# مطالعه اثر مهارکنندگی عصاره تام گیاه پرسیاوشان بر باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی

محمدحسن شیرازی[1]، غلامرضا امین[2]، بهناز آخوندی لواسانی[3]، سیدسعید اشراقی[1]*

۱ – دانشیار، گروه پاتوبیولوژی، بخش میکروب‌شناسی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران
۲ – استاد، گروه فارماکوگنوزی، دانشکده داروسازی و مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران
۳- دانشجوی دکترای داروسازی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران، تهران
*آدرس مکاتبه: تهران، خیابان انقلاب، خیابان قدس، خیابان پورسینا، دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده بهداشت، گروه پاتوبیولوژی، صندوق‌پستی: ۱٤۱۵۵ – ٦٤٤٦، تلفن: ۰۹۱۲٦۳٦۳۱۳٤ - ۸۸۹۷۳٦٦۰ (۰۲۱)
نمابر: ۸۸۹٥٤۹۱۳ (۰۲۱)
پست الکترونیک: eshraghs@tums.ac.ir

**تاریخ دریافت:** ۸۷/۱۰/۱٦ **تاریخ تصویب:** ۸۹/۸/۱٥

## چکیده

**مقدمه:** پرسیاوشان با نام علمی (***Adiantum capillus-veneris* L.**) یکی از گونه‌های تیره سرخس می‌باشد که به صورت سنتی در درمان سرفه، علایم سرماخوردگی و ریزش منطقه‌ای مو استفاده می‌شده است. تحقیقات انجام شده روی عصاره متانلی اندام هوایی این گیاه آثار مهارکنندگی مشخصی را بر ضدمیکروب‌های مختلف نشان می‌دهد.

**هدف:** در این مطالعه اثر ضدباکتریایی عصاره تام گیاه پرسیاوشان بر ۸ گونه باکتری گرم مثبت و گرم منفی مورد بررسی قرار گرفت.

**روش بررسی:** گیاه پرسیاوشان از مزرعه گیاهان دارویی کندلوس در شمال کشور و در خرداد و تیرماه سال ۱۳۸۰، جمع‌آوری و نمونه هرباریومی از آن تهیه و سپس در هرباریوم دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تهران شناسایی و نام علمی آن تعیین شد. گیاه جمع‌آوری شده پس از تمیز و خشک کردن، توسط آسیاب پودر شده و در ظروف در بسته و به دور از نور و حرارت نگهداری شد. پس از استخراج عصاره هیدروالکلی این گیاه (به روش پرکولاسیون) با استفاده از متانل ۹٦ درصد، تعداد ۹ رقّت به ترتیب ۱۰، ٥، ۲/٥، ۱/۲٥، ۰/٦۲٥، ۰/۳۱۲٥، ۰/۱٥٦۲، ۰/۰۷۸۱ و ۰/۰۳۹۱ درصد **(w/v)** از عصاره تام گیاه پرسیاوشان تهیه شد. اثر مهارکنندگی عصاره تهیه شده روی ۸ گونه باکتری گرم مثبت و گرم منفی به روش انتشار در دیسک (قطره پلیت، دیسک دیفیوژن و چاهک پلیت) مورد مطالعه قرار گرفت.

**نتایج:** نتایج نشان داد که عصاره تام گیاه پرسیاوشان در رقّت‌های فوق‌الذکر اثر مهارکنندگی قابل ملاحظه‌ای بر رشد بر استافیلوکوکوس اورئوس، اشریشیاکلی و هلیکوباکترپیلوری داشته در حالیکه سالمونلاتیفی، شیگلا سونه‌ای، سودوموناس آئروژینوزا، پروتئوس ولگاریس و استرپتوکوکوس پیوژنز نسبت به عصاره پرسیاوشان حساسیّت قابل ملاحظه‌ای نشان ندادند. این یافته‌ها هماهنگی نسبی با مطالعات دیگر محقّقین نشان داد.

**نتیجه‌گیری:** حاصل تحقیق پیش رو نشان می‌دهد که عصاره متانلی گیاه پرسیاوشان از رشد سه باکتری بیماری‌زا جلوگیری کرده است. مقایسه دو روش کمّی انتشار نیز نشان داد که روش چاهک پلیت در مقایسه با روش دیسک دیفیوژن، اثر مهارکنندگی بیشتری بر رشد میکروارگانیزم‌ها دارد که به نظر می‌رسد این خاصیت ضدباکتریایی به علت وجود ترکیبات فلاونوییدی در گیاه پرسیاوشان باشد و گیاه مذکور ظرفیت استفاده‌های درمانی و پزشکی بسیاری را حایز است.

**گل‌واژگان:** پرسیاوشان، اثر ضدباکتریایی، فلاونویید، روش‌های انتشار در دیسک



www.SID.ir

## مقدمه

پرسیاوشان گیاهی علفی و پایا از خانواده سرخس، دارای ریزوم قهوه‌ای رنگ، باریک و گره‌دار و ریشه‌هایی باریک و نازک می‌باشد. این گیاه دارای برگچه‌های سه قسمتی و دمبرگ‌های بسیار باریک منشعب به رنگ قهوه‌ای یا بنفش تیره می‌باشد. یکی از مشخصه‌های اصلی پرسیاوشان، هاگینه‌هایی است که در قسمت نوک برگچه‌ها به صورت نقاط برجسته، سبز یا قهوه‌ای مشاهده می‌شود [۱]. محل رویش این گیاه بیشتر در اروپای جنوبی، کوه‌های آلپ و سواحل آتلانتیک و همچنین ایران می‌باشد [۲]. این گیاه متعلّق به شاخه نهانزادان آوندی (*Pteridophytes*)، راسته سرخس‌ها (*Polypodiales*)، تیره (*Polypodiaceae*) و جنس *Adiantum* بوده و بیشتر در نواحی مرطوب وغنی از مواد آلی و در حاشیه جویبارها و رودخانه‌ها می‌روید و بسیار شبیه گشنیز سبز می‌باشد [۳]. مهم‌ترین گونه‌های این جنس گونه‌های: *Tenerum* ،*Pedatum L* ،*Venustum Don* ،*Capillus–veneris* *Sw* و *Lunulatum Burn* می‌باشند [٤].

