دوماهنامه طبّ جنوب
پژوهشکده زیست- پزشکی خلیج فارس
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بوشهر
سال بیست و چهارم، شماره ۱، صفحه ۴۵-۲۷ (فروردین و اردیبهشت ۱۴۰۰)

Iran South Med J 2021; 24(1): 27-45

ارزیابی فعالیت ضد باکتری تونیکروم مترشحه از تونیکات دریایی فالوسیا نیگرای به‌دست آمده از سواحل بوشهر

زهره مرحمتی (PhD)[1*]، محمدحسین مرحمتی‌زاده (PhD)[1**]، غلامحسین محبی (PhD)[2]

[1] گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کازرون، کازرون، ایران
[2] مرکز تحقیقات زیست فناوری دریایی خلیج‌فارس، پژوهشکده علوم زیست پزشکی خلیج‌فارس، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر، بوشهر، ایران

(دریافت مقاله: ۹۹/۷/۱۵- پذیرش مقاله: ۹۹/۱۱/۶)

چکیده

زمینه: بهره‌برداری از زیستمندان دریایی جهت دسترسی به ترکیبات زیستی فعال، از دیرباز مورد توجه بوده است. تاکنون، ترکیبات شگفت‌انگیز متعددی از تونیکات‌ها با فعالیت‌های زیستی مختلف، مورد شناسایی قرار گرفته‌اند. این مطالعه، با هدف ارزیابی فعالیت ضد میکروبی تونیکروم مترشحه از تونیکات دریایی فالوسیا نیگرای جمع‌آوری شده از سواحل استان بوشهر بر روی چهار سویه باکتری استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سرئوس، سالمونلا انتریکا و اشریشیاکلی انجام گرفت.

مواد و روش‌ها: تعداد ۳۰ نمونه تونیکات دریایی فالوسیا نیگرای خلیج نایبند در استان بوشهر، به‌طور تصادفی جمع‌آوری و سپس تونیکروم آن‌ها استخراج و لیوفیلیزه گردیدند. فعالیت ضد میکروبی عصاره تونیکروم به روش انتشار در حفره آگار و رقت‌سازی در لوله (تعیین MIC و MBC) در برابر چهار سویه باکتری بیماریزای غذایی مورد ارزیابی قرار گرفت. ترکیبات شیمیایی عصاره متانول:کلروفرم: ان-هگزانی تونیکروم توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی- طیف‌سنج جرمی (GC-MS)، شناسایی گردیدند.

یافته‌ها: بر اساس نتایج، عصاره تونیکروم، دارای فعالیت مهارکنندگی و کشندگی قابل توجهی در برابر هر چهار سویه باکتری مورد مطالعه داشت. هرچند، فعالیت ضد میکروبی آن در برابر باکتری‌های باسیلوس سرئوس و سالمونلا انتریکا بیشتر بود. حضور ترکیبات ضد میکروبی شناسایی شده توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی- طیف‌سنج جرمی، نتایج فعالیت ضد باکتری تونیکروم را تأیید نمود.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج، تونیکروم مترشحه از تونیکات دریایی فالوسیا نیگرای خلیج‌فارس می‌تواند منبع دریایی مناسبی از ترکیبات ضد میکروبی با عملکرد قابل توجه در برابر باکتری‌های بیماریزای غذایی باشد. بر اساس متون، متابولیت‌های ثانویه موجود در تونیکروم دارای اثرات بیولوژیک و نوتروسیتیکال بالقوه‌ای می‌باشند که مطالعات آزمایشگاهی بیشتری را می‌طلبد.

واژگان کلیدی: تونیکات دریایی، فالوسیا نیگرا، تونیکروم، فعالیت ضد میکروبی، متابولیت ثانویه، خلیج‌فارس

** کازرون، گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی کازرون

Email: drmarhamati@gmail.com
***ORCID: 0000-0002-6083-1135**
****ORCID: 0000-0002-4751-7926**

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-09]

[DOI: 10.52547/ismj.24.1.27]

مقدمه

آلودگی‌های میکروبی، از شایع‌ترین عوامل بیماریزایی محسوب می‌شوند. مشکلات عفونی مربوط به باکتری‌ها، سالانه جان میلیون‌ها نفر را تهدید می‌نمایند. از مهم‌ترین عوامل عفونی می‌توان به باکتری‌های سالمونلا، اشریشیاکلی، باسیلوس سرئوس و استافیلوکوکوس اورئوس اشاره نمود که با ایجاد آلودگی‌های غذایی موجب بیماری‌های مختلف عفونی و یا مسمومیت می‌گردند. جهت پیشگیری از این مورد، به‌طور گسترده از نگهدارنده‌های مصنوعی در مواد غذایی صنعتی استفاده می‌شود (۱).

سالمونلا و اشریشیاکلی، نوعی باسیل گرم منفی از خانواده انتروباکتریاسه[1] می‌باشند. عامل حدود ۴۰ درصد از کل مسمومیت‌های غذایی را به سالمونلاها نسبت می‌دهند. تمامی سروتیپ‌های سالمونلا، برای انسان بیماری‌زا می‌باشند؛ هرچند، میزان بیماری‌زایی آن‌ها متفاوت است (۲). اهمیت اشریشیاکلی به‌دلیل سویه‌های بیماری‌زایی است که عامل مسمومیت‌های غذایی و بیماری‌های روده‌ای انسان می‌باشند (۳). باسیلوس سرئوس نوعی باسیل گرم مثبت هاگ‌دار از خانواده باسیلاسه می‌باشد. هاگ این باکتری به‌صورت گسترده‌ای در طبیعت پراکنده شده است؛ به‌طوری که می‌توان آن را از مواد غذایی گوناگون جداسازی نمود. این باکتری، مولد انتروتوکسین‌های ایجادکننده اسهال و تهوع بوده و قادر به ایجاد سندرم اسهال و سندرم تهوع می‌باشد (۴). استافیلوکوکوس‌ها از کوکسی‌های گرم مثبت تب‌زای اصلی در انسان بوده و عامل بیش از ۸۰ درصد عفونت‌های چرکین می‌باشند. همچنین، این باکتری‌ها به‌دلیل تولید آنزیم‌ها و توکسین‌های متعدد دارای مقاومت در برابر داروها و قدرت بیماری‌زایی می‌باشند (۵).

معمولا، به‌منظور مهار عوامل میکروبی از آنتی‌بیوتیک‌ها استفاده می‌گردد. استفاده بی‌رویه و نابجا از آنتی‌بیوتیک‌ها در درمان عفونت‌ها، عدم تکمیل دوره درمان آنتی‌بیوتیکی توسط بیمار، فقدان آزمون‌های تشخیصی سریع جهت تعیین عوامل عفونت مشتق از میکروارگانیسم‌ها و استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها به‌عنوان مکمل‌های غذایی یا پروفیلاکسی در صنعت دامپروری، پرورش آبزیان و کشاورزی، منجر به گسترش روزافزون این قبیل مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها گردیده‌اند (۶).

امروزه یکی از مهم‌ترین چالش‌های درمانی، مقابله با بیماری‌های عفونی ناشی از باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌های رایج به‌ویژه سویه‌های مقاوم به چند دارو است که به‌دلیل افزایش شیوع سویه‌های باکتریایی مقاوم به آنتی‌بیوتیک، درمان بسیاری از عفونت‌ها با شکست مواجه شده اند. بنابراین، مطالعاتی به‌منظور کشف و توسعه آنتی‌بیوتیک‌هایی با منشاء و مکانیسم عمل جدید ضرورت می‌یابد (۹-۷).

علاوه بر این، نگهدارنده‌های میکروبی سنتزی، طی سالیان متمادی به‌عنوان افزودنی‌های غذایی صنعتی مورد استفاده قرار گرفته‌اند که مشکلات سلامتی برخی از این ترکیبات برای بشر به‌ویژه گروه‌های آسیب‌پذیر جامعه نظیر کودکان و سالمندان، مشخص گردیده‌اند؛ برخی از آن‌ها، در بدن ذخیره و یا با مصرف طولانی مدت، موجب سرطان‌زایی می‌گردند. با توجه به آگاهی اجتماعی، نسبت به مضرات افزودنی‌های غذایی صناعی، منطقی به‌نظر می‌رسد که جای خود را به انواع طبیعی دهند (۱۰ و ۱۱).

[1] *Enterobacteriacea*

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-09]

[DOI: 10.52547/ismj.24.1.27]

بهره‌برداری از اقیانوس‌ها از دیرباز مورد توجه انسان بوده است. از اواخر دهه ۱۹۸۰ تاکنون نیز تلاش‌های زیادی جهت دسترسی به مولکول‌های زیستی نوین از اقیانوس و ارگانیسم‌های آن صورت گرفته است. اکوسیستم دریا دارای تنوع بی‌نظیر از ارگانیسم‌های زنده است که برای بقاء در زیستگاه خود و مقابله با شرایط بسیار متغیر و سخت محیطی دارای مسیرهای بیوسنتزی منحصربه‌فرد می‌باشند (۱۲).

بر اساس مطالعات پیشین، زیستمندان دریایی به‌ویژه جلبک‌ها و بی‌مهرگان، دارای اثرات ضد باکتری قابل ملاحظه‌ای هستند. از آن‌ها تعداد قابل ملاحظه‌ای ترکیبات طبیعی مؤثر علیه باکتری‌های مقاوم، استخراج گردیده‌اند (۱۳). بی‌مهرگان دریایی، فاقد سیستم ایمنی اکتسابی و آنتی‌بادی بوده و وابسته به مکانیسم‌های دفاعی ایمنی اولیه و یا ذاتی هستند. پپتیدهای ضد میکروبی (AMPs)[2]، از مهم‌ترین اجزاء سیستم دفاعی اولیه این موجودات به‌شمار می‌آیند. این مولکول‌های پپتیدی دارای خواص ضد میکروبی بوده و ارگانیسم را در برابر میکروارگانیسم‌ها حفاظت می‌کند. هنوز مکانیسم دقیق عمل پپتیدهای ضد میکروبی به‌درستی شناخته نشده است. این پپتیدها، حاوی درصد قابل توجهی از اسیدهای آمینه دارای کاتیون فعال و هیدروفوب می‌باشند. به عقیده محققان، مهم‌ترین نقش این ترکیبات ایجاد اختلال در غشاء سلول است. علاوه بر این ترکیبات، پپتیدهای ریبوزومی و غیر ریبوزومی، آلکالوئیدها، پلی‌کتیدها و ترپن‌های استخراج شده از موجودات دریایی دارای فعالیت ضد باکتری هستند (۱۴-۱۶).

