

در منابع طبیعی

بررسی فعالیت بیولوژیکی اسانس درمنه ایرانی *Artemisia persica*

- محمدحسین حکیمی میدی، مربی دانشکده منابع طبیعی دانشگاه یزد
- محمد افخمی عقدائی، دکتری علوم آزمایشگاهی
- فاطمه میر جلیلی، استادیار دانشکده شیمی دانشگاه یزد

تاریخ دریافت: اسفند ماه ۱۳۸۱ تاریخ پذیرش: مرداد ماه ۱۳۸۲

چکیده

در این پژوهش، اثرات ضد میکروبی اسانس گیاه درمنه ایرانی *A. persica* مورد ارزیابی دقیق آزمایشگاهی قرار گرفت. در این بررسی پس از جمع آوری و خشک کردن سرشاخه‌های گل‌دار و برگ‌دار گیاه به روش تقطیر با بخار آب از آن اسانس‌گیری به عمل آمده و اثرات ضد میکروبی این اسانس به روش رقت سریالی روی شش میکروارگانیسم یعنی

Enterococcus, *Enterobacter* sp., *Pseudomonas aerogenosa*, *E. coli*, *Staph Saprophyticus* و *Candida albicans*

در لوله و سپس کشت روی محیط جامد بلاد آگار به مدت ۲ سال و با ۶ تکرار مورد بررسی قرار گرفت که نتایج هر ۶ تکرار مشابه بود. نتایج نشان می‌دهد که کمترین رقت اسانس که قادر به مهار رشد باکتریها بود ۱:۱۲۸ روی باکتری *P. aerogenosa* و بیشترین رقت ۱:۵۱۲ روی باکتریهای *E. coli* و قارچ *C. albicans* بوده است.

کلمات کلیدی: درمنه ایرانی، اسانس، ضد میکروبی، *E. coli*، *Pseudomonas aerogenosa*، انتروباکتر، انتروکوک، *C. albicans*

Pajouhesh & Sazandegi: No: 61 pp: 2-5

An investigation into biological activities of *A. persica*'s essential oil

By: M. H. Hakimi Maybody, Department of Natural Resources, Yazd University, Yazd, Iran, M. Afkhami Aghdai, F. Mirjalili, Department of Chemistry, Yazd University, Yazd, Iran

In this study the anti-microbial effects of *A. persica*'s essential oil were meticulously investigated in the laboratory. In this investigation after collecting and drying the branches with leaves and flowers, essential oil extracted by steam distillation, and then anti-microbial effect of this essential oil were investigated according to serial dilution on six microorganisms that is: *E. coli*, *Pseudomonas aerogenosa*, *Enterobacter* sp., *Enterococcus*, *Staph saprophyticus* and *Candida albicans* in test tube and then in solid medium of blood agar for two years with six repetitions. The conclusions of each of six repetitions showed that the minimal dilution of the essential oil which is able to control the bacterial growth is 1:128 (on pseudomonas) and maximal dilutions is 1:512 (on *E. coli* and *Candida albicans*).

KeyWords: *Artemisia persica*, essential oil, *E. coli*, *Pseudomonas aerogenosa*, *Enterobacter* sp., *Enterococcus*, *Staph saprophyticus*, *Candida albicans*

گرفتند عبارتند از:

- 1- *E. Coli*
- 2- *Pseudomonas aerogenosa*
- 3- *Enterobacter Sp.*
- 4- *Enterococci*
- 5- *Staph. Saprophyticus*
- 6- *Candida albicans*

