانی عصاره‌های مختلف پروپولیس با پتانسیل استفاده در صنایع دارویی نظیر پمادهای ضد سوختگی و ترکیبات ضد باکتریایی پرداخته شده است.

در تدوین این پژوهش، اصل امانتداری و صداقت استناد به متون مورد استفاده، اصالت منابع و پرهیز از جانبداری در مراجعه به متون یا تحلیل‌ها، رعایت شده است.

روش‌ها

تهیه نمونه‌ها

نمونه های پروپولیس در سال ۲۰۲۳ از زنبورداری‌های استان اصفهان ایران جمع‌آوری شد. سه نوع عصاره‌ی اتانولی (PEE)، عصاره‌ی آبی (PWE) و عصاره‌ی مبتنی بر پروپیلن‌گلیکول (PPE) بر اساس روش بانکووا و همکاران با غلظت ۳۰٪ وزنی/حجمی بعنوان غلظت بهینه برای استخراج همزمان ترکیبات فنلی و اسیدهای چرب، تهیه گردید (۳، ۵). بدین منظور، ۳۰ گرم پروپولیس خام آسیاب شده و به مدت ۷ روز در ۱۰۰ میلی‌لیتر از هر یک از حلال‌ها در دمای محیط خیسانده شد. پس از فیلتراسیون، عصاره‌ها لیوفیلیزه شدند و برای آزمون با غلظت‌های مشخص در حلال استریل مورد استفاده قرار گرفتند. عسل کنار ایرانی نیز از استان خوزستان تهیه و پس از تصفیه، ناخالصی‌ها و کف آن حذف شد.

سویه‌های باکتریایی

ایزوله‌های باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک شامل *S. aureus* (مقاوم به اگزاسیلین و اریترومایسین)، *E. coli* (مقاوم به آمپی‌سیلین، سیپروفلوکساسین و تتراسایکلین)، و *P. aeruginosa* (مقاوم به کاربانپنم‌ها و سفتازیدیم) از آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشگاه اصفهان تهیه شد. همچنین الگوهای مقاومت با استفاده از روش انتشار دیسکی مطابق دستورالعمل CLSI تأیید گردید.

ارزیابی فعالیت ضدباکتریایی

آزمون انتشار در آگار

پلیت‌های مولر– هینتون با ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری (۱/۵ × ۱۰۸ CFU/mL) تلقیح شدند. چاهک‌هایی با قطر ٦ میلی‌متر ایجاد و با ۵۰ میکرولیتر از هر نوع عصاره یا عسل پر شدند. پلیت‌ها به مدت ٢٤ ساعت در ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد انکوبه و قطر هاله مهاری اندازه‌گیری شد.

حداقل غلظت مهاری (MIC)

MIC با روش رقیق‌سازی در محیط مایع تعیین شد. عصاره‌ها در دامنه‌ی غلظتی ۰/۰۲–۵/۲۲ mg/mL به‌صورت سریالی رقیق و به چاهک‌های حاوی باکتری (۵ × ۱۰۵ CFU/mL) اضافه گردیدند. کنترل مثبت جنتامایسین (۱۰μg/mL) و کنترل منفی حلال بود. همچنین MIC به‌عنوان کمترین غلظت بدون رشد قابل مشاهده تعریف شد.

MICبا روش رقیق‌سازی در محیط مایع و در سه تکرار مستقل (n = ۳) تعیین شد. عدم رشد به‌صورت چشمی تأیید و نتایج به‌صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش گردید.

تعیین میزان ترکیبات فنلی کل

مقدار کل فنول‌ها با روش فولین– سیوکالتیو و با استفاده از استاندارد اسید گالیک (۰–۲۵۰ mg/L) تعیین و بر حسب mg GAE/g عصاره گزارش شد.

تعیین میزان فلاونوئیدها

لندازه‌گیری فلاونوئیدها با دستگاه HPLC مدل LC-2030C (Shimadzu)و ستون C18 انجام شد. فازهای متحرک شامل آب/اسید استیک (A) و استونیتریل (B) با دبی ۰/۹ mL/min و آشکارسازی در محدوده‌ی ۲۰۰–۸۰۰ nm بود (۱۳).

تجزیه اسیدهای چرب

متیل‌استرهای اسید چرب (FAMEs) از طریق واکنش یک گرم نمونه با پتاسیم پرمنگنات و برومین فلورین در محیط متانولی تهیه شدند (۱٤). سپس نمونه‌ها با کروماتوگرافی گازی (Varian CP-3800) مجهز به ستون BPX70، گاز حامل هلیوم (bar۲۵)، و آشکارساز FID در دمای ۲۵۵ درجه‌ی سانتی‌گراد تحلیل شدند.