تونیکات‌ها، گروه بزرگی -در حدود ۳۰۰۰ گونه- از بی‌مهرگان دریایی از فرمانرو جانوران[3]، شاخه طنابداران[4] و زیر شاخه اوروکرودات[5] یا تونیکاتا می‌باشند. تونیکات‌های دریایی سرشار از ترکیبات فعال زیستی با فواید سلامتی‌بخش و درمانی هستند (۱۵ و ۱۷). مایع مترشحه از تونیکات‌ها، حاوی پیگمان‌های متفاوتی می‌باشد که مسئول رنگ‌های متنوع آن‌هاست و به اصطلاح، تونیکروم گفته می‌شود. تونیکات‌های گرمسیری، غنی از پیگمان‌های رنگی متنوعی، از زرد تا قرمز عمیق، نارنجی، آبی و بنفش می‌باشند (۱۷ و ۱۸). بر اساس مطالعات، ترکیبات جداسازی شده از تونیکروم دارای اثرات فعال زیستی قابل ملاحظه‌ای هستند (۱۹). در برخی از تونیکات‌ها، تونیکروم به منزله رنگیزه‌های موجود در خون این جانوران است (۱۷ و ۱۸). تونیکروم‌ها در سلول‌های خونی حداقل یازده گونه از تونیکات‌ها وجود دارند (۱۸). تونیکروم تونیکات دریایی فالوسیا نیگرای خلیج‌فارس نیز دارای رنگدانه صورتی شفافی است. تونیکروم آن، پس از صید تونیکات و پس از مدت زمان تقریباً کوتاهی آزاد می‌گردد که شاید به‌عنوان یک وسیله دفاعی این جاندار باشد (شکل ۱-ج). مطالعات انگشت‌شماری در خصوص این زیستمندان شگفت‌انگیز و اثرات بیولوژی، درمانی و یا زیست پزشکی آن‌ها در ایران و منطقه خلیج فارس به‌چشم می‌خورد (۱۷ و ۲۰). لذا از اهداف مطالعه اخیر، ارزیابی فعالیت ضد میکروبی تونیکروم مترشحه از تونیکات دریایی فالوسیا نیگرا جمع‌آوری شده از خلیج نایبند در استان بوشهر می‌باشد.

[2] Antimicrobial peptides
[3] Animalia
[4] Chordate
[5] Urochordate

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-09]
[DOI: 10.52547/ismj.24.1.27]

مواد و روش‌ها

مواد و حلال‌ها

مواد شیمیایی و حلال‌های مورد استفاده در این مطالعه تحقیقی، از شرکت مرک[6] آلمان تهیه گردیدند. همچنین، سویه‌های استاندارد باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس زیر گونه اورئوس (ATCC۶۵۳۸ P)، باسیلوس سرئوس (ATCC ۱۱۷۷۸)، سالمونلا انتریکا زیر گونه انتریکا (ATCC ۱۴۰۲۸) و اشریشیاکلی سروتیپ O۱۵۷:H۷ (NCTC ۱۲۹۰۰) از مرکز منطقه‌ای کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های علمی و صنعتی ایران به‌صورت آمپول لیوفیلیزه دو ویال فراهم گردیدند.

نمونه‌برداری و آماده‌سازی اولیه نمونه‌ها

تعداد ۳۰ نمونه بالغ تونیکات دریایی فالوسیا نیگرا (هر کدام به وزن تقریبی ۲۰ گرم)، توسط غواصان پژوهشکده علوم زیست پزشکی خلیج‌فارس، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر، در فصل بهار از سواحل خلیج نایبند واقع در قسمت شمالی استان بوشهر (E ۳۵ ۵۲° S, ۳۰ ۲۷°)، که محل تجمع این جانوران در استان می‌باشد؛ جمع‌آوری گردیدند (شکل ۱-الف). پس از پاک‌سازی اولیه و شستشوی نمونه‌ها با آب دریا به‌منظور حذف آلودگی‌های محیط دریایی چون ذرات شن، ماسه، جلبک و سایر بقایای جانداران کوچک و سپس شناسایی گونه، آماده‌سازی نمونه و لیوفیلیزه نمودن آن توسط زنجیره سرد به آزمایشگاه پژوهشکده علوم زیست پزشکی خلیج‌فارس دانشگاه علوم پزشکی بوشهر منتقل گردیدند (شکل ۱-ب). جهت نمونه‌گیری از تونیکروم، ابتدا تونیکات‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در دمای محیط، در یک نایلون قرار داده شدند تا مایع صورتی رنگ تونیکروم رها و جدا گردد (شکل ۱-ج). نمونه تونیکروم با استفاده از دستگاه سانتریفوژ (اپندورف[7]، آلمان) در دور rpm ۴۰۰۰، به‌مدت زمان ۵ دقیقه سانتریفوژ گردید تا درصورت وجود ناخالصی ته‌نشین گردد. سپس مایع سوپرناتانت حاصله پس از فیلتراسیون، توسط دستگاه فریز درایر (کریست[8]، انگلستان)، لیوفیلیزه (شکل ۱-د) و تا زمان کوتاه انجام آنالیز، در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید (۲۱). مطالعات اثرات ضد باکتری تونیکروم به‌دست آمده، در محل آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد کازرون و شناسایی متابولیت‌های ثانویه در آزمایشگاه آنالیز دستگاهی کنترل غذا و داروی بوشهر انجام گرفتند.

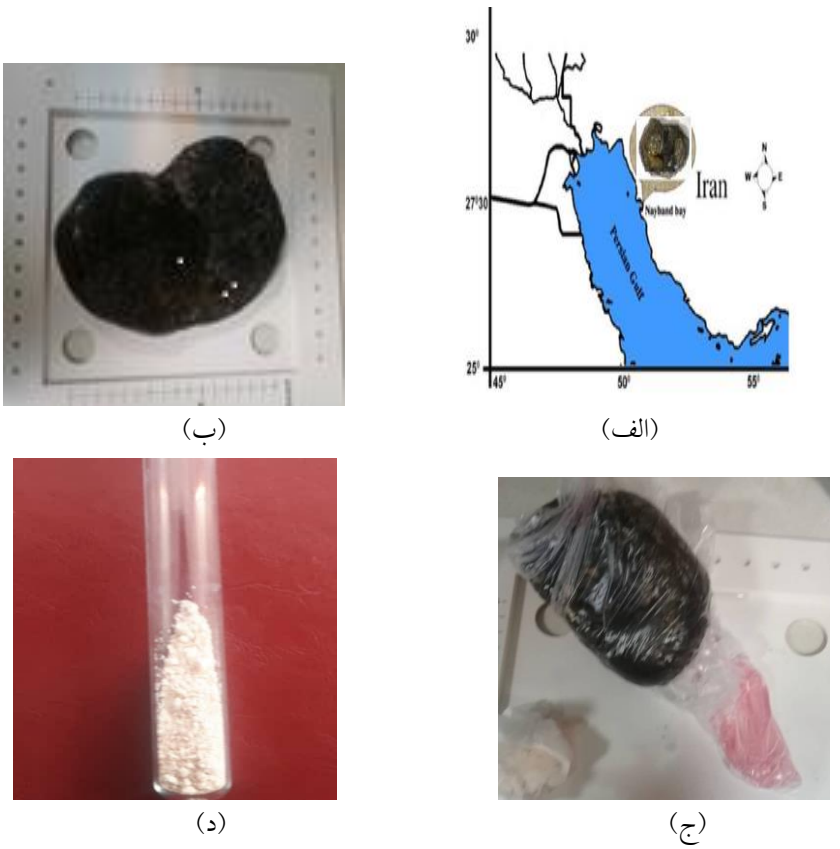
آماده‌سازی عصاره تونیکروم، جهت آزمون‌های میکروبی

به‌منظور تهیه عصاره آبی تونیکروم با غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر، ابتدا ۰/۷۵ گرم از پودر لیوفیلیزه شده تونیکروم، در ۵ میلی‌لیتر آب مقطر استریل به‌کمک ورتکس کاملاً مخلوط گردید. به‌منظور استریل نمودن عصاره، سوسپانسیون به‌دست آمده ابتدا از فیلتر سرنگی (جت‌بیوفیل[9]، چین)، با قطر ۰/۴۵ میکرومتر و پس از آن، از فیلتر با قطر ۰/۲۲ میکرومتر عبور داده شد. جهت اطمینان از استریل بودن عصاره، مقدار ۵۰ میکرولیتر از آن بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار (مرک، آلمان)، به‌صورت خطی کشت داده شد و به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، گرمخانه‌گذاری گردید. با مشاهده عدم رشد باکتری در روز بعد، از

[6] Merck
[7] Eppendorf
[8] Christ
[9] Jet Biofil

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-09]
[DOI: 10.52547/ismj.24.1.27]

استریل بودن عصاره اطمینان حاصل شد. عصاره پس از تهیه، تا زمان آنالیز میکروبی در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (۲۱ و ۲۲).



(الف) (ب)

(ج) (د)

شکل ۱) الف) منطقه نمونه‌برداری ب) تونیکات دریایی فالوسیا نیگرای به‌دست آمده از سواحل بوشهر ج) تونیکروم مترشحه از آن (رنگ صورتی) د) پودر لیوفیلیزه شده نمونه تونیکروم

Fig 1) A) Sampling region; B) *Phallusia nigra* marine tunicate obtained from Bushehr Coast; C) Released tunichrome (pink); D) Freeze dried tunichrome sample

آماده‌سازی نمونه، جهت تعیین ترکیبات شیمیایی

به‌منظور تهیه عصاره آلی تونیکروم، ابتدا مقدار دو گرم از پودر لیوفیلیزه عصاره آبی، با ۲۰۰ میلی‌لیتر از مخلوط حلال‌های متانول: کلروفرم: ان- هگزان (۱:۱:۱)، به‌مدت ۲۴ ساعت با دور ۱۰۰rpm به‌هم زده شد. محلول حاصل، در لوله‌های فالکونی برای مدت زمان ۲۰ دقیقه با دور ۴۰۰۰ rpm سانتریفوژ گردید. سپس، مایع شفاف رویی توسط کاغذ صافی واتمن (شماره ۱)، فیلتر و حلال آن توسط دستگاه تبخیرکننده روتاری[10] حذف گردید. نمونه به‌دست آمده جهت تزریق به دستگاه کروماتوگرافی گازی- طیف‌سنج جرمی (GC-MS)، در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید (۲۳).