پرسیاوشان با داشتن مواد تشکیل‌دهنده متنوع، دارای خواص فارماکولوژیک متعددی می‌باشد. موسیلاژ موجود در این گیاه دارای خاصیت نرم‌کنندگی سینه و اندام تنفس فوقانی بوده و موجب آسان شدن خروج خلط می‌شود [۵،٦،۷]. در طب سنتی پرسیاوشان به عنوان داروی ضدسرفه، تب‌بر، خلط‌آور، لینت‌دهنده و مدر جایگاه رفیعی داشته و در درمان بیماری‌های دستگاه تنفسی به صورت چای و در سرفه‌های شدید به شکل شربت مورد استفاده قرار می‌گرفته است [۱،۸،۹،۱۰]. فلاونوییدهای موجود در گیاه (روتین و ایزوکورستین) دارای اثر ضدالتهاب [۱۲، ۱۱]، ضدآلرژی و وقفه دهنده رشد تومور بوده و افزون بر این دارای اثر حفاظتی عروق، آنتی‌ترومبوتیک، تاثیرگزاری بر هماتوکریت، زمان پروترومبین، زمان ترومبوپلاستین و حجم گلبول‌های قرمز دارد [۳]. همچنین دارای اثر محافظت‌کننده بر دستگاه گوارش، برطرف‌کننده سنگ کیسه صفرا، ضدریزش مو و غیره می‌باشد [۱۱]. به علاوه آثار ضدمیکروبی، ضدقارچی و ضدویروسی این گیاه مرتبط با فلاونوییدهای ذکر شده موجود در آن می‌باشد که در شرایط آزمایشگاهی به اثبات رسیده است [٦،۱۲]. پرسیاوشان از لحاظ انتشار جغرافیایی، پراکندگی وسیعی در ایران دارد و در اکثر مناطق مرطوب و سایه‌دار به ویژه در اطراف چاه‌های مخروبه دیده می‌شود [۱،٤]. زمان جمع‌آوری این گیاه اواخر بهار و اوایل تابستان (ماه‌های خرداد و تیر) می‌باشد و کلیه قسمت‌های اندام هوایی و ریزوم این گیاه مصرف دارویی دارد. ترکیبات شیمیایی موجود در آن شامل موسیلاژ، قند، کافئیک اسید، گالیک اسید و ماده تلخی به نام کاپیلارین می‌باشد. مطالعات جدید حاکی از وجود ماده‌ای به نام آدانتوسید، تری‌ترپن اوکساید، ۲۱ هیدروکسی آدیانتون، فلاونوییدها، آستراگالین و تانن در این گیاه می‌باشد [۱۲،۱۳،۱٤]. با توجه به اینکه اثرات ضدمیکروبی این گیاه در دنیا شناخته شده است [٦،۱۲]، در کشورمان به غیر از در یک مطالعه که روی سه گونه باکتریایی شامل استافیلوکوکوس اورئوس، اشریشیاکلی و سودوموناس آئروژینوزا در شرایط آزمایشگاهی انجام شده، بررسی دیگری صورت نگرفته است. با توجه به اثرات درمان سنتی و بین‌المللی پرسیاوشان در عفونت‌های مختلف از جمله بیماری‌های تنفسی و برای دست‌یابی به اطلاعات علمی در این زمینه مطالعه‌ای طراحی شد که در آن اثر ضدباکتریایی عصاره تام گیاه پرسیاوشان بر ۸ نوع باکتری گرم مثبت و گرم منفی هم زمان مورد بررسی قرار گیرد.

## مواد و روش‌ها

### مواد مصرفی

مواد شیمیایی، معرف‌ها، محیط‌های کشت آزمایشگاهی و دیسک‌های آنتی‌بیوتیک از نمایندگی‌های شرکت‌های پادتن طب BBL، Difco، Merck، Sigma در ایران تهیه شد.

### سویه‌های باکتریایی

در این مطالعه از ۸ سویه باکتری شامل: اشرشیا کلی (*Escherichia coli*)، هلیکوباکتر پیلوری (*Helicobacter pylori*)، پروتئوس وولگاریس (*Proteus vulgaris*)،



Archive of SID
www.SID.ir

سودوموناس آئروژینوزا (*Pseudomonas aeroginosa*)، سالمونلا تیفی (*Salmonella typhi*)، شیگلّا سونئی (*Shigella sonnei*)، استافیلوکوکس ارئوس (*Staphylococcus aureus*) و استرپتوکوکوس پایوژنز (*Streptococcus pyogenes*) استفاده شد.

**جمع‌آوری، شناسایی و تهیه عصاره تام گیاه**

گیاه پرسیاوشان از مزرعه گیاهان دارویی کندلوس در شمال کشور در فاصله خرداد تا تیرماه ۱۳۸۰ جمع‌آوری و نمونه هرباریومی آن تهیه سپس در هرباریوم دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تهران شناسایی و نام علمی آن تعیین شد. گیاه جمع‌آوری شده پس از تمیز و خشک کردن، توسط آسیاب پودر شده و در ظروف در بسته و به دور از نور و حرارت نگهداری شد. مقدار ۱۰۰ گرم از پودر گیاه پرسیاوشان توزین و عصاره‌گیری با متانل و به روش پرکولاسیون (Perculation) انجام گرفت [۱۵]. عصاره‌های به دست آمده پس از تغلیظ توسط دستگاه تقطیر در خلاء در ظروف شیشه‌ای رنگی تا زمان انجام آزمایش نگهداری شد. مقدار عصاره خشک به دست آمده از ۱۰۰ گرم پودر خشک برابر با ۸/۷۵٦ گرم و رنگ آن سبز تیره با طعمی تلخ و بوی ضعیف و محسوس بود.