تحلیل آماری با نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲٦ (version 26, IBM Corporation, Armonk, NY) انجام شد. آزمون ANOVA یک‌طرفه و سطح معنی‌داری P < ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

فعالیت ضدباکتریایی

نتایج آزمون انتشار در آگار (جدول ۱) نشان داد که PPE بیشترین قطر هاله مهاری را علیه *S. aureus* ایجاد می‌کند و پس از آنPEE و PWE قرار گرفتند. همچنین عسل کمترین هاله مهاری را داشت. حساسیت *S. aureus* بیشترین و *E. coli* کمترین مقدار بود که از این لحاظ تفاوت معناداری میان عصاره‌های پروپولیس مشاهده نشد (P > ۰/۰۵).

بر اساس نتایج MIC (جداول ۲ تا ۵)، عصاره PPE کمترین مقادیر MIC را در برابر *S. aureus* نشان داد، و پس از آن *P. aeruginosa* و *E. coli* قرار گرفتند. از طرف دیگر عسل بیشترین MICرا نشان داد که بیانگر فعالیت ضدباکتریایی ضعیف‌تر آن است. تحلیل آماری نشان داد که تفاوت میان PPE/PEE و عسل معنی‌دار است (P <۰/۰۵).

شکل ۱، اثرات مقایسه‌ای عصاره‌ها بر رشد باکتری‌ها و شکل ۲ تغییرات MIC (mg/mL) در سویه‌های مختلف را نشان می‌دهد

جدول ۱. مقایسه اثر انواع عصاره‌های پروپولیس و عسل بر سه سویه باکتریایی در آزمون انتشار دیسکی(Disc Diffusion)

	Staph. aureus PWE	Staph. aureus PPE	Staph. aureus PEE	Staph. aureus H	E.coli PWE	E.coli PPE	E.coli PEE	E.coli H	P. aeruginosa PWE	P. aeruginosa PPE	P. aeruginosa PEE	P. aeruginosa H
Disc Diffusion (mm)	۳/۴۸	۶/۳۲	۵/۲۲	۰	۱/۹۷	۴/۷۹	۲/۴۷	۱/۲۰	۲/۱۲	۳/۴۸	۳/۱۱	۰

جدول ۲. حداقل غلظت مهاری (MIC) و حداقل غلظت کشنده باکتری (MBC) عصاره‌ی پروپولیس با حلال پروپیلن‌گلیکول بر باکتری‌های *Staphylococcus aureus*، *Pseudomonas aeruginosa* و *Escherichia coli*

رقیق‌سازی	غلظت	P. aeruginosa		S. aureus		E. coli	
		mg/ml					
	PPE	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
۱/۱	۵/۲۲	-	-	-	-	-	-
۱/۲	۲/۶۲	-	-	-	-	-	-
۱/۴	۱/۳۱	+	+	-	-	-	-
۱/۸	۰/۶۵۶	+	+	-	-	-	-
۱/۱۶	۰/۳۲۸	+	+	+	+	+	+
۱/۳۲	۰/۱۶۴	+	+	+	+	+	+
۱/۶۴	۰/۰۸۲	+	+	+	+	+	+
۱/۱۲۸	۰/۰۴۱	+	+	+	+	+	+
۱/۲۵۶	۰/۰۲	+	+	+	+	+	+
۱/۵۱۲	۰/۱	+	+	+	+	+	+

جدول ۳ حداقل غلظت مهاری (MIC) و حداقل غلظت کشنده باکتری (MBC) عصاره‌ی اتانولی پروپولیس بر باکتری‌های *Staphylococcus aureus*، *Escherichia coli* و *Pseudomonas aeruginosa*

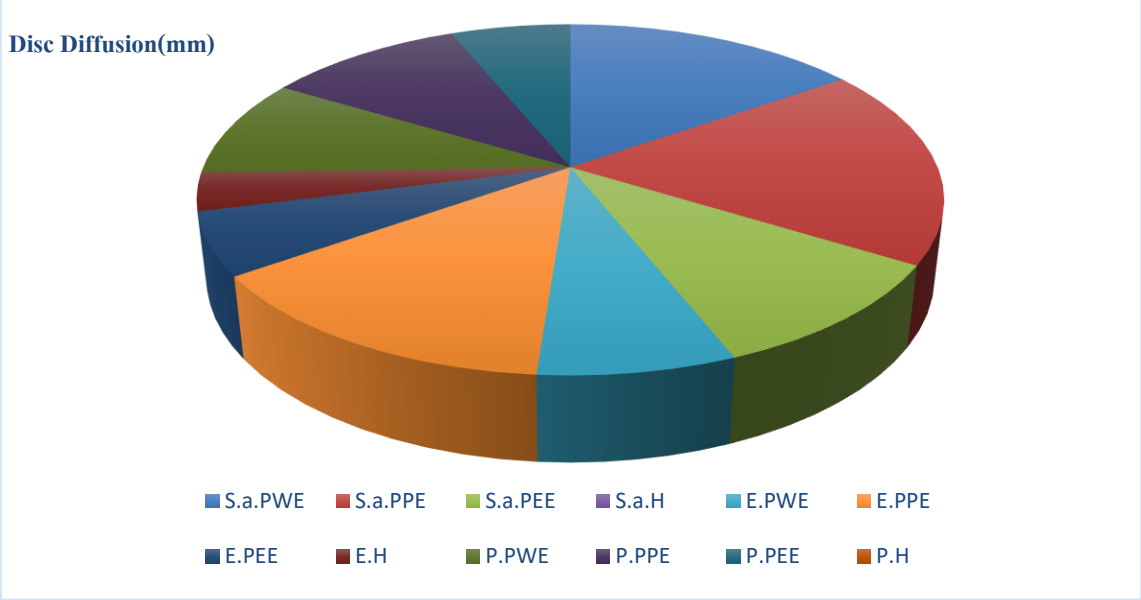
رقیق‌سازی	غلظت	*P. aeruginosa*		*S. aureus*		*E. coli*	
	PEE	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
		mg/ml					
۱/۱	۵/۲۲	-	-	-	-	-	-
۱/۲	۲/۶۲	+	+	-	-	-	-
۱/۴	۱/۳۱	+	+	-	-	-	-
۱/۸	۰/۶۵۶	+	+	+	+	+	+
۱/۱۶	۰/۳۲۸	+	+	+	+	+	+
۱/۳۲	۰/۱۶۴	+	+	+	+	+	+
۱/۶۴	۰/۰۸۲	+	+	+	+	+	+
۱/۱۲۸	۰/۰۴۱	+	+	+	+	+	+
۱/۲۵۶	۰/۰۲	+	+	+	+	+	+
۱/۵۱۲	۰/۱	+	+	+	+	+	+