[10] Rotary evaporator

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-09]

[DOI: 10.52547/ismj.24.1.27]

بررسی اثر ضد میکروبی عصاره آبی تونیکروم به روش انتشار در حفره آگار[11]

فعالیت ضد میکروبی عصاره آبی تونیکروم در برابر چهار سویه باکتری از طریق سنجش قطر هاله عدم رشد باکتری و به روش انتشار در حفره آگار مورد ارزیابی قرار گرفت. در این روش پس از آماده کردن سوسپانسیون میکروبی هر باکتری با کدورت معادل نیم مک فارلند ($۱/۵ \times ۱۰^{۸}$ cfu/ml)، با استفاده از سوآپ استریل بر سطح محیط کشت مولر هینتون آگار (مرک آلمان)، کشت یکنواختی (چمنی) از باکتری‌ها تهیه گردید. پس از آن، چاهکی با قطر ۶ میلی‌متر به‌وسیله پانچ در محیط کشت ایجاد شد. کف چاهک با استفاده از ۲۰ میکرولیتر محیط کشت ذوب شده جهت جلوگیری از نشت عصاره به زیر محیط، پوشانده شد و پلیت‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در یخچال قرار گرفتند. سپس مقدار ۵۰ میکرولیتر از عصاره تونیکروم، با غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در چاهک ریخته شد. پلیت‌ها به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شدند. با اندازه‌گیری قطر هاله‌های عدم رشد، میزان حساسیت یا مقاومت باکتری‌ها نسبت به عصاره تونیکروم مورد سنجش قرار گرفت. به‌عنوان کنترل مثبت، از آنتی‌بیوتیک تجاری جنتامایسین (۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) و برای کنترل منفی از حلال استخراج (سرم فیزیولوژی) در این مطالعه استفاده شد. به‌منظور جلوگیری از بروز هرگونه خطا در نتایج به‌دست آمده، این آزمون سه بار تکرار شد (۲۴ و ۲۵).

تعیین حداقل غلظت بازدارنده رشد (MIC)[12] و حداقل غلظت کشندگی (MBC)[13]

جهت ارزیابی MIC نمونه تونیکروم، از روش رقت‌سازی در لوله (ماکرودایلوشن)[14] استفاده گردید. به‌طور خلاصه، برای هر سویه مورد بررسی، تعداد ۱۲ لوله آزمایش استریل، شامل ۹ لوله آزمون و سه لوله کنترل رشد، تهیه و به تمامی لوله‌ها مقدار یک میلی‌لیتر محیط کشت مولر هینتون براث دوبل اضافه گردید. از غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتری عصاره آبی تونیکروم، به‌ترتیب سریال‌های رقتی با رقت‌های ۱:۲، ۱:۴، ۱:۸، ۱:۱۶، ۱:۳۲ تا لوله شماره ۹ تهیه گردیدند. بدین‌ترتیب که به لوله شماره (۱)، مقدار یک میلی‌لیتر عصاره آبی تونیکروم با غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اضافه و با ورتکس به‌هم زده شد. این لوله، به‌عنوان اولین رقت مشخص گردید. پس از آن، مقدار یک میلی‌لیتر از محتویات آن، به لوله شماره (۲) افزوده و به‌هم زده شد. بدین ترتیب، این عمل تا لوله شماره (۹)، ادامه یافت. در مرحله بعد، مقدار ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون هر باکتری با کدورت ۰/۵ مک فارلند، هر کدام به‌طور جداگانه، به‌ترتیب به همه لوله‌ها اضافه گردید. لوله کنترل مثبت رشد، فاقد عصاره آبی تونیکروم و حاوی باکتری بود که انتظار می‌رفت محتوای آن پس از انکوباسیون، به‌دلیل حضور باکتری و عدم حضور عصاره، کدر باشد. دو لوله کنترل منفی رشد، یکی فاقد باکتری و فاقد عصاره آبی تونیکروم و دیگری فاقد باکتری و حاوی عصاره آبی تونیکروم در نظر گرفته شد. انتظار می‌رفت محتوای لوله کنترل منفی رشد فاقد باکتری و حاوی عصاره آبی تونیکروم، پس از انکوباسیون، به‌دلیل عدم حضور باکتری کاملا شفاف باشد. سپس، لوله‌های آزمایش به‌مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷

[11] Agar well diffusion
[12] Minimum Inhibitory Concentration
[13] Minimum Bactericidal Concentration
[14] Macrodilution

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-09]
[DOI: 10.52547/ismj.24.1.27]

درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. اولین لوله از غلظت‌های پایین عصاره که فاقد کدورت ناشی از رشد باکتری باشد به‌عنوان حداقل غلظت مهار کننده رشد (MIC) تعیین گردید. تعیین کمترین غلظت کشندگی باکتری (MBC) به معنای غلظتی از ماده مورد بررسی است که سبب از بین رفتن ۹۹/۹ درصد از تعداد میکروارگانیسم مورد بررسی می‌گردد. برای تعیین این غلظت بعد از مشخص شدن MIC، مقدار ۱۰ میکرولیتر از محتویات لوله‌های بدون رشد، پس از همزدن، بر روی پلیت نوترینت آگار کشت داده شد. سپس، به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور قرار گرفت. کمترین غلظتی از عصاره که هیچ‌گونه رشد باکتریایی برای آن مشاهده نشد، به‌عنوان حداقل غلظت کشندگی باکتری ثبت گردید. به‌منظور جلوگیری از بروز هرگونه خطا در نتایج به‌دست آمده این آزمون سه بار تکرار شد (۲۱ و ۲۶).

تعیین ترکیبات شیمیایی (متابولیت‌های ثانویه) عصاره تونیکروم توسط GC-MS

ترکیبات شیمیایی عصاره آلی تونیکروم، توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی-طیف‌سنج جرمی (GC-MS) شناسایی گردیدند. دستگاه کروماتوگرافی گازی (Agilent Technologies ۷۸۹۰ B)، مجهز به آشکارساز طیف‌سنجی جرمی (سری ۵۹۷۷A)، با سیستم یونش الکترونی (EI)، با انرژی معادل ۷۰ الکترون ولت (eV)، جهت تولید الکترون توسط یک نشر فیلامنت ۰/۵ میلی‌آمپری و تجزیه‌گر یونی چهار قطبی[15]، ستون مویین (HP-۵UI MS) از جنس سیلیکای ذوب شده از نوع فاز پیوندی با طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت فیلم[16] ۰/۲۵ میکرومتر بود. گاز هلیم به‌عنوان گاز حامل با فشار ۴psi با درصد خلوص ۹۹/۹۹ درصد و با فلوی ۲۱/۷ میلی‌لیتر بر دقیقه، مورد استفاده قرار گرفت. پس از عبور نمونه از فیلتر سر سرنگی، مقدار یک میکرولیتر از آن توسط اتوسمپلر با نسبت تقسیم[17] معادل ۱:۳۰، به دستگاه تزریق گردید. دمای اینجکتور ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد بود. در برنامه دمایی، دستگاه ابتدا در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱ دقیقه با سرعت ۱ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه و سپس در دمای ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۱۵ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه به‌مدت ۲۰ دقیقه قرار گرفت. دماهای آشکارساز، منبع یون و سیستم تجزیه‌گر یونی چهار قطبی به‌ترتیب ۲۳۰، ۲۳۰ و ۱۵۰ درجه سانتی‌گراد تعیین گردیدند. محدوده اسکن طیف جرمی، m/z ۵۰ تا ۵۵۰ بود. ترکیبات و فراوانی آن‌ها، با مقایسه با داده‌های کتابخانه‌های NIST و Wiley و همچنین با جستجو در بانک داده‌ای پزشکی پابکم[18]، مورد شناسایی قرار گرفتند. مدیریت دستگاه GC-MS با استفاده از برنامه نرم‌افزاری کمستیشن[19] انجام گرفت (۲۳).

تجزیه و تحلیل آماری

به‌منظور بررسی اثر ضد میکروبی عصاره تونیکروم بر روی باکتری‌های مورد مطالعه، آزمایش‌ها در سه بار تکرار انجام گردیدند. از نرم‌افزار SPSS ویرایش ۲۰ و آزمون آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه و پس آزمون توکی جهت بررسی اختلافات بین میانگین‌ها در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ استفاده شد.

[15] Quadrupole mass analyzer
[16] Film thickness
[17] Split ratio
[18] Pubchem
[19] Chemstation

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-09]
[DOI: 10.52547/ismj.24.1.27]

یافته‌ها

نتایج تعیین حساسیت باکتری‌های مورد مطالعه به عصاره آبی تونیکروم به روش انتشار در حفره آگار

نتایج ارزیابی اثرات ضد باکتری عصاره آبی تونیکروم بر روی سویه‌های باکتری استافیلوکوکوس اورئوس زیر گونه اورئوس، باسیلوس سرئوس، سالمونلا انتریکا زیر گونه انتریکا و اشریشیاکلی سروتیپ O۱۵۷:H۷ با استفاده از روش انتشار در حفره آگار در جدول (۱) آمده است..

جدول ۱) فعالیت ضد باکتری عصاره آبی تونیکروم مترشحه از تونیکات دریایی فالوسیا نیگرا، بر روی چهار سویه باکتری استافیلوکوکوس اورئوس زیر گونه اورئوس، باسیلوس سرئوس، سالمونلا انتریکا زیر گونه انتریکا و اشریشیاکلی سروتیپ O۱۵۷:H۷ به روش انتشار در حفره آگار

سویه باکتری	هاله عدم رشد (میلی‌متر)	
	عصاره آبی تونیکروم	کنترل (+) *
استافیلوکوکوس اورئوس زیر گونه اورئوس	۱۴±۰/۳ [a] **	۱۶±۰/۲ [a]
باسیلوس سرئوس	۱۸±۰/۳ [b]	۱۹±۰/۲ [b]
سالمونلا انتریکا زیر گونه انتریکا	۱۷±۰/۲ [c]	۱۸±۰/۳ [c]
اشریشیاکلی سروتیپ O۱۵۷:H۷	۱۵±۰/۲ [d]	۱۷±۰/۳ [d]

* کنترل (+): جنتامایسین (۱۰µg/ml)؛ ** مقادیر بر اساس میانگین ± انحراف معیار گزارش شده است؛ حروف غیر متشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح p <۰/۰۵ می‌باشند.