**تهیه رقّت‌های مختلف**

**الف**- برای تهیّه رقّت ۱/۱۰ یا ۱۰ درصد، ۱ گرم از عصاره تام تغلیظ شده فوق به ۱۰ میلی‌لیتر متانل ۹٦ درصد اضافه شد. برای تهیّه رقّت ۱/۲۰، یک میلی‌لیتر از رقّت ۱/۱۰ به دست آمده را به یک میلی‌لیتر متانل ۹٦ درصد اضافه نمودیم. برای تهیّه رقّت‌های بعدی در لوله‌های دیگر به ترتیب فوق عمل نمودیم. بدین‌ترتیب رقّت‌های به دست آمده شامل ۱/۱۰، ۱/۲۰، ۱/٤۰، ۱/۸۰، ۱/۱٦۰، ۱/۳۲۰، ۱/٦٤۰، ۱/۱۲۸۰ و ۱/۲٥٦۰ بوده که با مقادیر ۱۰، ٥، ۲/٥، ۱/۲٥، ۰/٦۲٥، ۰/۳۱۲٥، ۰/۱٥٦۲، ۰/۰۷۸۱ و ۰/۰۳۹۱ درصد (w/v) یا (g/100mL) متناسب بودند.

**ب**- در روش دیسک پلیت ابتدا میزان جذب حجمی هر دیسک بلانک با قرار دادن ۱۰ عدد از آنها در ۱۰ میلی‌لیتر متانل ۹٦ درصد مورد ارزیابی قرار گرفت و مشخص شد که هر دیسک کاغذی بلانک در مدت ۱ ساعت قادر است حداکثر ۰/۰۲ میلی‌لیتر متانل جذب نماید.

**ج**- در مرحله بعد دیسک‌های کاغذی بلانک در عصاره متانلی گیاه پرسیاوشان با ٦ رقّت فوق‌الذّکر به طور جداگانه و به مدت ۱ ساعت قرار گرفته، سپس هوادهی و خشک شد. مقدار عصاره تام جذب شده توسط یک دیسک کاغذی بلانک برابر بود با رقّت عصاره در حجم عصاره جذب شده توسط هر دیسک بلانک بر حسب میلی‌لیتر.

**د**- از دیسک‌های آنتی بیوتیک سفتریاکسون و آموکسی‌سیلین به عنوان شاهد مثبت و از دیسک‌های آغشته به متانل ۹٦ درصد نیز به عنوان شاهد منفی استفاده شد.

**و**- برای اطمینان از عدم تاثیر اثر ضدمیکروبی متانل به کار رفته بر میزان مهارکنندگی گیاه پرسیاوشان بر باکتری‌های مورد مطالعه، در ۷ رقت انتخابی ۰/۱، ۰/۲، ۰/٤، ۰/٦، ۰/۸، ۱ و ۲ درصد (حجم در حجم) از متانل ۹٦ درصد تهیه و برگشت باکتری‌ها اضافه شد، لیکن هیچ اثر مهارکنندگی مشاهده نشد [۱٦].

**بررسی میکروبیولوژیک**

برای مشاهده اثر ضدباکتریایی عصاره تام گیاه پرسیاوشان از روش انتشار درآگار (قطره پلیت، دیسک پلیت و چاهک پلیت) استفاده شده و طی مراحل ذیل انجام گرفت [۲۰ - ۱۷].

**الف- انتخاب محیط‌های کشت غنی آزمایشگاهی**: سویه‌های: اشرشیاکلی، پروتئوس وولگاریس، سودوموناس آئروژینوزا، سالمونلاتیفی، شیگلّا سونئی و استافیلوکوکوس ارئوس [۲۲، ۲۱] بر روی محیط ژلوز مولر هینتون (Mueller Hinton Agar) کشت داده شد [۲۳، ۱۹]. جهت کشت اسرپتوکوکوس پایوژنز که بتا همولیتیک و از گروه A بود از محیط ژلوز خوندار (Blood Agar) و برای هلیکوباکتر پیلوری از محیط ژلوز اختصاصی شامل بروسلاّ (Brucella Agar)، به اضافه ۱۰ درصد خون گوسفند دفیبرینه استفاده شد. ساپلیمنت اختصاصی به صورت آماده در ویال ۲ میلی‌لیتری حاوی ونکومایسین، تری‌متوپریم و پلی‌میکسین B اضافه شد و کشت باکتری‌ها با استفاده از جار بی‌هوازی و گازپک نوع C انجام شد. لازم به ذکر است که باکتری‌های مورد اشاره علاوه‌بر محیط‌های کشت فوق در بسیاری از محیط‌های غنی کشت میکروبی دیگر به خوبی رشد می‌کنند،



www.SID.ir

لیکن در مقام مقایسه قطر هاله عدم رشد عصاره تام گیاهان مورد آزمایش و دیسک‌های آنتی‌بیوتیک استاندارد، این محیط‌ها برتری نسبی بر سایر محیط‌های کشت نشان دادند [۲۳، ۱۹].

**ب- تعیین هویت و کنترل مجدد سویه‌های باکتریایی**: برای حصول اطمینان از خالص بودن باکتری‌های مورد مطالعه تمامی آنها با استفاده از محیط‌های اختصاصی، تست‌های باکتریولوژیک، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی مورد شناسایی مجدد قرار گرفتند.