جدول ٤ حداقل غلظت مهاری (MIC) و حداقل غلظت کشنده باکتری (MBC) عصاره‌ی آبی پروپولیس بر باکتری‌های *Staphylococcus aureus*، *Escherichia coli* و *Pseudomonas aeruginosa*

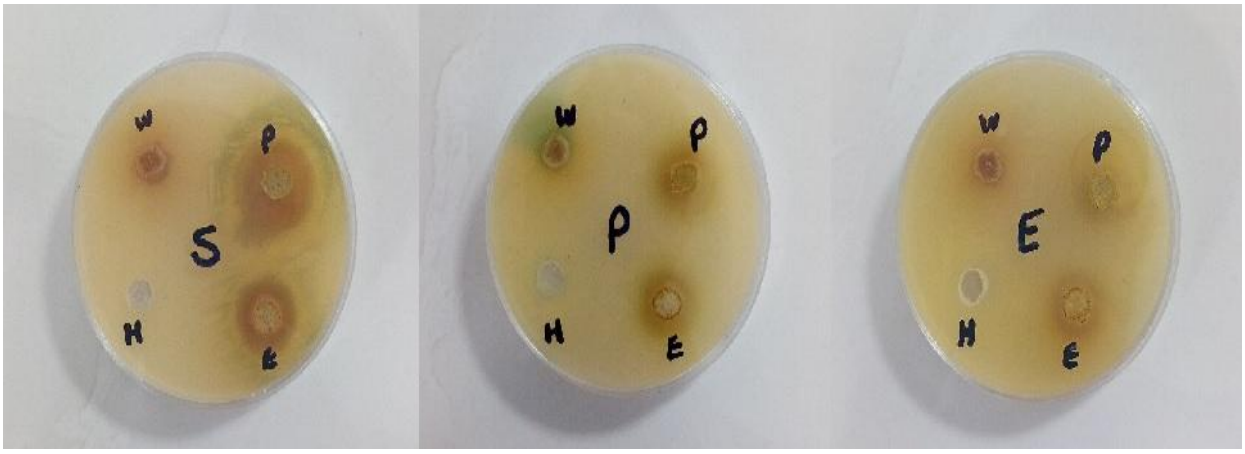
رقیق‌سازی	غلظت	P. aeruginosa		S. aureus		E. coli	
	PWE	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
		mg/ml					
۱/۱	۵/۲۲	+	+	–	–	–	–
۱/۲	۲/۶۲	+	+	–	–	–	–
۱/۴	۱/۳۱	+	+	+	+	+	+
۱/۸	۰/۶۵۶	+	+	+	+	+	+
۱/۱۶	۰/۳۲۸	+	+	+	+	+	+
۱/۳۲	۰/۱۶۴	+	+	+	+	+	+
۱/۶۴	۰/۰۸۲	+	+	+	+	+	+
۱/۱۲۸	۰/۰۴۱	+	+	+	+	+	+
۱/۲۵۶	۰/۰۲	+	+	+	+	+	+
۱/۵۱۲	۰/۱	+	+	+	+	+	+

جدول ۵ حداقل غلظت مهاری (MIC) و حداقل غلظت کشنده باکتری (MBC) عسل بر باکتری‌های Staphylococcus aureus، Pseudomonas aeruginosa و Escherichia coli