تشکیل شدن هاله، بیانگر مؤثر بودن عصاره تونیکروم بر روی هر چهار باکتری مورد بررسی می‌باشد. بزرگ‌ترین هاله عدم رشد (۱۸ میلی‌متر) در باکتری باسیلوس سرئوس دیده شد و کوچک‌ترین هاله عدم رشد (۱۴ میلی‌متر) مربوط به باکتری استافیلوکوکوس اورئوس بود. بنابراین، باکتری باسیلوس سرئوس به‌طور معنی‌داری (p<۰/۰۵) حساس‌ترین سویه و باکتری استافیلوکوکوس اورئوس به‌طور معنی‌داری (p<۰/۰۵) مقاوم‌ترین سویه در برابر عصاره آبی تونیکروم بودند.

نتایج تعیین MIC عصاره آبی تونیکروم به روش رقت‌سازی در لوله (ماکرودایلوشن)

نتایج ارزیابی اثرات ضد باکتری عصاره آبی تونیکروم بر روی سویه‌های باکتری استافیلوکوکوس اورئوس زیر گونه اورئوس، باسیلوس سرئوس، سالمونلا انتریکا زیر گونه انتریکا و اشریشیاکلی سروتیپ O۱۵۷:H۷ با استفاده از روش رقت‌سازی (ماکرودایلوشن) در جدول (۲) آمده است.

نتایج نشان دادند که حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره آبی تونیکروم برای باکتری‌های سالمونلا انتریکا و باسیلوس سرئوس، ۰/۵۹ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و برای باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیاکلی، ۱/۱۷ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر می‌باشد. حداقل غلظت کشندگی عصاره آبی تونیکروم نیز برای باکتری‌های سالمونلا انتریکا و باسیلوس سرئوس، ۱/۱۷ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و برای باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیاکلی، ۲/۳۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. بررسی نتایج جداول (۱ و ۲)، نشان داد که میزان فعالیت ضد باکتری عصاره آبی تونیکروم بر روی باکتری‌های سالمونلا انتریکا و باسیلوس سرئوس بیشتر است.

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-09]

[DOI: 10.52547/ismj.24.1.27]

پروفایل ترکیبات شیمیایی (متابولیت‌های ثانویه) تونیکروم در عصاره متانول:کلروفرم:ان-هگزانی (۱:۱:۱) حاصل از آنالیز GC-MS در جدول ۳، آورده شده است. در آنالیز دستگاهی نمونه، تعداد ۱۴ ترکیب شیمیایی مختلف با گروه‌های عاملی و ساختارهای شیمیایی متفاوت نظیر کربوکسیلیک اسیدی، استری، تیازینی و اسپایروست، در عصاره متانول: کلروفرم: ان-هگزانی تونیکروم شناسایی گردیدند. عمده‌ترین ترکیب عصاره را اکتادکانوئیک اسید متیل استر (۲۵/۷۴۴ درصد) و پس از آن، هگزادکانوئیک اسید ۲-هیدروکسی-۱-(هیدروکسی متیل) اتیل استر (۱۷/۴۲۹ درصد) و نونانال (۱۴/۰۸۳ درصد) بودند.

جدول ۲) فعالیت ضد باکتری عصاره آبی تونیکروم مترشحه از تونیکات دریایی فالوسیا نیگرا، بر روی چهار سویه باکتری استافیلوکوکوس اورئوس زیر گونه اورئوس، باسیلوس سرئوس، سالمونلا انتریکا زیر گونه انتریکا و اشریشیاکلی سروتیپ O۱۵۷:H۷ به روش رقت‌سازی در لوله (ماکرودایلوشن)

سویه باکتری	عصاره آبی تونیکروم	
	MIC	MBC
	(میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)	
استافیلوکوکوس اورئوس زیر گونه اورئوس	۱/۱۷	۲/۳۴
باسیلوس سرئوس	۰/۵۹	۱/۱۷
سالمونلا انتریکا زیر گونه انتریکا	۰/۵۹	۱/۱۷
اشریشیاکلی سروتیپ O۱۵۷:H۷	۱/۱۷	۲/۳۴

جدول ۳) پروفایل ترکیبات شیمیایی در عصاره مخلوط متانول:کلروفرم:ان- هگزانی (۱:۱:۱)، تونیکروم مترشحه از تونیکات دریایی فالوسیا نیگرا توسط GC-MS

ردیف	زمان بازداری (دقیقه) *	نام ترکیب	فرمول مولکولی	وزن مولکولی (گرم/ مول)	فراوانی (درصد)
۱	۳/۲۱۷	۴-Phenyltetrahydro-۱,۳-oxazine-۲-thione	$C_{۱۰}H_{۱۱}NOS$	۱۹۳/۲۷	۰/۷۰۵
۲	۵/۹۲۲	Nonanal	$C_{۹}H_{۱۸}O$	۱۴۲/۲۴	۱۴/۰۸۳
۳	۸/۳۹۲	۳,۳-Dimethyl-۱-(۲-carboxyphenyl)triazene	$C_{۹}H_{۱۱}N_{۳}O_{۲}$	۱۹۳/۲	۰/۸۶۹
۴	۸/۴۷۷	۳-Methy۱-۲-[۴-(۳-methyl-butoxy)-benzoylamino]-butyric acid	$C_{۱۷}H_{۲۵}NO_{۴}$	۳۰۷/۴	۰/۸۶۹
۵	۸/۶۸۳	p-Cynophenyl p-(۲-propoxyethoxy)benzoat	$C_{۱۹}H_{۱۹}NO_{۴}$	۳۲۵/۴	۰/۸۶۹
۶	۸/۸۸۴	(+)-trans-۳,۴-Dimethyl-۲-phenyltetrahydro-۱,۴-thiazine	$C_{۱۲}H_{۱۷}NS$	۲۰۷/۳	۰/۸۶۹
۷	۱۷/۰۶۱	Phenol, ۲,۴-bis(۱,۱-dimethylethyl)-	$C_{۱۴}H_{۲۲}O$	۲۰۶/۳۲	۰/۷۳۲
۸	۱۷/۶۷۷	Hexadecanoic acid, methyl ester	$C_{۱۷}H_{۳۴}O_{۲}$	۲۷۰/۵	۹/۰۶۴
۹	۱۸/۷۶۵	n-Hexadecanoic acid	$C_{۱۶}H_{۳۲}O_{۲}$	۲۵۶/۴۲	۵/۸۴۰
۱۰	۲۱/۹۵۶	Hydrazinecarbothioamide, ۲-[۱-(۴-nitrophenyl)ethylidene]-	$C_{۹}H_{۱۰}N_{۴}O_{۲}S$	۲۳۸/۲۷	۱۲/۳۸۳
۱۱	۲۳/۰۲۱	Octadecanoic acid, methyl ester	$C_{۱۹}H_{۳۸}O_{۲}$	۲۹۸/۵	۲۵/۷۴۴
۱۲	۲۴/۰۲۰	Octadecanoic acid	$C_{۱۸}H_{۳۶}O_{۲}$	۲۸۴/۵	۹/۶۶۹
۱۳	۲۷/۳۲	Spirost-۸-en-۱۱-one,۳-hydroxy-,(۳β,۵α,۱۴β.۲۰β,۲۲β,۲۵R)-	$C_{۲۷}H_{۴۰}O_{۴}$	۴۲۸	۰/۸۶۹
۱۴	۲۹/۳۶۸	Hexadecanoic acid, ۲-hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethyl ester	$C_{۱۹}H_{۳۸}O_{۴}$	۳۳۰/۵	۱۷/۴۲۹

* RT: Retention Time

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-09]

[DOI: 10.52547/ismj.24.1.27]

بحث

امروزه یکی از مشکلات اصلی بهداشت عمومی، مرگ و میر ناشی از بیماری‌های عفونی ایجاد شده به‌وسیله میکروارگانیسم‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک می‌باشد (۲۷). این میزان مقاومت در سراسر جهان به‌طور هشدار دهنده‌ای رو به افزایش است (۲۸). بنابراین، در حال حاضر مطالعه بر روی داروهای جدید، به‌ویژه آنتی‌بیوتیک‌هایی که بتوانند از انتشار عوامل بیماری‌زای مقاوم به آنتی‌بیوتیک جلوگیری نمایند از اهمیت ویژه‌ای برخوردار می‌باشند (۲۷). با وجود پیشرفت‌های قابل توجه در سنتز شیمیایی ترکیبات ضد میکروبی، با توجه به عوارض طولانی مدت برخی از این ترکیبات، جایگزینی آن‌ها با ترکیباتی با منشاء طبیعی ضرورت می‌یابد (۲۸).

برخی عوامل میکروبی، مسبب آلودگی مواد غذایی نیز می‌باشند. این آلودگی‌ها چه اولیه و چه ثانویه، می‌توانند در انسان بیماری‌های عفونی و یا توسط سموم ترشح شده آن‌ها، مسمومیت ایجاد نمایند. در برخی مواقع، مسمومیت‌ها و عفونت‌ها نیز می‌توانند توام با هم ایجاد گردند که بدین منظور از نگهدارنده‌های مصنوعی به‌طور گسترده در مواد غذایی صنعتی استفاده می‌شود. برخی از این ترکیبات، به‌شدت برای سلامتی بشر مضر بوده و در اثر مصرف مستمر و طولانی مدت به تدریج موجب سرطان‌زایی می‌گردند. بنابراین جایگزینی آن‌ها با انواع طبیعی منطقی به‌نظر می‌رسد (۱۰). گرچه، بیشترین مقدار ترکیبات میکروبی مانند آنتی‌بیوتیک‌ها و متابولیت‌ها از منابع خشکی‌زی از جمله میکروارگانیسم‌های زمینی مشتق شده‌اند؛ با این وجود، از اواخر دهه ۱۹۸۰ تلاش‌ها برای دستیابی به ترکیبات جدید و مهم زیستی از منابع دریازی آغاز گردید (۲۹ و ۳۰). ترکیب جداسازی و خالص‌سازی شده از تونیکات تریدیدمنوم سولیدوم[20]، نخستین ترکیبی بود که به فاز کارآزمایی بالینی به‌عنوان ترکیب طبیعی خالص ضد سرطان وارد شد (۳۱) هرچند که در ادامه از کارآزمایی بالینی بازایستاد (۳۲).