این بررسی در طی مدت ۲ سال و با ۶ تکرار با فاصله زمانی انجام گرفت. به طوریکه برای هر تکرار، اسانس تازه تهیه و مورد استفاده قرار گرفت. ذکر این نکته بسیار قابل توجه می باشد که از این ۶ تکرار جهت بررسی اثرات ضد میکروبی اسانس گیاه درمنه ایرانی، ۳ تکرار آن در شرایط کاملاً استریل و ۳ تکرار دیگر در شرایط غیر استریل انجام گرفت. با این دیدگاه که احتمال آلودگی محیط کشت توسط باکتریها و میکروارگانیسمها به طور طبیعی افزایش یابد، جالب اینکه نتایج دو حالت فوق یکسان بود. در این پژوهش اسانس را به روش رقت سریالی^{۱۳} (۴، ۶) با محیط کشت مایع آبگوشت با نسبتهایی که در جدول شماره ۱ آمده است، رقیق و باکتری تهیه شده مطابق لوله شماره ۱ استاندارد مک فارلند به تمام لولهها به جزء لوله شاهد منفی تلقیح و تمامی لولهها به مدت یک هفته در آنکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتیگراد نگهداری و آنها را هر ۲۴ ساعت از نظر کدورت (۱۹) مورد بازبینی قرار گرفت. سپس برای اطمینان بیشتر در شرایط استریل از لولهها نمونه برداری و با استفاده از میکروسکوپ جهت وجود یا عدم وجود باکتری بررسی و نتایج ثبت گردید. به علاوه پس از ۲۴ ساعت از محتوی لولهها روی محیط جامد بلاآگار پاساژ داده شد که پس از ۲۴ ساعت تا یک هفته مورد بازبینی قرار گرفت و نتایج ثبت گردید. به منظور اطمینان از عدم آلودگی محیط کشت از لوله شاهد منفی که شامل محیطهای کشت حاوی اسانس و بدون تلقیح باکتری و از لوله شاهد مثبت به منظور اطمینان از مناسب بودن محیط کشت که بدون اسانس و با تلقیح باکتری بود، استفاده گردید.

نتایج

این بررسی برای اولین بار روی اسانس گیاه درمنه ایرانی انجام گرفت و نشان داد که ترکیبات موجود در اسانس این گیاه دارای فعالیت بیولوژیکی فراوانی است. در این پژوهش خاصیت میکروب کشی و قارچ کشی اسانس گیاه فوق مورد ارزیابی قرار گرفت که نتایج آن در جدول شماره ۲ آمده است. در این جدول علامت (-) بیانگر عدم رشد باکتری و علامت (+) نشان دهنده رشد باکتری در روش لوله می باشد.

بررسی حاصل از کدورت لولهها و مشاهده میکروسکوپی و پاساژ روی محیط بلاد آگار نتایج مشابهی را نشان می دهد. بررسی نتایج جدول شماره ۲ نشان می دهد که نسبت ۱:۱۲۸ کمترین رقتی از اسانس است که قادر به مهار رشد، روی باکتری *P. aerogenosa* و نسبت ۱:۵۱۲ رقتی از اسانس است که رشد باکتری *E. coli* و قارچ *Candida albicans* را مهار می کند. رشد باکتریهای انتروباکتر، انتروکوک و *Staph. saprophyticus* در رقت ۱:۲۵۶ مهار شده است

بحث

باتوجه به مصرف گیاهان دارویی در درمان خیلی از بیماریها و رویکرد علم پزشکی به این حوزه و با توجه به اثرات مضر که داروهای شیمیایی بر بدن

مقدمه

با توجه به سابقه مصرف گیاهان دارویی در مشرق زمین و رویکرد مجدد متخصصین علم پزشکی به گیاهان دارویی و بررسیهای انجام گرفته بر روی اسانس گیاهان بومی ایران و فعالیت بیولوژیکی موثر آنها، عامل اصلی در پیگیری و انجام این پژوهش بوده است (۱۱). درمنه ایرانی *Artemisia persica* از طایفه *Anthemideae* و خانواده *Compositae* (کاسنی) است. ارتفاع این گیاه به ۶۰ سانتی متر می رسد و برگهای آن دارای تقسیمات متعدد و گلپهای زرد و گل آذین کاپیتول است (۸، ۹). این گیاه در اواخر بهار وارد مرحله گلدهی می شود. بررسی مربوط به آنالیز اسانس این گیاه نشان می دهد که حاوی ترکیبات گوناگونی همانند اسکوپودرنیول^۱، اسکوپوفارنول^۲، سیمین^۳، سابینین^۴، سینئول^۵، لینالئول^۳، ائوژنول^۷، بورنئول^۸، فارنزول^۹، استر، الکل و چندین سزکوئی ترپن و ترکیبات دیگر می باشد (۱۴). از اسانس این گیاه در عطر سازی و معطر ساختن نوشابه، غذا و مواد آرایشی استفاده می شود (۱۴) بررسی پژوهشگران بر روی ترکیبات مشابهی که در اسانس گیاهان دیگر وجود دارد نشان میدهد که این ترکیبات فعالیت بیولوژیکی نسبتاً خوبی دارند. وجود بورنئول و سیمین و سینئول در اسانس گیاه رز ماری دارای خواص باکتری کشی روی *St. aureus*، استرپتوکوک، *E. coli* کلیسیلا و پرتئوس است و موجب جلوگیری از رشد قارچ و مانع تولید افلاتوکسین توسط *Aspergillus parasiticus* می گردد (۱۰).