رقیق‌سازی	غلظت	P. aeruginosa		S. aureus		E. coli	
	H	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
		mg/ml					
۱/۱	۵/۲۲	+	+	+	+	–	–
۱/۲	۲/۶۲	+	+	+	+	+	+
۱/۴	۱/۳۱	+	+	+	+	+	+
۱/۸	۰/۶۵۶	+	+	+	+	+	+
۱/۱۶	۰/۳۲۸	+	+	+	+	+	+
۱/۳۲	۰/۱۶۴	+	+	+	+	+	+
۱/۶۴	۰/۰۸۲	+	+	+	+	+	+
۱/۱۲۸	۰/۰۴۱	+	+	+	+	+	+
۱/۲۵۶	۰/۰۲	+	+	+	+	+	+
۱/۵۱۲	۰/۱	+	+	+	+	+	+



شکل ۱ مقایسه‌ی اثر متقابل انواع عصاره‌های پروپولیس بر باکتری‌های مقاوم به آنتی بیوتیک (S. a.: Staphylococcus aureus, E.: Escherichia coli, P: Pseudomonas aeruginosa, PEE: propolis ethanolic extract, PWE: propolis water extract, PPE: propolis propylene glycolic extract, H: honey)



شکل ۲. تصویری از سه نوع باکتری شامل (S) *Staphylococcus aureus*، (P) *Pseudomonas aeruginosa* و (E) *Escherichia coli*همراه با مقادیر حداقل غلظت مهاری (MIC) مربوط به هر سویه.

میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی

تحلیل میزان کل فنول‌ها (TPC) (جدول ٦ و شکل ٣) نشان داد که عصاره‌های PPE و PEE به‌طور معناداری دارای محتوای فنلی بالاتری نسبت به PWE و عسل بودند ($P < ۰/۰۵$). همچنین منحنی کالیبراسیون ($R^2 = ۰/۹۹۹۹$، $y = ۰/۰۰۵ x + ۰/۰۰۰۸$) دقت اندازه‌گیری را تضمین کرد.

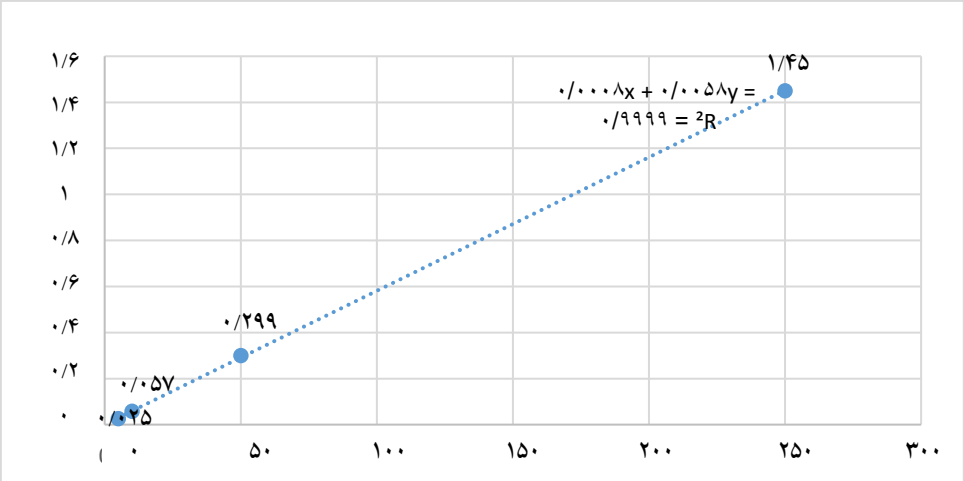
تحلیل فلاونوئیدها (شکل ٤) نیز نشان داد که غلظت فلاونوئیدها در PPE و PEE بالاتر بوده و با اثرات ضدباکتریایی آن‌ها همبستگی دارد.

پروفایل اسیدهای چرب

تحلیل اسیدهای چرب (جدول ٧) نشان داد که اسیدهای لینولئیک و اولئیک در عصاره‌های PPE و PEE غالب هستند و سطوح آن‌ها به‌طور معناداری بالاتر از PWE و عسل می‌باشد ($P < ۰/۰۵$). این اسیدهای چرب احتمالاً در فعالیت ضدباکتریایی مشاهده شده نقش مؤثری دارند.