اثرات ضد میکروبی عصاره‌های خام مختلف برخی گونه‌های تونیکات علیه باکتری‌ها و قارچ‌های پاتوژن نشان داده شده‌اند (۳۶-۳۳). برخی ترکیبات زیستی تولید شده توسط گیاهان و جانوران دریایی، دارای فعالیت‌های ضد باکتری هستند (۳۷). اجزای زیست فعال موجود در عصاره، توانایی اتصال به سطح سلول را داشته و پس از اتصال می‌تواند به لایه‌های فسفولیپید غشای سلولی نفوذ نمایند. این عمل موجب می‌گردد که یکپارچگی ساختار غشاء سلول میکروارگانیسم از طریق ازدیاد و انباشته شدن این ترکیبات مختل گردیده که با تاثیر بر متابولیسم سلول، موجب مرگ آن می‌شود (۳۸ و ۳۹). بنابراین، فعالیت‌های بیولوژیک از جمله فعالیت‌های ضد میکروبی، مربوط به ترکیبات زیست فعال موجود در ماتریکس جانداران به وجود آورنده آن‌ها، می‌باشند.

در این مطالعه از عصاره آبی تونیکروم به‌عنوان ماده ضد باکتری با منشاء دریایی استفاده شد. بر اساس نتایج، تونیکروم مترشحه از تونیکات دریایی فالوسیا نیگرای خلیج‌فارس دارای فعالیت‌های مهارکنندگی و کشندگی قابل ملاحظه‌ای در برابر هر چهار سویه باکتری مورد بررسی بود و به خوبی قادر به مهار رشد سویه‌های عامل عفونت و مسمومیت غذایی بر سطح محیط کشت بود. میزان فعالیت ضد باکتری عصاره تونیکروم، در برابر باکتری‌های باسیلوس سرئوس و سالمونلا انتریکا زیر گونه انتریکا بیشتر بود. نتایج نشان دادند که عصاره آبی

[20] *Tridemnum solidum*

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-09]

[DOI: 10.52547/ismj.24.1.27]

تونیکروم توانست باعث مهار رشد باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی مورد مطالعه شود و به‌طور انتخابی یک گروه از میکروارگانیسم‌ها را مهار نکرد.

با وجود شناسایی گونه‌های متعدد آبزیان در خلیج‌فارس، لکن تاکنون تونیکات‌های دریایی علیرغم اهمیت اکولوژیک و فارماکولوژیک آن‌ها مورد توجه کمتری قرار گرفته‌اند. تاکنون مطالعه‌ای در مورد فعالیت‌های بیولوژیک از جمله فعالیت ضد میکروبی تونیکروم تونیکات دریایی فالوسیا نیگرای خلیج‌فارس صورت نگرفته است. هرچند، مطالعاتی در مورد فعالیت ضد میکروبی سایر گونه‌های تونیکات دریایی در سایر مناطق دنیا گزارش شده‌اند. در یک مطالعه مشابه کارتی (Karthi) و همکاران، فعالیت ضد میکروبی عصاره متانولی اسیدیان کلنی گونه لیسوکلینوم بیستراتوم[21] را به روش انتشار در دیسک در برابر باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، ویبریو کلرا، سالمونلا تایفی، سودوموناس آئروژنز و اشریشیاکلی مورد بررسی قرار دادند. نتایج مطالعه، حساسیت تمامی سویه‌ها را نشان داد. بیشترین فعالیت ضد میکروبی بر روی باکتری سودوموناس آئروژنز مشاهده شد. آن‌ها همچنین، با استفاده از GC-MS تعداد ۱۴ ترکیبات شیمیایی را شناسایی نمودند که ۱۲ مورد آن دارای فعالیت ضد میکروبی بود که آن را دلیل فعالیت ضد میکروبی گسترده علیه باکتری‌های گرم مثبت و منفی عنوان نمودند. در مطالعه حاضر، عصاره تونیکروم فعالیت ضدباکتری قابل ملاحظه‌ای در برابر تمامی سویه‌ها از جمله استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیاکلی از خود نشان داد که با یافته‌های کارتی و همکاران، هم‌خوانی داشت. همچنین، تعداد ۱۴ ترکیب شیمیایی شناسایی گردیدند که ۱۲ مورد آن دارای اثرات ضد میکروبی بودند (۳۳). علاوه بر این، آنانتان (Ananthan) و ایاپان (Iyappan)، حساسیت سویه‌های اشریشیاکلی، کلبسیلا نمونیه، پروتئوس میرابیلیس و سودوموناس آئروژنز را در برابر عصاره‌های متانولی و اتیل استاتی اسیدیان گونه میکروکوسموس اکساسپراتوس[22] به روش انتشار در دیسک گزارش نمودند. بیشترین فعالیت ضدمیکروبی در عصاره متانولی و بر روی باکتری سودوموناس آئروژنز بود. در مطالعه حاضر، عصاره تونیکروم در غلظت به‌کار گرفته شده در برابر باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سرئوس، سالمونلا انتریکا و اشریشیاکلی دارای فعالیت ضد باکتری قابل ملاحظه‌ای بود (۳۴). فعالیت ضد میکروبی عصاره‌های اتانولی و متانولی اسیدیان گونه فالوسیا آرابیکا[23] در برابر چندین سویه بیماری‌زای انسانی شامل اشریشیاکلی، سودوموناس آئروژنز، کلبسیلا نمونیه و استافیلوکوکوس اورئوس به روش انتشار در دیسک در مطالعه سلوا پرابهو (Selva Prabhu) و همکاران، نشان داده شد. بیشترین حساسیت مربوط به باکتری سودوموناس آئروژنز بود. میزان MIC و MBC برای استافیلوکوکوس اورئوس به‌ترتیب ۰/۷۰ و ۰/۸۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و برای اشریشیاکلی به‌ترتیب ۰/۸۰ و ۰/۹۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر گزارش گردیدند. در مطالعه اخیر، تونیکروم فعالیت ضد باکتری قابل ملاحظه‌ای در برابر تمامی سویه‌های مورد مطالعه از جمله استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیاکلی نشان داد که با یافته‌های سلوا پرابهو و همکاران، هم‌خوانی داشت. میزان MIC و MBC برای باکتری‌های مذکور به‌ترتیب ۱/۱۷ و ۲/۳۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر گزارش

[21] *Lissoclinum bistratum*
[22] *Microcosmus exasperatus*
[23] *Phallusia arabica*

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-09]
[DOI: 10.52547/ismj.24.1.27]

گردیدند (۳۵). همچنین، در مطالعه سیواپرومال (Sivaperumal) و همکاران، فعالیت ضد میکروبی عصاره‌های متانولی، اتیل استاتی و پترولیوم اتری تونیکات گونه آپلیدوم مولتیپلیکاتوم[۲۴] به روش انتشار در دیسک در برابر سویه‌های باکتری گرم مثبت شامل استافیلوکوکوس اورئوس، استرپتوکوکوس نمونیه و باکتری‌های گرم منفی شامل اشریشیاکلی، کلبسیلا نمونیه، کلبسیلا اکسیتوکا، سودوموناس آئروژنز، سالمونلا تایفی و سالمونلا پاراتایفی مورد ارزیابی قرار گرفت. باکتری سودوموناس آئروژنز بیشترین حساسیت را نسبت به عصاره اتیل استات داشت. میزان MIC و MBC برای استافیلوکوکوس اورئوس به‌ترتیب ۰/۸۵ و ۰/۹۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و برای اشریشیاکلی به‌ترتیب ۰/۸۵ و ۰/۹۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر گزارش گردیدند (۳۶). مطالعات مورد بررسی بیشتر بر روی عصاره‌های مختلف تونیکات کامل انجام گردیده که نشان از اثرات ضد میکروبی قابل ملاحظه‌ای علیه میکروارگانیسم‌ها بود (۴۰).

از بین ۱۴ ترکیب شناسایی شده در عصاره تونیکروم، خواص ضد میکروبی در برابر طیف وسیعی از باکتری‌های گرم مثبت و منفی در ۱۲ ترکیب در متون پیشین نشان داده شده‌اند که بخشی از فعالیت ضد میکروبی گسترده تونیکروم در مطالعه اخیر را می‌توان به آن‌ها نسبت داد. این ترکیبات علاوه بر اثرات ضد میکروبی دارای اثرات درمانی نیز می‌باشند. بنابراین، می‌توان در کنار اثرات ضد میکروبی عصاره تونیکروم از خواص دارویی آن نیز بهره جست. اگرچه مطالعه اثر هر ترکیب مستلزم خالص‌سازی و مشاهده اثر آن فراکشن می‌باشد. یکی از ترکیبات شناسایی شده در تونیکروم ۴- فنیل تترا هیدرو ۱ و ۳- اگزانین- ۲- تیون با هسته اگزازینی می‌باشد. ترکیبات با هسته اگزازینی دارای اثرات بیولوژیکی ارزشمندی از قبیل اثرات ضددرد، ضدالتهاب، ضدلوسمی، ضد مالاریا و ضد میکروبی می‌باشند (۴۱). مطالعات اثرات ضدمیکروبی قابل ملاحظه مشتقات سنتز شده ۱ و۳ - اگزازین را نشان داده‌اند (۴۲ و ۴۳). سانیل (Sunil) و همکاران، در مطالعه‌ای، اثر فعالیت ضد میکروبی این ترکیب را در برابر باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیاکلی گزارش نمودند (۴۴). بنابراین، با توجه به اثر ضد میکروبی قابل ملاحظه عصاره تونیکروم در مطالعه حاضر، محتمل است وجود این ترکیب در ماتریکس عصاره تونیکروم، این اثرات را به آن القاء نماید. ترکیب نونانال از جمله ترکیبات موجود در عصاره تونیکروم با اثرات مختلف بیولوژیکی به‌ویژه اثرات ضد باکتری می‌باشد (۴۵ و ۴۶). یکی از ترکیبات مورد شناسایی در تونیکروم، ۳-متیل-۲- [۴- (۳- متیل-بوتوکسی)- بنزوئیل آمینو]-بوتیریک اسید با اثر ضد باکتری قابل ملاحظه‌ای است. در مطالعه کواندا (Kovanda) و همکاران، فعالیت ضد میکروبی قابل ملاحظه‌ای برای این ترکیب شیمیایی در برابر اشریشیاکلی مشاهده شده است (۴۷). حضور این ترکیب در عصاره مطالعه حاضر، می‌تواند یکی از علل فعالیت ضد باکتری تونیکروم باشد. ترکیب تیازینی $C_{۱۲}H_{۱۷}NS$، یکی دیگر از اجزاء شناسایی شده در ماتریکس تونیکروم بود. در مطالعه بدشاه (Badshah) و نعیم (Naeem)، ترکیب (+)-ترانس-۳،۴- دی متیل-۲- فنیل تتراهیدرو-۱،۴-تیازین فعالیت ضد میکروبی گسترده‌ای را در برابر باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، اشریشیاکلی نشان داد (۴۸). هسته تیازینی هر ترکیب آلی هتروسیکلیک، دارای