به علاوه سینئول و بورنئول دارای خواص ضد عفونی کننده و ضد میکروبی و آرام بخش هستند (۷).

همچنین اسانس مریم گلی دارویی دارای سینئول، کامفور^{۱۰} و تویون^{۱۱} است که دارای خواص ضد میکروبی و ضد قارچی و آنتی اکسیدانی و ضد سرطانی می باشند (۱۰). تحقیقات نشان داده است که سزکوئیترپنها و دی ترپنها و منوترپنها دارای خواص ضد میکروبی هستند (۱). با در نظر گرفتن اطلاعات فوق و ترکیبات موجود در اسانس درمنه ایرانی از آن جهت مطالعه خواص باکتری کشی و ضد قارچی استفاده شد.

مواد و روشها

الف) جمع آوری گیاه و استخراج اسانس

در این بررسی گیاه درمنه ایرانی را در مرحله گلدهی در اوایل تیرماه ۱۳۷۹ از ارتفاع ۲۴۰۰ متری از سطح دریا از کوه برفخانه طرزجان در استان یزد جمع آوری گردید. پس از خشک کردن سرشاخههای گلدار و برگدار آن در سایه، جهت استخراج اسانس، مقدار ۱۰۰ گرم از آن را به روش تقطیر با بخار آب^{۱۲} به مدت دو ساعت از آن اسانس گیری به عمل آمده (۳، ۷). این اسانس به رنگ زرد مایل به قهوه‌ای و به شکل مایع شفاف است. بازده اسانس گیری براساس وزن خشک سرشاخهها ۰/۹۶ درصد محاسبه گردید.

ب) اثرات بیولوژیکی اسانس

در این تحقیق اثر اسانس درمنه ایرانی روی پنج باکتری و یک قارچ بیماری زا بررسی گردید. میکروارگانیسم هائی که در این پژوهش مورد مطالعه قرار