جدول ٦. مقایسه میزان ترکیبات فنلی کل (TPC) در سه نوع عصاره پروپولیس و عسل

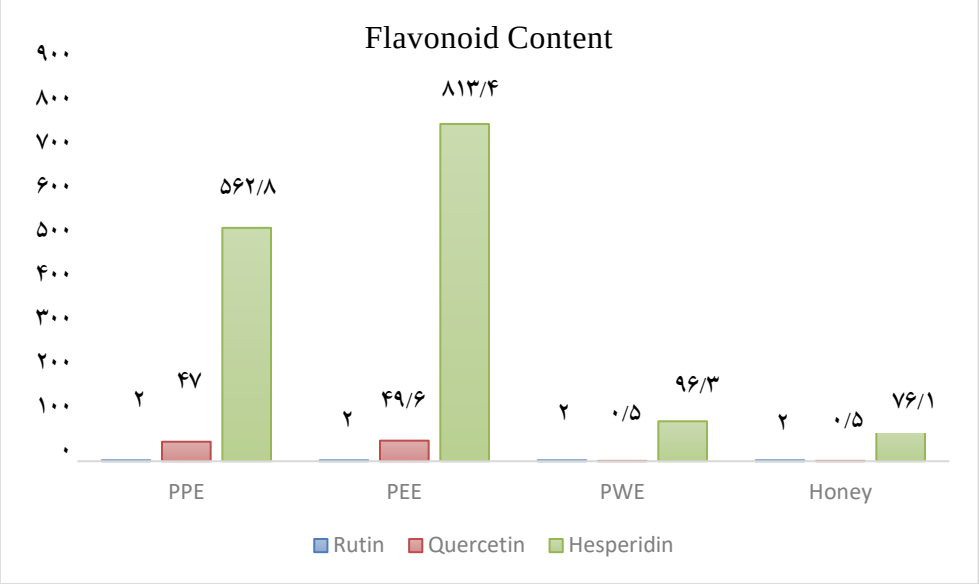
	PPE	PEE	PWE	H
پلی فنول(ppm)	۳۹	۳۶	۵/۲	۰/۱۳۲



شکل۳. نمودار جذب ترکیبات فنلی کل در طول موج ۷۶۵ نانومتر

جدول ۷. پروفایل اسیدهای چرب اندازه‌گیری شده در سه نوع عصاره آبی، اتانولی و گلیکولی پروپولیس

PWE			PPE			PEE		
C12	Lauric acid	۱/۸۴	C10	Capric acid	۰/۲۹	C10	Capric acid	۰/۲۳
C14	Myristic acid	۲/۱۳	C14	Myristic acid	۰/۳۸	C12	Lauric acid	۰/۴۶
C15	Pentadecanoic acid	۰/۵۹	C15	Pentadecanoic acid	۲/۱۲	C14	Myristic acid	۰/۹۵
C16	Palmitic acid	۲۴/۸۱	C16	Palmitic acid	۱۱/۹۴	C14:1	Myristoleic Acid	۰/۱۷
C17:1n-7	Heptadecenoic acid	۱/۵۱	C17	Margaric acid	۰/۵۵	C15:0	Pentadecanoic acid	۳/۶۴
C18:0	Stearic acid	۴/۹۱	C17:1N-7	Heptadecenoic acid	۵/۴۱	C16:0	Palmitic acid	۱۴/۳۵
Trans-C18:1n-9	Elaidic acid	ND	C18:0	Stearic acid	۲/۶۸	C16:1	Palmitoleic acid	۰/۷۵
C18:1n-9	Oleic acid	۴۹/۷۰	Trans-C18:1n-9	Elaidic acid	ND	C17:0	Margaric acid	۱/۷۷
Trans-C18:2 n-6	Linoleic acid	ND	C18:1n-9	Oleic acid	۵۷/۳۴	C17:1N-7	Heptadecenoic acid	۷/۹۵
C18:2 n-6	Linoleic acid	۳/۱۸	Trans-C18:2 n-6	Linoleic acid	۰/۲۴	C18:0	Stearic acid	۳/۲۹
C18:3 n-3	Alpha_Linolenic acid	۱/۰۵	C18:2 n-6	Linoleic acid	۵/۴۵	Trans-C18:1n-9	Elaidic acid	۲/۴۱
C24:1n-9	Nervonic acid	۳/۲۷	C18:3 n-6	Gamma_ Linoleic acid	۰/۵۳	C18:1n-9	Oleic acid	۳۸/۲۵
C22:6n-3	Docosahexaenoic acid	۳/۴۸	C18:3 n-3	Alpha_Linolenic acid	۳/۲۲	Trans-C18:2 n-6	Linoleic acid	ND
Total trans fatty acids		ND	C20:2N-6	Eicosadienoic acid	۱/۴۰	C18:2 n-6	Linoleic acid	۶/۷۰
			C20:3		۰/۶۳	C18:3 n-6	Gamma_ Linoleic acid	۰/۴۴
			C22:1N-9	Erucic acid	۰/۱۹	C18:3 n-3	Alpha_Linolenic acid	۴/۲۱
			C20:3N-3	Eicosatrienoic acid	۰/۷۲	C20:1n-9	9-Eicosenoic acid	۱/۱۵
			C20:4N-6	Arachidonic acid	۲/۱۲	C21:0		۱/۱۸
			C22:2N-6	Docosadienoic acid	۰/۶۱	C20:2n-6	Eicosadienoic acid	۲/۱۱
			C24:0	Lignoceric acid	۲/۳۵			
			C24:1N-9	Nervonic acid	۰/۵۸	C22:1n-9	Erucic acid	۰/۴۹
			C22:6N-3	Docosahexaenoic acid	۱/۲۵	C20:3n-3	Eicosatrienoic acid	۱/۶۸
			Total trans fatty acids		۰/۲۴	C23:0	Tricosanoic Acid	۱/۳۸
						C20:4n-6	Arachidonic acid	۱/۶۳
						C22:2n-6	Docosadienoic acid	۰/۸۵
						C24:0	Lignoceric acid	۱/۷۳
						C24:1N-9	Nervonic acid	۰/۷۵
						C22:6N-3	Docosahexaenoic acid	۱/۳۷
						Total trans fatty acids		۲/۴۱