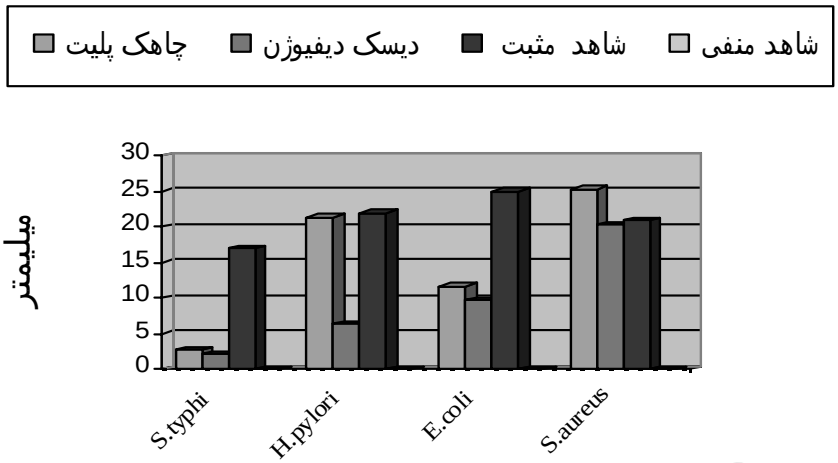
**ج- بررسی اثرات مهارکنندگی پرسیاوشان**: با استفاده از روش‌های انتشار در آگار، عصاره تام گیاه مورد آزمایش روی محیط‌های کشت جامد فوق‌الذکر که با باکتری‌های مورد مطالعه به طور جداگانه آغشته شده و با ضخامت یکنواخت و اسیدیته (pH) تقریباً ثابت تهیه شده بود، قرار داده شد [۲۰، ۱۹]. پلیت‌ها را در انکوباتور با دمای ۲ ± ۳۵ درجه سانتی‌گراد قرار دادیم و پس از ۵ - ۳ روز در مورد هلیکوباکترپیلوری و پس از ۲٤ - ۱۸ ساعت در مورد سایر باکتری‌ها به بررسی نتایج پرداختیم. نتایج پس از گرمخانه‌گذاری در شرایط و دمای مناسب به صورت هاله عدم رشد نمایان شد که قطر هاله با کولیس اندازه‌گیری شد. قطر هاله‌ها عکس‌العملی از غلظت ماده مؤثره می‌باشد. این پدیده یک ارتباط خطی بین اندازه هاله و لگاریتم غلظت ماده مورد آزمایش می‌باشد که با اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد و مقایسه آن با استاندارد مشخّص، قدرت ضدمیکروبی ماده مورد آزمایش معین می‌شود [۲٤]. از بین روش‌های انتشار در آگار سه روش قطره پلیت (Drop Plate Method)، چاهک پلیت (Cup Plate Method) و دیسک پلیت (Paper Disk Method) مورد استفاده قرار گرفت. اثر مهارکنندگی عصاره پرسیاوشان بر علیه ۸ سویه باکتری‌های مورد مطالعه به طور جداگانه به صورت هاله عدم رشد بر روی محیط‌های کشت جامد مشاهده و ثبت شد [۲۰]. لازم به ذکر است سوسپانسیون میکروبی به کار رفته در تمامی مراحل آزمایش دارای کدورتی معادل ۰/۵ مک فارلند که به نسبت ۰/۰۱ رقیق شده بود تعیین شده و تست‌های میکروبی حداقل با سه تکرار انجام شد. در این مطالعه روش قطره پلیت به منظور بررسی کیفی و دو روش چاهک و دیسک پلیت به منظور بررسی کمّی اثرات ضدمیکروبی گیاهان به کارگرفته شد. در روش کیفی (قطره پلیت) یک قطره (۱۰ µL) از هر رقت بر روی پلیت‌های حاوی محیط کشت جامد اختصاصی که قبلاً با سوسپانسیون حاوی سویه باکتری‌های مورد مطالعه کاملاً آغشته شده بود چکانده شد. در حالیکه در روش چاهک پلیت (کمّی) (۱۰۰ µL) از عصاره متانلی با رقت‌های موردنظر در چاهک یکنواختی به قطر ٦ میلی‌متر و عمق ۵ میلی‌متر که در سطح آگارپلیت آغشته به باکتری تعبیه شده بود، ریخته شد.

## نتایج

در مطالعه پیش رو عصاره متانلی گیاه پرسیاوشان با رقت‌های ۱۰، ۵، ۲/۵، ۱/۲۵، ۰/٦۲۵، ۰/۳۱۲۵، ۰/۱۵٦۲، ۰/۰۷۸۱ و ۰/۰۳۹۱ درصد یا (w/v) یا (g/100mL) و به سه روش انتشار در آگار: قطره پلیت، دیسک دیفیوژن و چاهک پلیت بر هشت باکتری گرم مثبت و گرم منفی مورد بررسی قرار گرفت. برای مقایسه اثر عصاره گیاهی فوق‌الذکر بر باکتری‌ها، از دیسک‌های آنتی‌بیوتیک استاندارد بر طبق توصیه NCCLS به عنوان شاهد مثبت استفاده شد. نتایج نشان داد که قطر هاله عدم رشد گیاه پرسیاوشان بر استافیلوکوکوس اورئوس، اشریشیاکلی و هلیکوباکتر پیلوری بسیار قابل توجه بود. سالمونلاتیفی، شیگلا سونه‌ای، سودوموناس آئروژینوزا، پروتئوس ولگاریس و استرپتوکوکوس پیوژنز نسبت به عصاره پرسیاوشان حساسیّت قابل ملاحظه‌ای نشان ندادند و ارقام تقریباً مشابهی را نشان دادند که نتایج به دست آمده یکی از این باکتری‌ها (سالمونلاتیفی) جهت مقایسه با نتایج مثبت در جداول قرار داده شد. مقایسه دو روش کمّی انتشار نیز نشان داد که روش چاهک پلیت در مقایسه با روش دیسک دیفیوژن، اثر مهارکنندگی بیشتری بر رشد میکروارگانیزم‌ها دارد. در جدول شماره‌های ۱ و ۲ قطر هاله عدم رشد عصاره گیاه پرسیاوشان به دو روش چاهک پلیت و دیسک دیفیوژن به ترتیب بر روی استافیلوکوکوس اورئوس، اشریشیاکلی، هلیکوباکتر پیلوری و سالمونلاتیفی به عنوان یکی از ۵ باکتری تقریباً غیرحساس و نیز شاهد مثبت (دیسک‌های آنتی‌بیوتیک) و شاهد منفی (متانل ۹٦ درصد) نشان داده شده است. مقایسه قطر اثر مهارکنندگی عصاره پرسیاوشان بر باکتری‌های مورد مطالعه با بالاترین رقّت (۱۰ درصد) در نمودار شماره ۱ آمده است.