- 15- Fragtand
16- Phellanderne
17- Thuyene

منابع مورد استفاده

- ۱- امامی، احمد، فراترچی (مترجم)، کردل خوی (مؤلف) ۱۳۷۷، تحولات شگرف در شیمی فرآورده‌های طبیعی، موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع، ص ۱ الی ۹۲
- ۲- باباخانو، پرویز و میزرا، مهدی، سفیدکن، احمدی، لطیفه، براننده، محمدمهدی، عسگری، فاطمه، تحقیقات گیاهان دارویی و معطر، جلد ۱، ۱۳۷۷، موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع، ص ۱ الی ۱۱۰
- ۳- براننده، محمد مهدی، ۱۳۸۰، بررسی ترکیب‌های موجود در روغن اسانس درمنه معطر *Artemisia fragrans*، پژوهش و سازندگی، شماره ۵۲، ص ۱۰۳.
- ۴- بیات، پروین، ۱۳۶۶، باکتریولوژی عمومی و آنتی بیوتیکها، انتشارات چهر، ص ۱ الی ۳۸۷.
- ۵- خیامی، مسعود، نوجوان، اصغری، مجید، رسولی، بتول، ۱۳۸۱، بررسی اثرات ضد میکروبی اسانس آویشن و سنبله ارغوانی و عصاره سماق و بنه به طریق *in vitro*، پژوهش و سازندگی، شماره ۵۴، صفحات ۳۶ تا ۳۹.
- ۶- ربیعی، مینا، سفیدکن، فاطمه، جلیلی، عادل، ۱۳۸۰، بررسی ترکیبات شیمیایی اسانس ۵ گونه *Artemisia* در شمال ایران، همایش ملی گیاهان دارویی ایران، موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع ۲۶۰ - ۲۴ بهمن ۱۳۸۰
- ۷- سفیدکن، فاطمه، احمدی، لطیفه، میزرا، مهدی ۱۳۷۶، بررسی ترکیبات شیمیایی موجود در اسانس تر خون *Artemisia dracunculus*، پژوهش و سازندگی شماره ۳۴ ص ۱۵ - ۱۷.
- ۸- قهرمان، احمد، ۱۳۷۳، کروموفیت‌های ایران جلد ۳، مرکز نشر دانشگاهی، ص ۱ الی ۷۶۸
- ۹- مظفریان، ولی ۱۳۷۹، فلور یزد، موسسه انتشارات یزد، ص ۱ الی ۴۷۲
- ۱۰- مؤمنی، تاج خانم، شاه‌رخی، نوبهار، ۱۳۷۷، اسانس‌های گیاهی و اثرات درمانی آنها، انتشارات دانشگاه تهران، ص ۱ الی ۱۵۷
- ۱۱- نصیراحمدی، احمد، حکیمی زنوز، لیدا، وند یوسفی، جلیل، مرادی، سهیلا، صفویه، صدیقه، ۱۳۷۶، بررسی اسانس گیاه *Labiateae (Stachys inflata)* و فعالیتهای بیولوژیکی آن، پژوهش و سازندگی شماره ۳۶، ص ۳۰-۳۱
- ۱۲- نبی نژاد، عبدالرضا، ۱۳۸۰، مقایسه تاثیر ضد میکروبی برخی از آنتی بیوتیکها با اسانس گیاهان افسنتین، بابونه، با درنجبویه روی لیستریا مونوسیتوزنز، همایش ملی گیاهان دارویی ایران، موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع ۲۶-۲۴ بهمن ۱۳۸۰.
- ۱۳- وندیوسفی، جلیل، نصیر احمدی، احمد، جاسبی، امیر رضا، ۱۳۷۴، فعالیت بیولوژیکی اسانس گیاه، *Artemisia Haussknechtii*، پژوهش و سازندگی، شماره ۲۹، ص ۲۸ الی ۳۰
- 14- Bhava, Vijay, 2002. *Artemisia persica* oil, Modern natural products, India
- 15- Carta c., Moretti M.D.L. and Peana A.T. ,1996, Activity

انسان دارد و روز به روز این اثرات سوء مشخص تر می گردد، نتایج این تحقیق و دیگر پژوهش‌های مشابه دلالت بر اثرات گوناگون از جمله خواص میکروب کشی این دسته از گیاهان دارد.

تاکنون درباره خواص ضد میکروبی گیاهان تحقیقات متعددی صورت گرفته است. نتایج حاصل از اثر ضد میکروبی اسانس درمنه صخره ای *Artemisia haussknechtii* نشان می دهد که اسانس این گیاه از رشد انواع میکروارگانیسم‌های بیماریزا جلوگیری می کند بطوری که در بعضی از موارد فعالیت ضد میکروبی آن از آنتی بیوتیکهای مانند نالیدیکسیک اسید، جنتامیسین، سفالوتین، آموکسی سیلین و کلرامنیکل بیشتر است. اسانس این گیاه دارای ترکیبات اصلی سینئول، کامفور، آترمینرین کتون^{۱۴}، فراگراند^{۱۵} و بورنتول است^(۱۳). اسانس گیاه افسنتین دارای فلاندرن^{۱۶}، پینن، ساینین و سیمین است^(۶) و دارای خواص ضد میکروبی روی لیستریامونو سییتوزنز می باشد^(۱۲).

بررسی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس درمنه دشتی *Artemisia sieberi* که شامل ترکیب‌های اصلی کامفور، لیمونن، سینئول، کامفن و پینین است و دارای اثرات ضد میکروبی میباشد^(۲).