شکل ٤. **نمودار مقایسه‌ای میزان فلاونوئیدها در سه نوع عصاره‌ی پروپولیس و عسل**

بحث

پژوهش حاضر نشان داد که عصاره‌های پروپولیس به‌ویژه PPE وPEE، فعالیت ضدباکتریایی قوی علیه سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک *S. aureus*، *E. coli* و *P. aeruginosa* دارند و این اثر بیشتر از فعالیت عسل بود. فعالیت بهتر PPE با محتوای بالاتر ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی آن همسو بوده و با مطالعات پیشین که نشان‌دهنده نقش پلی‌فنول‌ها در اثرات ضد میکروبی است، مطابقت دارد (١٤، ١٥). حساسیت بیشتر *S. aureus* (گرم مثبت) نسبت به *E. coli* و *P. aeruginosa* (گرم منفی) احتمالاً ناشی از تفاوت در ساختار دیواره سلولی آن است؛ باکتری‌های گرم منفی دارای غشای بیرونی لیپوپلی‌ساکاریدی هستند که نفوذ پلی‌فنول‌ها را محدود می‌کنند (١٦). این یافته با نتایج مطالعات Mazzola و همکاران (١٧) و Kumar و همکاران (١٨) همخوانی داشت، که در آن حساسیت بالاتر باکتری‌های گرم مثبت به ترکیبات ضد میکروب گیاهی گزارش شده است.

فعالیت بهتر PPE و PEE ممکن است به محتوای بالاتر اسیدهای لینولئیک و اولئیک آن‌ها نیز مربوط باشد که خاصیت ضدباکتریایی شناخته شده‌ای دارند (١٩، ٢٠).

Kenny و همکاران نشان دادند که اسید لینولئیک بیان ژن در *S. aureus* را مختل می‌کند که یافته‌های پژوهش حاضر نیز آن را تأیید می‌کند (٢١). عدم وجود تفاوت معنادار بین PPE و PEE نشان می‌دهد که هر دو حلال به‌طور مؤثر ترکیبات زیست‌فعال را استخراج می‌کنند، در حالی که عصاره آبی (PWE) محتوای فنلی و اسید چرب کمتری ارائه می‌دهد.

در مقایسه با عسل، عصاره‌های پروپولیس فعالیت ضدباکتریایی بالاتری نشان دادند که احتمالاً ناشی از غلظت بالاتر ترکیبات زیست‌فعال است. اثر ضعیف‌تر عسل می‌تواند ناشی از محتوای پایین‌تر فنول‌ها و تکیه بر مکانیسم‌های اسمزی و تولید پراکسید هیدروژن باشد (١٠). این نتایج با مطالعات Al-Waili (١١) و Sharma و Agarwal (٢٢) همسو بود که اثرات متوسط ضدباکتریایی عسل علیه *E. coli* و *S. aureus* را گزارش کرده‌اند.

در این پژوهش اثرات هم‌افزایی عصاره‌های پروپولیس با آنتی‌بیوتیک‌های متداول بررسی نشده است، که می‌تواند اهمیت بالینی آن‌ها را افزایش دهد (١٥). علاوه بر این، تفاوت‌های منطقه‌ای در ترکیب پروپولیس ممکن است تکرارپذیری نتایج را تحت تأثیر قرار دهد و نیاز به پروتکل‌های استاندارد استخراج دارد. نبود داده‌های in vivo نیز محدودیت‌هایی برای نتیجه‌گیری درباره اثربخشی بالینی ایجاد می‌کند.

پژوهش‌های بعدی باید پتانسیل هم‌افزایی پروپولیس با آنتی‌بیوتیک‌ها را بررسی کنند، روش‌های استخراج را برای بیشینه‌سازی بازده ترکیبات زیست‌فعال بهینه کنند و مطالعات in vivo برای ارزیابی ایمنی و اثربخشی انجام دهند. تحلیل کیفی پلی‌فنول‌ها و اسیدهای چرب خاص می‌تواند سهم هر یک از آن‌ها در فعالیت ضدباکتریایی را روشن کند.

نتیجه‌گیری

این پژوهش شواهد محکمی ارائه می‌دهد که نوع حلال به‌طور قابل توجهی بر پتانسیل ضد میکروبی پروپولیس تأثیر دارد. عصاره‌های اتانولی (PEE) و پروپیلن‌گلیکولی (PPE) در مقایسه با عصاره آبی پروپولیس (PWE) و عسل فعالیت ضدباکتریایی بالاتری علیه

Staphylococcus aureus، *Escherichia coli* و *Pseudomonas aeruginosa* مقاوم به چند آنتی بیوتیک نشـــان دادند. این اثرات با افزایش میزان اســـیدهای فنلی، فلاونوئیدها و اســـیدهای چرب غیر اشباع، به‌ویژه اسیدهای اولئیک و لینولئیک، همبستگی مستقیم داشتند.