[24] *Aplidium multiplicatum*

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-09]

[DOI: 10.52547/ismj.24.1.27]

اثرات فارماکولوژی متنوعی از جمله فعالیت‌های ضد توموری، ضد باکتری، ضد قارچی، ضد ویروسی و ضد التهابی است (۴۹). رابطه مستقیمی بین اثرات ضد میکروبی و وجود این هسته در ترکیبات دارنده آن، وجود دارد. در مطالعه شوتا (Shweta) و دیپیکا (Deepika)، اثرات ضد باکتری قابل ملاحظه مشتقات سنتز شده تیازین در برابر باکتری‌هایی چون باسیلوس سابتیلیس و اشریشیاکلی نشان داده شد (۵۰). علاوه بر این، اثرات برون‌تنی ترکیب ۱ و ۳- تیازین‌ها در برابر باکتری‌های اشریشیاکلی، استرپتوکوکوس اورئوس، باسیلوس سابتیلیس و سودوموناس آئروژنز با دامنه وسیعی از فعالیت ضد میکروبی در مطالعه دشموخ (Deshmukh)، مشاهده گردید (۵۱). بنابراین، می‌توان بیان نمود که حداقل مقداری از فعالیت‌های ضد باکتری تونیکروم می‌تواند به حضور این ترکیبات با هسته تیازینی مربوط باشد. رنگ‌های آزینی، اگزازینی و تیازینی از جمله رنگ‌های اولیه بودند. این نام‌ها از حلقه هتروسیکلیک شش عضوی موجود در همه رنگ‌های این گروه یعنی ۱،۴- دیازین؛ ۱،۴- اگزازین و ۱،۴- تیازین گرفته شده است. به نظر می‌رسد که ترکیب ۱،۴- تیازینی موجود مسئول ایجاد رنگ در تونیکروم باشد. ۱،۴- تیازین (AKA پاراتیازین)، یک ترکیب هتروسیکلی غیر اشباع با اتم‌های ازت و گوگرد در گوشه‌های مخالف یک حلقه شش عضوی است. ۱،۴- تیازین خود نادر است و کاربردهای محدودی دارد، اما دارای مشتقات فراوانی است که بیشتر موارد استفاده آن‌ها به عنوان رنگ، دارو و حشره‌کش‌ها می‌باشد. نمونه اشباع شده آن به‌عنوان تیومورفولین[25] شناخته می‌شود (۵۲). برخی آنالوگ‌های ۱،۴- تیازین مشتق از ترکیبات هسته والدین تیازینی طیف گسترده‌ای از فعالیت‌های ضدباکتری را در شرایط برون‌تنی نشان دادند. آن‌ها در مطالعه گویندان (Govindan) و همکاران، علیه انواع مختلفی از باکتری‌های بیماری‌زای گرم مثبت و گرم منفی فعال بودند (۵۳). فعالیت این گروه در مطالعه بنسود (Bansode) و همکاران، نیز دیده شده است (۵۴). ترکیب شیمیایی فنل ۲ و ۴- بیس (۱ و ۱ دی متیل اتیل) که به‌نام ۲ و ۴ دی‌ترت بوتیل فنل (2,4-DTBP) نیز شناخته می‌شود؛ در عصاره تونیکروم شناسایی گردید که دارای فعالیت ضدمیکروبی می‌باشد (۵۵). نتایج هوانگ (Huang) و همکاران، فعالیت ضد میکروبی برای ترکیبات شیمیایی متیل استر هگزادکانوئیک اسید، ان- هگزادکانوئیک اسید و هگزادکانوئیک اسید، ۲- هیدروکسی-۱- (هیدروکسی‌متیل) اتیل استر را نشان دادند (۵۶). ترکیب هیدرازین‌کربوتیوآمید،۲-[۱- (۴-نیتروفنیل) اتیلیدن]، از جمله ترکیبات موجود در عصاره تونیکروم بود. این ترکیب به‌نام ۴- نیترواستوفنون تیوسمی کاربازون[26] نیز شناخته می‌شود و یک سیکلودودکانون تیوسمی‌کربازون می‌باشد. مشتقات تیوسمی‌کاربازون‌ها به دلیل خاصیت اتصال به یون‌های فلزی و کاربردهای بیولوژیکی، حائز اهمیت هستند. در بسیاری از مطالعات فعالیت‌های ضد ویروسی، ضد قارچی، ضد باکتری، ضد انگلی و ضد توموری کمپلکس‌های تیوسمی‌کاربازون با سرب و مس مورد تائید واقع شده است (۵۷). علاوه بر این، پریزربولدو (Perez-Rebolledo)، با بررسی کمپلکس‌های برخی از مشتقات تیوسمی‌کاربازون با مس، نشان داد که فعالیت آنتی‌تریپانوزومی این ترکیبات بیش از داروهای

[25] Thiomorpholine
[26] 4'-Nitroacetophenone thiosemicarbazone

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-09]
[DOI: 10.52547/ismj.24.1.27]

مرجع نیفورتیموکس[27] و بنزنیدازول[28] است که در حال حاضر برای مهار رشد تریپانوزوما کروزی اپیماستیگوت[29] تجویز می‌شود (۵۸). همچنین، مطابق مطالعه داسیلوا (Da Silva) و همکاران، ترکیبات شیمیایی اکتادکانوئیک اسید و متیل استر اکتادکانوئیک اسید، دارای فعالیت ضد باکتری در برابر باکتری‌های باسیلوس سرئوس، باسیلوس سابتیلیس و مایکوباکتریوم فورتوئیتوم می‌باشند (۵۹). بنابراین، با توجه به اثر ضد میکروبی قابل ملاحظه عصاره تونیکروم در مطالعه حاضر، محتمل است وجود این ترکیبات در ماتریکس عصاره تونیکروم، این اثرات را القاء نمایند. یکی از ترکیبات شناسایی شده در عصاره تونیکروم، Spirost-8-en-11-one,3-hydroxy-(25R، 22β، 20β، 14β، 5α، 3β) بود. این ترکیب جزء شش ساپوژنین استروئیدی با اثرات بالقوه بیولوژیکی می‌باشد (۶۰). دوگان (Dogan) و همکاران، همچنین، حسین (Hussein) و همکاران، در مطالعات خود فعالیت ضد میکروبی ترکیبات استروئیدی نظیر ترکیب مذکور را در برابر باسیلوس سابتیلیس، استافیلوکوکوس اورئوس، اشریشیاکلی، سودوموناس آئروژنز، پاستورلا مولتوسیدا گزارش نمودند (۶۱ و ۶۲). ساختار اسپیروست دارای هسته استروئیدی است و بر اساس یافته‌های متون پیشین، ترکیبات استروئیدی اسپیروستانی دارای فعالیت‌های بیولوژیک منحصربه‌فردی از جمله ضد پرولیفراسیون و ضد التهابی (۶۳)، ضد سرطانی (۶۴ و ۶۵)، اثر مهاری روی اسپرماتوزای انسانی (۶۶)، ضد انعقادی (۶۷)، کاهندگی قند خون (۶۸)، فعالیت‌های حلزون‌کشی (۶۹ و ۷۰)، ضد اسپاسمی در دئودنوم موش (۷۱)، اثر سیتوتوکسیسیتی (۷۲) و مهار فعالیت CAMP- فسفو دی‌استراز (۷۳) می‌باشند. اکنون ساپوژنین‌های استروئیدی به این دلیل که به‌عنوان مواد اولیه در ترکیب انواع هورمون‌های استروئیدی به‌کار برده می‌شوند از تجارت بالایی برخوردار هستند (۷۴). بر اساس مطالعه چویی (Choi) و همکاران، متابولیت‌های ثانویه با خاصیت ضد میکروبی تونیکات‌ها بسته به جنس، گونه، سن و شرایط زندگی تونیکات‌ها شامل منطقه جغرافیایی، آب و هوا، فصل پرورش و صید تونیکات، pH و شوری آب متفاوت است. نوع متابولیت‌های استخراج شده از تونیکروم نیز به روش استخراج بستگی دارد (۷۵). در حالیکه، مطالعه حاضر اولین گزارش فعالیت ضد میکروبی بر روی تونیکروم مترشحه از تونیکات دریایی فالوسیا نیگرای خلیج‌فارس در ایران می‌باشد؛ اثرات زیستی مواد مختلف، مربوط به محتوای غلظت ترکیبات شیمیایی و متابولیت‌های ثانویه آن‌ها می‌باشد که تعیین‌کننده نوع فعالیت زیستی و قدرت آن‌ها است. همان‌گونه که بررسی گردید عصاره تونیکروم –این زیستمند دریایی– حاوی ترکیباتی است که بر اساس متون پیشین، دارای ترکیبات زیست فعال ضد میکروبی است که بخشی از اثرات ضد میکروبی آن علیه باکتری‌های مورد بررسی را می‌توان به حضور این ترکیبات نسبت داد. به‌طور حتم، تأثیر آن بر روی ارگانیسم‌های بیماریزای دیگر در کنار بررسی اثرات بیولوژیک محتمل آن بر اساس ترکیبات شناخته شده آن، در عصاره‌های حلال‌های مختلف نیز قابل بررسی است؛ همان‌طور که در مطالعه محبی و همکاران، این

[27] Nifurtimox
[28] Benznidazol
[29] *Trypanosoma cruzi*epimastigote

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-09]
[DOI: 10.52547/ismj.24.1.27]

زیستمند ارزشمند و شگفت‌انگیز دریایی به معجون میتریداتس تشبیه گردیده است (۱۷).