Archive of SID
www.SID.ir




**نمودار شماره ۱- مقایسه قطر هاله عدم رشد عصاره پرسیاوشان بر باکتری‌های مورد مطالعه با رقّت ۱۰ درصد**

## بحث

تازه‌ترین مطالعات انجام شده در خصوص آثار ضدمیکروبی گیاهان دارویی نشان دهنده تمایل مردم به استفاده روزافزون از این گیاهان به لحاظ پایین بودن عوارض جانبی آنها نسبت به داروهای شیمیایی است. اسناد تاریخی نشان می‌دهد که کاربرد گیاهان برای درمان انواع بیماری‌ها از گذشته‌های دور مورد توجه مردم بوده است [۲۵]. از طرفی گیاهان دارویی علاوه بر مصارف درمانی، به عنوان طعم‌دهنده، معطرکننده و تقویت‌کننده نیز مصرف سنتی دارند [٤، ١]. در تجربه حاضر اثرات باکتریوسیدی و باکتریواستاتیکی گیاه پرسیاوشان بر ۸ گونه باکتری گرم مثبت و گرم منفی و به روش انتشار در آگار مورد بررسی قرار گرفته است. اثر مهارکنندگی عصاره تام گیاه پرسیاوشان به صورت هاله عدم رشد نمایان شد که با دقّت با کولیس اندازه‌گیری شد. از نظر تئوری قطر هاله عدم رشد عکس‌العملی از غلظت ماده مؤثره موجود در گیاه می‌باشد. این پدیده یک ارتباط خطی بین اندازه هاله و لگاریتم غلظت ماده مورد آزمایش می‌باشد که با اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد و مقایسه آن با استاندارد مشخّص، قدرت ضدمیکروبی ماده مورد آزمایش معین می‌شود [٢٤]. نتایج به دست آمده از روش قطره پلیت که یک روش کیفی قابل قبول است، اثرات مهارکنندگی عصاره تام گیاهان موردنظر بر باکتری‌ها را نشان داد، به طوری‌که در تکرارهای بعدی و استفاده از روش‌های کمّی بسیار راه‌گشا بود. اگر چه روش کیفی قطره پلیت در این مطالعه یک بررسی کیفی اثر ضدمیکروبی عصاره تام گیاه پرسیاوشان بود، لیکن این تجربه و نتایج حاصل از آن برای تجربیات مراحل بعد یک بررسی غربالگری به حساب آمد. در ادامه بررسی، از دو روش چاهک پلیت و دیسک دیفیوژن به عنوان بررسی‌های کمّی بهره‌گیری شد. از نتایج به دست آمده از بررسی حاصل می‌توان به تفاوت در حساسیت‌های باکتری‌ها نسبت به عصاره گیاه پرسیاوشان در دو روش کمّی به کار رفته اشاره کرد. همان‌گونه که در جدول شماره‌های ۱ و ۲ نشان داده شده است، قطر هاله عدم رشد در روش چاهک پلیت بیشتر از روش دیسک دیفیوژن می‌باشد. این تفاوت ممکن است به این دلیل باشد که در روش چاهک عصاره گیاهی مستقیماً در چاهک ریخته می‌شود در حالی‌که در روش دیسک دیفیوژن ابتدا دیسک‌ها به عصاره الکلی آغشته شده و پس از تبخیر کامل حلال (۲ - ۱ ساعت) در سطح آگار قرار گرفت (به طور غیرمستقیم). نکته قابل توجه دیگر اینست که اثر مهارکنندگی عصاره پرسیاوشان بر استافیلوکوکوس اورئوس بیشتر از قطر هاله عدم رشد با آنتی‌بیوتیک استاندارد نشان داده شده است. اگر چه این تست مجدداً تکرار شد و نتایج کماکان مشابه بود، به نظر می‌رسد یا آنتی‌بیوتیک انتخاب شده بهترین نوع نبوده و یا غلظت عصاره گیاهی بسیار بالا بوده باشد.



Archive of SID
www.SID.ir

**جدول شماره ۱- بررسی و مقایسه قطر هاله عدم رشد عصاره الکلی پرسیاوشان بر باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی به روش چاهک پلیت**

| میکروارگانیزم | | میانگین قطر هاله عدم رشد با سه تکرار (میلی‌متر) | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | استافیلوکوکوس اورئوس | | اشریشیاکلی | | هلیکوباکتر پیلوری | | سالمونلا تایفی | |
| رقّت عصاره (درصد) | | میانگین | انحراف معیار | میانگین | انحراف معیار | میانگین | انحراف معیار | میانگین | انحراف معیار |
| ۱/۱۰ | ۱۰ | ۲۵/۳٤ | ±۱/۵۲۸ | ۱۱/٦۷ | ±۰/۵۷۸ | ۲۱/۳٤ | ±۱/۵۲۸ | ۲/٦۷ | ±۰/۵۷۸ |
| ۱/۲۰ | ۵ | ۲۱/۳٤ | ±۱/۵۲۸ | ۹ | ±۱/۰۰۰ | ۱۸/٦۷ | ±۱/۵۲۸ | ۲ | ۰ |
| ۱/٤۰ | ۲/۵ | ۱٤/۳٤ | ±۰/۵۷۸ | ۵/٦۷ | ±۰/۵۷۸ | ۱۵/۳٤ | ±۱/۵۲۸ | ۱/۳٤ | ±۰/۵۷۸ |
| ۱/۸۰ | ۱/۲۵ | ۹/۳٤ | ±۱/۵۲۸ | ۳/٦۷ | ±۰/۵۷۸ | ۱۵ | ±۱/۱۵۵ | ۱ | ۰ |
| ۱/۱٦۰ | ۰/٦۲۵ | ۱۱/٦۷ | ±۰/۵۷۸ | ۳ | ۰ | ۱۲/٦۷ | ±۲/۰۸۲ | ۰ | ۰ |
| ۱/۳۲۰ | ۰/۳۱۲۵ | ۹/۳٤ | ±۰/۵۷۸ | ۲/۳٤ | ±۰/۵۷۸ | ۱۰/۳٤ | ±۲/۰۸۲ | ۰ | ۰ |
| ۱/٦٤۰ | ۰/۱۵٦۲ | ۷/٦۷ | ±۰/۵۷۸ | ۱/٦۷ | ±۰/۵۷۸ | ۷ | ۱ | ۰ | ۰ |
| ۱/۱۲۸۰ | ۰/۰۷۸۱ | ٦ | ۱ | ۰/٦۷ | ±۰/۵۷۸ | ٤/٦۷ | ±۱/۵۲۸ | ۰ | ۰ |
| ۱/۲۵٦۰ | ۰/۰۳۹۱ | ۳/٦۷ | ±۰/۵۷۸ | ۰/۳٤ | ±۰/۵۷۸ | ۲/٦۷ | ±۱/۱۵۵ | ۰ | ۰ |
| **شاهد مثبت** (میانگین قطر هاله عدم رشد دیسک آنتی‌بیوتیک با سه تکرار) | | Ceftriaxone سفتری اکسون ۲۱ میلی‌متر | | Ceftriaxone سفتری اکسون ۲۵ میلی‌متر | | Amoxicillin آموکسی‌سیلین ۲۲ میلی‌متر | | Ampicillin آمپی‌سیلین ۱۷ میلی‌متر | |
| **شاهد منفی** (متانل ۹٦ درصد) | | - | | - | | - | | - | |