در مقایســـه با عســـل، که در آزمون‌ها محدودیت مهاری داشـــت، عصاره‌های پروپولیس به‌طور معنی داری مؤثرتر بودند و پتانسیل آن‌ها را به‌عنوان جایگزین یا مکمل درمان در مقابله با مقاومت آنتی‌بیوتیکی برجسته می‌کند. نتایج حاضر همچنین با مطالعات پیشین همسو بوده و اهمیت فرآورده‌های زنبورعســـل به‌عنوان منابع ترکیبات زیســـت‌فعال درمانی را تقویت می‌کند.

با این حال، این تحقیق نیازهای مهمی را برجسته می‌کند:

۱- ارزیابی ایزوله‌های بالینی بیشتر با الگوهای مقاومت متنوع،

۲- تأیید ایمنی و اثربخشی با مطالعات in vivo ،

۳- اســـتانداردســـازی روش‌های اســـتخراج برای تضـــمین تکرارپذیری نتایج.

علاوه بر این، بررســـی اثرات ســـینرژیســـتی بین عصـــاره‌های پروپولیس و آنتی‌بیوتیک‌های متداول می‌تواند مسیرهای جدیدی برای مقابله با عفونت‌های مقاوم فراهم کند.

نتایج این پژوهش نشـــان می‌دهد که نوع حلال اســـتخراج تأثیر قابل‌توجهی بر فعالیت ضـدباکتریایی پروپولیس دارد. عصـاره‌های PPE و PEE نسبت به PWE و عسل فعالیت بالاتری علیه سویه‌های MDR نشـان دادند. این یافته‌ها می‌تواند مبنایی برای توسـعه فرآورده‌های طبیعی ضدباکتری در صنایع دارویی و مکمل‌های درمانی باشد.

در نهایت، عصاره‌های PPE و PEE به‌عنوان عوامل ضد میکروبی طبیعی امیدوارکننده در برابر پاتوژن‌های مقاوم به آنتی بیوتیک MDR مطرح می‌شـــوند. با تلفیق فرآورده‌های طبیعی و تحقیقات ضـــد میکروبی، پروپولیس می‌توانـد ســـهم قابـل توجهی در جلوگیری از مقاومت دارویی آنتی بیوتیک ها داشته باشد.

تشکر و قدردانی

نویســـندگان از دانشـــگاه اصـــفهان برای فراهم کردن امکانات آزمایشگاهی و حمایت‌های علمی تشکر می‌کنند.

References

1. World Health Organization. Global action plan on antimicrobial resistance. World Health Organization; 2021.
2. Murray CJL, Ikuta KS, Sharara F, Swetschinski L, et al. Global burden of antimicrobial resistance: an update. Lancet 2022; 399(10325): 629-55.
3. Bankova V, Trusheva B, Popova M. Propolis extraction methods: a review. J Apic Res 2021; 60(5): 734-43.
4. Miguel MG, Nunes S, Dandlen SA, Cavaco AM, Antunes MD. Phenols and antioxidant activity of hydro-alcoholic extracts of propolis from Algarve, South of Portugal. Food Chem Toxicol 2010; 48(12): 3418-23.
5. Cornara L, Biagi M, Xiao J, Burlando B. Therapeutic properties of bioactive compounds from different honeybee products. Front Pharmacol. 2017: 8: 412.
6. Przybyłek I, Karpiński TM. Antibacterial properties of propolis. Molecules 2019; 24(11): 2047.
7. Scazzocchio F, D'Auria FD, Alessandrini D, Pantanella F. Propolis as an alternative treatment for infections caused by antibiotic-resistant bacteria: a systematic review. J Appl Microbiol 2018; 125(4): 986-1002.
8. Jenkins R, Cooper R, Burton N. Propolis antimicrobial synergy with antibiotics against MRSA. J Evid Based Integr Med 2021; 26: 2515690X211022798.
9. Alvarez-Suarez JM, Gasparrini M, Forbes-Hernández TY, Mazzoni L, Giampieri F. The composition and biological activity of propolis: a review. Molecules. 2022; 27(5): 1599.
10. Al-Waili NS. Investigating the antimicrobial activity of natural honey and its effects on the pathogenic bacterial infections of surgical wounds and conjunctiva. J Med Food 2012; 15(4): 313-318.
11. Grabek-Lejko D, Miłek M, Sidor E, Puchalski C, Dżugan M. Antiviral and antibacterial effect of honey enriched with Rubus spp. as a functional food with enhanced antioxidant properties. Molecules 2022; 27(15): 4859.
12. Moloudian H, Abbasian S, Nassiri-Koopaei N, et al. Characterization and classification of Iranian honey based on physicochemical properties and antioxidant activities, with chemometrics approach. Iran J Pharm Res 2018; 17(2): 708-25.
13. Wilczyńska A. Phenolic content and antioxidant activity of different types of Polish honey—a short report. Pol J Food Nutr Sci 2010; 60(4): 309-13.
14. Manso T, Lores M, de Miguel T. Antimicrobial activity of polyphenols and natural polyphenolic extracts on clinical isolates. Antibiotics (Basel). 2021; 11(1): 46.
15. McGaw LJ, Jäger AK, van Staden J. Antibacterial effects of fatty acids and related compounds from plants. S Afr J Bot 2002; 68(4): 417-23.
16. Montville TJ, Bruno MEC. Evidence that dissipation of proton motive force is a common mechanism of action for bacteriocins and other antimicrobial proteins. Int J Food Microbiol 1994; 24(1-2): 53-74.
17. Mazzola PG, Martins AMS, Penna TCV. Chemical resistance of the Gram-negative bacteria to different sanitizers in a water purification system. BMC Infect Dis 2006; 6: 131.
18. Kumar VP, Chauhan NS, Padh H, Rajani M. Search for antibacterial and antifungal agents from Indian