نتیجه‌گیری

نتایج به‌دست آمده در این مطالعه نشان دادند که تونیکروم مترشحه از تونیکات دریایی فالوسیا نیگرای خلیج‌فارس، با فعالیت‌های ضد باکتری بالقوه در برابر عوامل بیماری‌زایی مهم غذایی چون استافیلوکوکوس اورئوس زیر گونه اورئوس، باسیلوس سرئوس، سالمونلا انتریکا زیر گونه انتریکا و اشریشیاکلی سروتیپ O۱۵۷:H۷، به‌عنوان یک ترکیب غذا- دارو نیز مطرح می‌باشد و با افزودن آن به مواد غذایی یا استفاده مستقیم از آن، می‌توان از اثرات درمانی آن بهره جست. تونیکروم موجود می‌تواند کاندیدای مناسبی برای نگهدارنده‌های میکروبی صناعی با هدف کاربرد در صنعت غذا و یک آنتی‌بیوتیک نوپدید، با منشاء زیستی با هدف کاربرد در صنعت دارو معرفی گردد.

پژوهش انجام شده تحت حمایت مالی هیچ سازمان یا مؤسسه‌ای نبوده و کاملا مستقل انجام شده است.

تضاد منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است.

References:

1.Palanisamy SK, Rajendran NM, Marino A. Natural Products Diversity of Marine Ascidians (Tunicates; Ascidiacea) And Successful Drugs In Clinical Development. Nat Prod Bioprospect 2017; 7(1): 1-111.
2.Khodadadipour T, Amini K, Mahmoudi R. Evaluation of Virulence And Enterotoxin Genes In *Salmonella Enteritidis* Strains Isolated From Meat And Egg Samples By Multiplex-PCR. J Food Microbiol 2016; 3(2): 25-33. (Persian)
3.Kaper JB, Nataro JP, Mobley HL. Pathogenic *Escherichia Coli*. Nat Rev Microbiol 2004; 2(2): 123-40.
4.Schoeni JL, Lee Wong AC. *Bacillus Cereus* Food Poisoning And Its Toxins. J Food Prot 2005; 68(3): 636-48.
5.Le Loir Y, Baron F, Gautier M. *Staphylococcus Aureus* And Food Poisoning. Genet Mol Res 2003; 2(1): 63-76.
6.Blair JM, Webber MA, Baylay AJ, et al. Molecular Mechanisms of Antibiotic Resistance. Nat Rev Microbiol 2015; 13(1): 42-51.
7.Barmak A, Niknam K, Mohebbi G, et al. Antibacterial Studies of Hydroxyspiro [Indoline-3, 9-Xanthene] Trione Against Spiro [Indoline3, 9-Xanthene] Trione And Their Use As Acetyl And Butyrylcholinesterase Inhibitors. Microb Pathog 2019; 130: 95-9.
8.Mohebbi GH, Nabipour I, Vazirizadeh A. The Sea, The Future Pharmacy. Iran South Med J 2014; 17(4): 748-88. (Persian)
9.Jha RK, Zi-Rong X. Biomedical Compounds From Marine Organisms. Mar Drugs 2004; 2(3): 123-46.
10.Boziaris IS. Food Ingredients From The Marine Environment. Marine Biotechnology Meets Food Science And Technology. Front Mar Sci 2014; 1(66): 1-4.
11.Blunt JW, Carroll AR, Copp BR, et al. Marine Natural Products. Nat Prod Rep 2018; 35(1): 8-53.
12.Costantino V, Fattorusso E, Menna M, et al. Chemical Diversity of Bioactive Marine Natural Products: An Illustrative Case Study. Curr Med Chem 2004; 11(13): 1671-92.
13.Galinier R, Roger E, Sautiere PE, et al. Halocyntin And Apillosin, Two New Antimicrobial Peptides Isolated From Hemocytes of The Solitary Tunicate, *Halocynthia Papillosa*. J Pept Sci 2009; 15(1): 48-55.
14.Shenkarev ZO, Panteleev PV, Balandin SV, et al. Recombinant Expression And Solution

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-09]

[DOI: 10.52547/ismj.24.1.27]

Structure of Antimicrobial Peptide Aurelin From Jellyfish *Aurelia Aurita*. Biochemi Biophys Res Commun 2012; 429(1-2): 63-9.
15.Holand LZ. Tunicates. Curr Biol 2016; 26(4): 146-52.
16.Lambert G, Karney RC, Rhee WY, et al. Wild And Cultured Edible Tunicates: A Review. Manag Biol Invasions 2016; 7(1): 59-66.
17.Mohebbi GH, Arshadi SS, Nabipour I, et al. Marine Tunicate, The Electuary of Mithridates. Iran South Med J 2015; 18(4): 845-97. (Persian)
18.Cai M, Sugumaran M, Robinson WE. The Crosslinking And Antimicrobial Properties of Tunichrome. Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol 2008; 151(1): 110-7.
19.Sugumaran M, Robinson WE. Structure, Biosynthesis And Possible Function of Tunichromes And Related Compounds. Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol 2012; 163(1): 1-25.
20.Mehrdost M, Kamrani E, Owfi F. Occurrence *Phallusia Nigra Savigny*, 1816 (Tunicata: Ascidiacea) From Intertidal Hengam Island (Persian Gulf, Iran) .J Anim Environ 2015; 7(3): 175-8. (Persian)
21.Najafi A, Amini Khoei Z, Tajbakhsh S, et al. Evaluation of The Activity of New Species of Jelly Fish Collected From Nayband Bay In Bushehr Against Human Pathogenic Bacteria. J Anim Physiol Develop (Quarterly J Biol Sci) 2016; 9(4): 35-42. (Persian)
22.Tajbakhsh S, Barmak A, Vakhshiteh F, et al. In Vitro Antibacterial Activity of The *Prosopis Juliflora* Seed Pods On Some Common Pathogens. J Clin Diagn Res 2015; 9(8): 13-5.
23.Mohebbi GH, Vatanpour H, Vazirizadeh A, et al. Phospholipase A2 Activity of The Persian Gulf Upside-Down Jellyfish Venom (*Cassiopea Andromeda*). Iran South Med J 2017; 20(3): 287-300. (Persian)
24.CLSI. Clinical And Laboratory Standard Institute. Performance Standards For Antimicrobial Disk Susceptibility Testing: Approved Standard: National Committee For Clinical Laboratory Standards 2012; 29(1) :1-76.
25.Rufchaie R, Mirvaghefi A, Hoseinifar SH, et al. Anti-Microbial Activity of *Echhornia Crasippes* Aquatic And Hydromethanolic Leaves Extract. J Fish 2018; 71(1): 31-41. (Persian)
26.Tajbakhsh S, Pouyan M, Zandi K, et al. In Vitro Study of Antibacterial Activity of The Alga *Sargassum Oligocystum* From The Persian Gulf. Eur Rev Med Pharmacol Sci 2011; 15(3): 293-8.
27.Olano C, Méndez C, Salas JA. Antitumor Compounds From Marine Actinomycetes. Mar Drugs 2009; 7(2): 210-48.
28.Manivasagan P, Venkatesan J, Sivakumar K, et al. Pharmaceutically Active Secondary Metabolites of Marine Actinobacteria. Microbiol Res 2014; 169(4): 262-78.
29.Nabipour I, Moradi M, Mohebbi GH. A First Record On Population of The Alien Venomous Jellyfish, *Cassiopea Andromeda* (Forsskal, 1775)(Cnidaria: Scyphozoa: Rhizostomea) In The Nayband Lagoon From Bushehr-Iran (Persian Gulf). J Chem Pharm Res 2015; 7(3): 1710-3.
30.Ravikumar S, Gnanadesigan M, Saravanan A, et al. Antagonistic Properties of Seagrass Associated *Streptomyces* Sp. RAUACT-1: A Source For Anthraquinone Rich Compound. Asian Pac J Trop Med 2012; 5(11): 887-90.
31.Carte BK. Biomedical Potential of Marine Natural Products. Bioscience 1996; 46(4): 271-86.
32.Davidson BS. Ascidians: Producers of Amino Acid Derived Metabolites. Chem Rev 1993; 93(5): 1771-91.
33.Karthi S, Somanath B, Abdul Jaffar AH. Efficacy of Methanolic Extract of A Marine Ascidian, *Lissoclinum Bistratum* For Antimicrobial Activity. J Chem Biol Phys Sci 2015; 5(4): 4119-25.
34.Ananthan G, Iyappan K. Investigation of Antibacterial Potential of Ascidian, *Microcosmus Exasperatus* (Heller, 1878) Against Human Urinary Tract Patogens. World J Pharm Pharm Sci 2013; 3(1): 396-403.
35.Selva Prabhu A, Ananthan G, Mohamed Hussain HS, et al. Antibacterial Activity of Ascidian *Phallusia Arabica* Against Human

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-09]

[DOI: 10.52547/ismj.24.1.27]