**جدول شماره ۲- بررسی و مقایسه قطر هاله عدم رشد عصاره الکلی پرسیاوشان بر باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی به روش دیسک دیفیوژن**

| میکروارگانیزم | | میانگین قطر هاله عدم رشد با سه تکرار (میلی‌متر) | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | استافیلوکوکوس اورئوس | | اشریشیا کلی | | هلیکوباکتر پیلوری | | سالمونلا تایفی | |
| رقّت عصاره (درصد) | | میانگین | انحراف معیار | میانگین | انحراف معیار | میانگین | انحراف معیار | میانگین | انحراف معیار |
| ۱/۱۰ | ۱۰ | ۲۰/۳٤ | ±۱/۵۲۸ | ۹/٦۷ | ±۰/۵۷۸ | ٦/۳۷ | ±۰/۵۷۸ | ۲ | ۰ |
| ۱/۲۰ | ۵ | ۱۸/۳٤ | ±۲/۵۱۷ | ٦/٦۷ | ±۰/۵۷۸ | ٤ | ۱ | ۱/۳٤ | ±۰/۵۷۸ |
| ۱/٤۰ | ۲/۵ | ۱۲/۳٤ | ±۰/۵۷۸ | ٤/٦۷ | ±۱/۵۲۸ | ۲/٦۷ | ±۰/۵۷۸ | ۱ | ۰ |
| ۱/۸۰ | ۱/۲۵ | ۸/۳٤ | ±۱/۵۲۸ | ۳/٦۷ | ±۱/۱۵۵ | ۲/۳٤ | ±۰/۵۷۸ | ۱ | ۰ |
| ۱/۱٦۰ | ۰/٦۲۵ | ۹/۳٤ | ±۰/۵۷۸ | ۲/٦۷ | ±۰/۵۷۸ | ٤/٦۷ | ±۱/۵۲۸ | ۰ | ۰ |
| ۱/۳۲۰ | ۰/۳۱۲۵ | ۷/۳٤ | ±۰/۵۷۸ | ۲/۳٤ | ±۰/۵۷۸ | ۲/٦۷ | ±۱/۱۵۵ | ۰ | ۰ |
| ۱/٦٤۰ | ۰/۱۵٦۲ | ۵/٦۷ | ±۰/۵۷۸ | ۱ | ۱ | ۲/۳٤ | ±۰/۵۷۸ | ۰ | ۰ |
| ۱/۱۲۸۰ | ۰/۰۷۸۱ | ٤/٦۷ | ±۰/۵۷۸ | ۰/۳٤ | ±۰/۵۷۸ | ۱/٦۷ | ±۰/۵۷۸ | ۰ | ۰ |
| ۱/۲۵٦۰ | ۰/۰۳۹۱ | ۳ | ۱ | ۰ | ±۰/۵۷۸ | ۱ | ۰ | ۰ | ۰ |
| **شاهد مثبت** (میانگین قطر هاله عدم رشد دیسک آنتی‌بیوتیک با سه تکرار) | | Ceftriaxone سفتری اکسون ۲۱ میلی‌متر | | Ceftriaxone سفتری اکسون ۲۵ میلی‌متر | | Amoxicillin آموکسی‌سیلین ۲۲ میلی‌متر | | Ampicillin آمپی‌سیلین ۱۷ میلی‌متر | |
| **شاهد منفی** (متانل ۹٦ درصد) | | - | | - | | - | | - | |

محققین مختلف در ایران و سایر کشورهای جهان بر روی اثرات باکتریوسیدی و باکتریواستاتیکی گیاه پرسیاوشان پژوهش‌های زیادی انجام داده و اثرات ضدباکتریایی این گیاه را ثابت نموده‌اند. در سال ۲۰۰۲ تاثیر ضدباکتریایی روغن‌های فعال برگ‌های گیاه پرسیاوشان برکلبسیلا نومونیه، گونه‌هایی از سودوموناس، سالمونلاتایفی، استافیلوکوکوس اورئوس و