medicinal plants. J Ethnopharmacol 2006; 107(2): 182-8.
19. Olszewska MA, Gędas A, Simões M. Antimicrobial polyphenol-rich extracts: applications and limitations in the food industry. Food Res Int 2020; 134: 109214.
20. Orsi RO, Sforcin JM, Funari SRC, Bankova V. Antibacterial activity of propolis collected in different regions of Brazil. J Ethnopharmacol 2005; 99(2): 301-6.
21. Kenny J, Ward D, Josefsson E, Jonsson I, Hinds J, Rees H, et al. The Staphylococcus aureus response to unsaturated long chain free fatty acids: survival mechanisms and virulence implications. PLoS One 2009; 4(2): e4344.
22. Sharma V, Agarwal A. Physicochemical and antioxidant assays of methanol and hydromethanol extract of aerial parts of Indigofera tinctoria Linn. Indian J Pharm Sci 2015; 77(6): 729-34.

DOI: *10.48305/jims.v43.i846.1923*

Journal of Isfahan Medical School **Vol. 43, No. 846, 2nd Week, March 2026**

Received: 27.12.2025 Accepted: 16.02.2026 Published: 05.03.2026

Antibacterial Activity of Aqueous, Ethanolic, and Glycolic Propolis Extracts and Honey against Antibiotic-Resistant Bacteria: A Potential Therapeutic Approach

Shahram Dadgostar[1], Mohammad Rabbani Khorasgani[2], Saeed Ahmadi Majd[2]

Original Article

Abstract

Background: This study aimed to evaluate the antibacterial effects of aqueous (PWE), ethanolic (PEE), and propylene glycol-based (PPE) propolis extracts and honey against antibiotic-resistant bacteria and to correlate these effects with their phenolic and fatty acid content.

Methods: Clinical isolates of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, and *Pseudomonas aeruginosa* with confirmed multidrug resistance profiles were tested using agar well diffusion and broth microdilution. Propolis extracts were prepared by maceration, freeze-dried, and reconstituted at defined concentrations. Phenolic and flavonoid contents were quantified using Folin–Ciocalteu and HPLC methods, respectively, with commercial gallic acid, catechin, and quercetin standards. Fatty acids were analyzed as methyl esters using gas chromatography with appropriate standards.

Findings: PPE exhibited the strongest antibacterial activity, with the largest inhibition zones (up to 6.3 mm) and lowest MICs (0.041–0.328 mg/mL) across all strains. S. aureus was the most sensitive, while E. coli was the most resistant. PEE and PPE had higher total phenolic and flavonoid contents than PWE and honey. Fatty acid analysis revealed higher linoleic and oleic acid levels in PPE and PEE.

Conclusion: PPE and PEE demonstrate potent antibacterial activity against multidrug-resistant bacteria, correlating with their phenolic and fatty acid content. These findings support further exploration of propolis extracts as natural alternatives for combating antibiotic resistance.

Keywords: Propolis, Honey, Antibiotic Resistance, Bacterial Biofilms, Oxidative Stress, Complementary Therapies

Citation: Dadgostar Sh, Rabbani Khorasgani M, Ahmadi Majd S. **Antibacterial Activity of Aqueous, Ethanolic, and Glycolic Propolis Extracts and Honey against Antibiotic-Resistant Bacteria: A Potential Therapeutic Approach.** J Isfahan Med Sch 2026; 43(846): 1923-32.

1- HoneyBee and Herbal Medicine Research Institute, Khansar Campus, University of Isfahan, Isfahan, Iran
2- Department of Cell and Molecular Biology & Microbiology, Faculty of Biological Science & Technology, University of Isfahan, Isfahan, Iran
Corresponding Author: Shahram Dadgostar, HoneyBee and Herbal Medicine Research Institute, Khansar Campus, University of Isfahan, Isfahan, Iran; Email: Sh.dadgostar@khc.ui.ac.ir