Clinical Isolates. J Appl Pharm Sci 2011; 1(10): 143-5.
36.Sivaperumal P, Ananthan G, Hussain SM. Exploration of Antibacterial Effects On The Crude Extract of Marine Ascidian *Aplidium Multiplicatum* Against Clinical Isolates. Int J Med Med Sci 2010; 2(12): 382-6.
37.Bell W, Mitchell R. Chemotactic And Growth Responses of Marine Bacteria To Algal Extracellular Products. Biol Bull 1972; 143(2): 265-77.
38.Chouhan S, Sharma K, Guleria S. Antimicrobial Activity of Some Essential Oils—Present Status And Future Perspectives. Medicines 2017; 4(3): 58.
39.Bozin B, Mimica-Dukic N, Samojlik I, et al. Antimicrobial And Antioxidant Properties of Rosemary And Sage (*Rosmarinus Officinalis* L. And *Salvia Officinalis* L., Lamiaceae) Essential Oils. J Agric Food Chem 2007; 55(19): 7879-85.
40.Sarhadizadeh N, Afkhami M, Ehsanpour M. Evaluation of Antibacterial, Antifungal And Cytotoxic Agents of Ascidian *Phallusia Nigra* (Savigny, 1816) From Persian Gulf. Eur J Exp Biol 2014; 4(1): 250-3.
41.Sindhu TJ, Arikkatt SD, Vincent G, et al. Biological Activities of Oxazine And Its Derivatives: A Review. Int J Pharm Sci Res 2013; 4(11): 134-43.
42.Hamza A, Elsayed HA, Assy MG, et al. Synthesis And Antimicrobial Activity of Some New Triazine, 1,3-Oxazine, Fused Pyridine And Pyrimidine Derivatives. World Appl Sci J 2018; 36(5): 637-45.
43.Mathew BP, Kumar A, Sharma S, et al. An Eco-Friendly Synthesis And Antimicrobial Activities of Dihydro-2H-Benzo-And Naphtho-1,3-Oxazine Derivatives. Eur J Med Chem 2010; 45(4): 1502-7.
44.Sunil D, Upadhy SH, Murugappan R. Synthesis, Characterization And QSAR Studies of Some New 1,3-Oxazines As Potent Antimicrobial Agents. Res J Pharm Sci 2013; 2(2): 15-9.
45.Trombetta D, Saija A, Bisignano G, et al. Study On The Mechanisms of The Antibacterial Action of Some Plant Alpha,Beta -Unsaturated Aldehydes. Lett Appl Microbiol 2002; 35(4): 285-90.
46.Bisignano G, Laganà MG, Trombetta D, et al. In Vitro Antibacterial Activity of Some Aliphatic Aldehydes From *Olea Europaea* L. FEMS Microbiol Lett 2001; 198(1): 9-13.
47.Kovanda L, Zhang W, Wei X, et al. In Vitro Antimicrobial Activities of Organic Acids And Their Derivatives On Several Species of Gram-Negative And Gram-Positive Bacteria. Molecules 2019; 24(20): 3770.
48.Badshah SL, Naeem A. Bioactive Thiazine And Benzothiazine Derivatives: Green Synthesis Methods And Their Medicinal Importance. Molecules 2016; 21(8): 1054.
49.Sharma PK, Makkar R. A Review: Thiazines Derivatives Treated As Potential Antimicrobial Agents. Asian J Pharm Clin Res 2017; 10(1): 43-6.
50.Shweta S, Pandeya SN, Deepika Y, et al. Synthesis And Biological Activity of Phenothiazine Derivatives. Int J Res Ayurveda Pharm 2011; 2(4): 1130-7.
51.Deshmukh R. Synthesis, Structural Study And Biological Evaluation of 1,3-Thiazine. Pelagia Res Lib Der Chem Sin 2015; 6(3): 59-63.
52.Smith RE. Updated By Staff. Azine Dyes. In: Kirk-Othmer, editors. Encyclopedia of Chemical Technology. New York: John Wiley & Sons Inc, 2013, 1-10.
53.Govindan S, Valliappan R, Chakravarthy J, et al. Synthesis, Characterization And Biological Studies of Some 3,5-Diaryl-Tetrahydro-N-Formyl-1,4-Thiazine-1,1-Dioxide. J Chem Pharm Res 2013; 5(1): 99-103.
54.Bansode TN, Shelke JV, Dongre VG. Synthesis And Antimicrobial Activity of Some New N-Acyl Substituted Phenothiazines. Eur J Med Chem 2009; 44(12): 5094-8.
55.Varsha KK, Devendra L, Shilpa G, et al. 2,4-Di-Tert-Butyl Phenol As The Antifungal, Antioxidant Bioactive Purified From A Newly Isolated *Lactococcus* sp. Int J Food Microbiol 2015; 211: 44-50.
56.Huang CB, Alimova Y, Myers TM, et al. Short-And Medium-Chain Fatty Acids Exhibit Antimicrobial Activity For Oral

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-09]

[DOI: 10.52547/ismj.24.1.27]

Microorganisms. Arch Oral Biol 2011; 56(7): 650-4.
57.Shim J, Jyothi NR, Farook NM. Biological Applications of Thiosemicarbazones And Their Metal Complexes. Asian J Chem 2013; 25(10): 5838-40.
58.Perez-Rebolledo A, Teixeira LR, Batista AA, et al. 4-Nitroacetophenone-Derived Thiosemicarbazones And Their Copper (II) Complexes With Significant *In Vitro* Anti-Trypanosomal Activity. Eur J Med Chem 2008; 43(5): 939-48.
59.Da Silva LL, Nascimento M, Silva DHS, et al. Antibacterial Activity of A Stearic Acid Derivative From *Stemodia Foliosa*. Planta Med 2002; 68(12): 1137-9.
60.Hameed IH, Altameme HJ, Idan SA. *Artemisia Annua*: Biochemical Products Analysis of Methanolic Aerial Parts Extract And Anti-Microbial Capacity. Res J Pharm Biol Chem Sci 2016; 7(2): 1843-68.
61.Dogan A, Otlu S, Celebi O, et al. An Investigation of Antibacterial Effects of Steroids. Turk J Vet Anim Sci 2017; 41(2): 302-5.
62.Hussein AO, Mohammed GJ, Hadi MY, et al. Phytochemical Screening of Methanolic Dried Galls Extract of *Quercus Infectoria* Using Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) And Fourier Transform-Infrared (FT-IR). J Pharmacognosy Phytother 2016; 8(3): 49-59.
63.Xiang L, Yi X, Wang Y, et al. Antiproliferative And Anti-Inflammatory Polyhydroxylated Spirostanol Saponins From *Tupistra Chinensis*. Sci Rep 2016; 6: 31633.
64.Shen P, Wang SL, Liu XK, et al. Steroidal Saponins From Rhizomes of *Tupistra Wattii* HOOK. F. Chem Pharm Bull 2003; 51(3): 305-8.
65.Raju J, Mehta R. Cancer Chemopreventive And Therapeutic Effects of Diosgenin, A Food Saponin. Nutr Cancer 2009; 61(1): 27-35.
66.Wang YF, Li XC, Yang HY, et al. Inhibitory Effects of Some Steroidal Saponins On Human Spermatozoa In Vitro. Planta Med 1996; 62(2): 130-2.
67.Niwa A, Takeda O, Ishiwara M, et al. Screening Test For Platelet Aggregation Inhibitor In Natural Products. The Active Principle of Anemarrhenae Rhizoma. Yakugaku Zasshi 1988; 108(6): 555-61.
68.Nakashima N, Kimura I, Kimura M, et al. Isolation of Pseudoprototimosaponin AIII From Rhizomes of *Anemarrhena asphodeloides* And Its Hypoglycemic Activity In Streptozotocin-Induced Diabetic Mice. J Nat Prod 1993; 56(3): 345-50.
69.Marston A, Hostettmann K. Review Article Number 6: Plant Molluscicides. Phytochemistry 1985; 24(4): 639-52.
70.Takeda O, Tanaka S, Yamasaki K, et al. Screening For Molluscicidal Activity In Crude Drugs. Chem Pharm Bull 1989; 37(4): 1090-1.
71.Rahman A, Choudhary MI, Asif F, et al. Microbial Transformation of Sarsasapogenin By *Fusarium Lini*. Phytochemistry 1998; 49(8): 2341-2.
72.Podolak I, Galanty A, Sobolewska D. Saponins As Cytotoxic Agents: A Review. Phytochem Rev 2010; 9(3): 425-74.
73.Kanmoto T, Mimaki Y, Sashida Y, et al. Steroidal Constituents From The Underground Parts of *Reineckea Carnea* And Their Inhibitory Activity On cAMP Phosphodiesterase. Chem Pharm Bull 1994; 42(4): 926-31.
74.Eggert H, Djerassi C. 13C NMR Spectra of Sapogenins. Tetrahedron Lett 1975; 16(42): 3635-8.
75.Choi ND, Zeng J, Choi BD, et al. Shelf Life of Bottled Sea Squirt *Halocynthia Roretzi* Meat Packed In Vegetable Oil (BSMO). Fish Aquat Sci 2014; 17(1): 37-46.

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-09]
[DOI: 10.52547/ismj.24.1.27]

Original Article

Antibacterial Activity of Tunichrome Released from *phallusia nigra* Marine Tunicate Obtained from Bushehr Coast

Z. Marhamati (PhD)[1*], MH. Marhamatizadeh (PhD)[1**], GH. Mohebbi (PhD)[2]

[1] Department of Food Hygiene, School of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Kazerun Branch, Kazerun, Iran
[2] The Persian Gulf Marine Biotechnology Research Center, The Persian Gulf Biomedical Sciences Research Institute, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran

(Received 6 Oct, 2020 Accepted 26 Jan, 2021)

Abstract

Background: Marine life has long been used for their bioactive compounds. Several amazing compounds with different biological activities have so far been identified in tunicates. The aim of the current study was to evaluate the antimicrobial activity of tunichrome released from *phallusia nigra* marine tunicates collected from Bushehr province coasts, against four strains of *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Salmonella enterica*, and *Escherichia coli.*

Materials and Methods: Thirty samples of *phallusia nigra* marine tunicates were randomly collected from Nayband Bay in Bushehr province, and then their tunichrome was extracted and lyophilized. The antimicrobial activity (MIC and MBC) of the tunichrome extract was evaluated by agar well diffusion and broth macrodilution methods against four strains of foodborne pathogens. Chemical composition of methanol: chloroform:n-hexane extract of the tunichrome was detected by Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS).

Results: According to the results, the tunichrome extract showed significant inhibitory and lethal activities against all four studied bacterial strains. However, its antimicrobial activity was higher against *Bacillus cereus* and *Salmonella enterica*. The presence of antimicrobial compounds detected by GC-MS confirmed the results of the antibacterial activity of the tunichrome.

Conclusion: According to the results, the tunichrome released from *phallusia nigra* marine tunicate can be an appropriate marine source of antimicrobial compounds with significant performance against foodborne pathogens. According to the literature, the secondary metabolites in the tunichrome have potential biological and neutraceutical effects which require more laboratory studies.

Keywords: Marine tunicate, *phallusia nigra*, Tunichrome, Antimicrobial activity, Secondary metabolite, Persian Gulf

©Iran South Med J.All right sreserved

Cite this article as: Marhamati Z, Marhamatizadeh MH, Mohebbi GH. Antibacterial Activity of Tunichrome Released from phallusia nigra Marine Tunicate Obtained from Bushehr Coast. Iran South Med J 2021; 24(1): 27-45

Copyright © 2021 Marhamati, et al This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-noncommercial 4.0 International License which permits copy and redistribute the material just in noncommercial usages, provided the original work is properly cited.

***Address for correspondence:** Department of Food Hygiene, School of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Kazerun Branch, Kazerun, Iran. Email: Email: drmarhamati@gmail.com
*ORCID: 0000-0002-6083-1135
**ORCID: 0000-0002-4751-7926

Website: http://bpums.ac.ir
Journal Address: http://ismj.bpums.ac.ir

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-09]

[DOI: 10.52547/ismj.24.1.27]