Archive of SID
www.SID.ir

استرپتوکوکوس پیوژنز با استفاده از روش سیلندر پلیت مورد بررسی قرار گرفت که بیشترین اثر مهارکنندگی برگ‌های گیاه پرسیاوشان به ترتیب بر سالمونلاتیفی (هماهنگ با یافته‌های بررسی پیش رو)، گونه‌های سودوموناس، کلبسیلا نومونیه و استرپتوکوکوس پیوژنز به دست آمد [۲۶]. در مطالعه دیگری که در سال ۱۹۸۹ انجام شد، اثر آنتی‌باکتریال عصاره متانولی اندام هوایی گیاه پرسیاوشان بر باسیلوس سوبتیلیس، اشریشیاکلی (هماهنگ با یافته‌های بررسی پیش رو)، استافیلوکوکوس اورئوس، پروتئوس ولگاریس و کاندیدا آلبیکنس در شرایط *in vitro* مورد ارزیابی قرار گرفت و اثر ضدمیکروبی این گیاه به اثبات رسید [۲۷]. در سال ۱۹۶۷ اثر کاهش‌دهندگی قند خون در موش‌های آزمایشگاهی با عصاره آبی گیاه کامل پرسیاوشان گزارش شد [۲۸]. در مطالعه دیگری عصاره اجزای مختلف گیاه پرسیاوشان بر علیه باسیلوس سوبتیلیس و نیز اشرشیاکلی (هماهنگ با یافته‌های بررسی پیش رو)، به کار رفت که تاثیر قابل توجهی را نشان داد [۲۹].

با وجود مصارف سنتی گیاه پرسیاوشان به خصوص تاثیر مثبت آن به عنوان داروی ضدسرفه، خلط‌آور و لینت بخش و غیره [۱]، هنوز تحقیقات بالینی کاملی روی این گیاه ارزشمند انجام نشده است و لذا لازم است با توجه به اثرات گوناگون بیولوژیک و درمانی گزارش شده از گیاه پرسیاوشان، با ایجاد الگوهای بالینی مناسب، بیشتر مورد توجه و بررسی قرار گیرد. در جستجوی انجام شده در منابع داخلی تنها مطالعه‌ای پیرامون اثرات کوتاه و طولانی مدت عصاره پرسیاوشان روی هموگلوبین، هماتوکریت، حجم گلبول‌های قرمز، زمان پروترومبین و زمان ترومبوپلاستین [۳] و نیز تحقیقی مبنی بر اثر عصاره گیاه پرسیاوشان بر روی قلب قورباغه توسط محققین ایرانی انجام و گزارش شده است [۳۰].

در تحقیق پیش رو که اثر مهارکنندگی عصاره متانلی گیاه پرسیاوشان بر باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی مورد مطالعه که در محیط آزمایشگاه و با رقّت‌های به ترتیب ۱۰، ۵، ۲/۵، ۱/۲۵، ۰/۶۲۵، ۰/۳۱۲۵، ۰/۱۵۶۲، ۰/۰۷۸۱ و ۰/۰۳۹۱ درصد (w/v) مورد بررسی قرار گرفت، ۳ باکتری استافیلوکوکوس اورئوس، اشریشیا کلی و هلیکوباکتر پیلوری حساسیت قابل توجهی نسبت به عصاره متانلی گیاه پرسیاوشان نشان دادند. ضمن اینکه عصاره گیاه مورد مطالعه بر سایر باکتری‌ها شامل پروتئوس وولگاریس، سودوموناس آئروژینوزا، سالمونلاتیفی، شیگلّا سونئی و اسرپتوکوکوس پایوژنز اثرات قابل قبولی نشان نداد. مقایسه نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر با مطالعه انجام شده بر روی عصاره گیاه پرسیاوشان در سال ۱۹۸۹ روی اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس تاثیر کاملاً مشابهی را نشان می‌دهد ولی نتایج روی پروتئوس وولگاریس در مطالعه پیش رو تائید نشد.

نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر با تحقیقات پاره‌ای از محققین فوق‌الذکر هماهنگی‌ها و تفاوت‌هایی را نشان می‌دهد. این تفاوت‌ها را می‌توان به تاثیر فاکتورهای متعددی از جمله زمان و محل جمع‌آوری گیاه, تغییرات آب و هوایی و شرایط جغرافیایی منطقه، شرایط و امکانات آزمایشگاه و غیره نسبت داد. همان‌گونه که یافته‌ها در بررسی حاضر نشان می‌دهد، ۳ باکتری بیماری‌زا (استافیلوکوکوس اورئوس، اشریشیاکلی و هلیکوباکترپیلوری) که در ایجاد بیماری نقش اساسی دارند توسط عصاره تام گیاه پرسیاوشان کنترل شد. مقایسه دو روش کمّی انتشار نیز نشان‌دهنده اینست که روش چاهک پلیت در مقایسه با روش دیسک دیفیوژن، اثر مهارکنندگی بیشتری بر رشد میکروارگانیزم‌ها دارد. با توجه به این نتایج به نظر می‌رسد اثرات ضدباکتریایی گیاه پرسیاوشان مربوط به وجود مواد موثره فلاونوییدی مانند روتین و ایزوکورستین موجود در گیاه [۳۱، ۱۳، ۱۲] می‌باشد، لذا تخلیص عصاره و تعیین مواد مؤثره و فراکشن‌های مختلف این گیاهان ضرورت دارد و می‌تواند گام موثری در جهت عرضه فرآورده‌های دارویی که دارای خاصیت ضدمیکروبی است باشد. اگر چه تجربه حاضر در محیط غیرزنده (*in-vitro*) و بر روی محیط‌های کشت جامد انجام شده، لیکن به دلیل نتایج قابل قبول به دست آمده به نظر می‌رسد این یافته‌ها زمینه بسیار مناسبی برای بررسی‌های بیشتر به صورت (*in-vivo*) بر روی حیوانات آزمایشگاهی و همچنین جهت تاثیر ضدمیکروبی فراکشن‌های این گیاه بر بسیاری از باکتری‌ها باشد.



www.SID.ir

## منابع


**1.** Amin Gh. Popular medicinal plants of Iran: 1st ed. Vice-chancellorship of Research, Tehran University of Medical Sciences. IR. IRAN. 2005, p: 90.

**2.** Heber D. PDR for herbal medicines [M]. Montvale: Thomson health care, Inc, 2004, pp: 542 - 3.

**3.** Gharavi M RA, Moatar F. The acute and chronic effect of *Adiantum capilus veneris L*. Extract on hemoglobin, hematocrite, mean corpuscle volume, prothrombin time and partial thromboplastin time in rat. *J. Zanjan University Med. Sci*. 1994; 2: 6 - 13.

**4.** Zargary A. Medicinal plants. 5th ed. Tehran University Press Iran Tehran, No. 1801/4 1993.

**5.** Leonard DB. Medicine at your feet. Healing plants of the Hawaiian kingdom. *Adiantum* spp. Copyright© 1998-2006 by David Bruce Leonard.

**6.** Seaman T. The antimicrobial and anti-mycobacterial activity of plants used for the treatment of respiratory ailments in Southern Africa and the isolation of anacardic acid from *Ozoroa paniculosa*. MSc thesis. 2006, p: 20, 50.

**7.** Nakane T, Arai Y, Masuda K, Ishizaki Y, Ageta H, Shiojima K. Fern constituents: Six new triterpenoid alcohols from *Adiantum capillus-veneris. Chem and Pharmaceut Bul* Tokyo-Japon 1999; 47: 543 - 7.

**8.** Pan C, Chen YG, Ma XY, Jiang JH, He F, Zhang Y. Phytochemical Constituents and Pharmacological Activities of Plants from the Genus *Adiantum*: A Review. *Trop. J. Pharmaceut. Res.* 2011; 10 (5): 681 - 92.

**9.** De Feo V. Medicinal and magical plants in the northern peruvian Andes. *Fitoterapia-Milano.* 1992; 63: 417 - 40.

**10.** Zhang P, Summer WR, Bagby GJ, Nelson S. Innate immunity and pulmonary host defense. *Immunol. Rev*. 2000; 173: 39.

**11.** Pourmorad F, Hosseinimehr SJ, Shahabimajd N. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian Medicinal Plants. *African J. Biotechnol.* 2009; 5: 1142 – 5.

**12.** Singh M, Singh N, Khare PB, Rawat AKS. Antimicrobial activity of some important *Adiantum* species used traditionally in indigenous systems of medicine. *J. Ethnopharmacol.* 2008; 115: 327 - 9.

**13.** Imperato F. Sulphate esters of hydroxyl-cinnamic acid sugar derivatives from *Adiantum capillus-veneris. Phytochem.* 1982; 21: 2717 - 8.

**14.** Nakane T, Maeda Y, Ebihara H, Arai Y, Masuda K, Takano A, Ageta H, Shiojima K, Cai SQ, Abdel-Halim OB. Fern constituents : Triterpenoids from *Adiantum capillus-veneris. Chem. & Pharmaceut. Bul.* 2002; 50: 1273 - 5.

**15.** Samsam Shariat H: Detection and extraction of medicinal plants using peculation method. 1992, Isfehan, Kafee Press.

**16.** Dakhili M ZST, Torabi Goodarzi M. Evaluation of antimicrobial effects of 4 medicinal plants against salmonella typhymurium and comparison them with common antibiotics in veterinary medicine. *Pharmaceut. Biol.* 2006; 5: 21 - 6.

**17.** Eshraghi S. An evaluation of the potent inhibitory effects of royal jelly fractions against *Streptomyces* bacteria. *Pak. J. Med. Sci.* 2005; 21: 63 - 8.

**18.** Eshraghi S, Valafar S. Evaluation of inhibitory effects of Iranian Propolis against filamentous bacteria. *Pak. J. Med. Sci*. 2008; 24: 56 - 60.

**19.** Hindler JF, Jorgensen JH. Antimicrobial susceptibility testing. In Mahon CR, Lehman DC, Manuselis G (eds): Textbook of diagnostic microbiology, Saunders, 2007, pp: 319 - 63.

**20.** Kamal F: Microbial quality control of medicinal products. Thehran University Press 1993, 2144.




Archive of SID
www.SID.ir

**21.** Havaei SA, Moghadam SO, Pourmand MR, Faghri J. Prevalence of genes encoding bi-component leukocidins among clinical isolates of methicillin–resistant *Staphylococcus aureus*. *Iranian J. Publ. Hlth*. 2010; 39: 8 - 14.

**22.** Pourmand MR, Memariani M, Hoseini M, Yazdchi SB: High prevalence of sea gene among clinical isolates of staphylococcus aureus in tehran. *Acta Med Iranica* 2009; 47: 357 - 61.

**23.** Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS: Bailey & scott's diagnostic microbiology. St. Louis: Mosby. 1999, pp: 93 - 103.

**24.** Neef H, Declercq P, Laekeman G. Hypoglycaemic activity of selected European plants. *Phytother. Res.* 1995; 9: 45 - 8.

**25.** Cowan MM. Plant products as antimicrobial agents. *Clin. Microbiol. Rev*. 1999; 12: 564 - 82.

**26.** Victor B, Maridass M, Mannan MM. Antibacterial activity of essential oils from the leaves of *Adiantum capillus-veneris.* linn *J. Eco-Physiol.* 2002; 5: 107 - 9.

**27.** Mahmoud MJ, Jawad ALM, Hussain AM, Al-Omari M, Al-Naib A. In vitro antimicrobial activity of salsola rosmarinus and *Adiantum capillus-veneris*. *Pharmaceut. Biol*. 1989; 27: 14 - 6.

**28.** Jain SR, Sharma SN: Hypoglycaemic drugs of indian indigenous origin. *Planta Med*. 1967; 15: 439 - 42.

**29.** Guha P, Mukhopadhyay R, Pal PK, Gupta K. Antimicrobial activity of crude extracts and extracted phenols from gametophyte and sporophytic plant parts of *Adiantum capillus-veneris. Allelopathy J*. 2004; 13: 57 - 66.

**30.** Gharavi M RA, Moatar F. The effect of maidenhair extract on frog. *Myocardium J. Isfahan Med. Faculty* 1993; 37: 17 - 23.

**31.** Mabeza GF, Macfarlane J. Pulmonary actinomycosis. *Eur. Respiratory Soc.* 2003; 21: 545 - 51.

Archive of SID



www.SID.ir