بررسی ترکیبات شیمیایی تشکیل دهنده اسانس تر خون *Artemisia dracunculus* و اثرات ضد باکتریایی ترکیبات آن مؤید این مطلب میباشد. با توجه به خواص باکتری کشی و ضد قارچی و ضد عفونی کنندگی ترکیباتی چون بورنتول، سیمین، سینئول و کامفور^(۱۰، ۱۵، ۱۷) و ترکیبات پینن، سابینین، لینالئول، سیمین و توین ۱۷ در اسانس *Stachys inflata* و نتایج مثبت اثر باکتری کشی آن روی اشرشیاکلی، استافیلوکوک، و (۵) پسودوموناس و سالمونلا^(۱۱) و وجود چنین ترکیباتی در اسانس درمنه ایرانی^(۱۴) و نتایج حاصل از این پژوهش را میتوان به ترکیب‌های تشکیل دهنده این اسانس یا بخشی از آن نسبت داد. در هر حال قطعیت موضوع به نتایج پژوهش‌های آینده مربوط خواهد شد. امید است با کمک نیروهای محقق و متخصص و تعیین مقدار موثره گیاهان و مطالعات شیمی دارویی و کلینیکی بر روی آنها گامی در جهت تولید آنتی بیوتیکهای جدید با حداقل عوارض جانبی در کشورمان برداشته شود.

پاورقی

- 1- Scopodrinol
- 2- Scopofarnol
- 3- Cymene
- 4- Sabinene
- 5- Cineol
- 6- Linalool
- 7- Cugeol
- 8- Borneol
- 9- Farnesol
- 10 Camphor
- 11- Thujone
- 12- Hydro distillation
- 13- Serial dilution
- 14- Artemisia keton

of the oil of *Salvina officinali* L. against *Botrytis cinerea*. J. Essencial oil Res., No 8,399-440

16-Farag, R.S: Daw,Z.Y, Abo-Raya, S.H, 1989, J.food Sci, 54 (1), p 74-6

17- Royo P,Martin - Casabona N, Martinez E, Andonegui

M.,1999, In vitro susceptibility of *Mycobacterium Kansaii* to the difluorinated quinolone of spoufloxacin using a broth microdilution and macrodilution MIC system, Int.J. Tuberc Lung Dis 1999 Apr, 3(4): 349-53

Inst. 7,120-4

جدول شماره ۱: روش تهیه رقتها در روش لوله

| شماره لوله | ۱ | ۲ | ۳ | ۴ | ۵ | ۶ | ۷ | ۸ | ۹ | ۱۰ | ۱۱ | ۱۲ |
|--|-----|-----|-----|------|------|------|-------|-------|-------|--------|-----------|-----------|
| آبگوشت استریل (ml) | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ |
| اسانس رقیق شده (ml) | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | -- | ۱ |
| کشت ۲۴ ساعت میکروب به نسبت ۱۰ ^۵ - ۱۰ ^۶ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | -- |
| حجم نهایی (ml) | ۲ | ۲ | ۲ | ۲ | ۲ | ۲ | ۲ | ۲ | ۲ | ۲ | ۲ | ۲ |
| رقت نهایی | ۱:۲ | ۱:۴ | ۱:۸ | ۱:۱۶ | ۱:۳۲ | ۱:۶۴ | ۱:۱۲۸ | ۱:۲۵۶ | ۱:۵۱۲ | ۱:۱۰۲۴ | شاهد مثبت | شاهد منفی |

جدول شماره ۲: نتایج حاصل از اثر اسانس درمنه ایرانی روی میکروارگانیسم های بیماری زا در روش لوله

| شماره لوله | ۱ | ۲ | ۳ | ۴ | ۵ | ۶ | ۷ | ۸ | ۹ | ۱۰ | ۱۱ | ۱۲ |
|-------------------------------|-----|-----|-----|------|------|------|-------|-------|-------|--------|-----------|-----------|
| رقت میکروارگانیسم | ۱:۲ | ۱:۴ | ۱:۸ | ۱:۱۶ | ۱:۳۲ | ۱:۶۴ | ۱:۱۲۸ | ۱:۲۵۶ | ۱:۵۱۲ | ۱:۱۰۲۴ | شاهد مثبت | شاهد منفی |
| <i>E. coil</i> | - | - | - | - | - | - | - | - | - | + | + | - |
| <i>Pseudomonas aerogenosa</i> | - | - | - | - | - | - | - | + | + | + | + | - |
| Entrobacter sp | - | - | - | - | - | - | - | - | + | + | + | - |
| Entrococcus | - | - | - | - | - | - | - | - | + | + | + | - |
| <i>Staph saprophyticus</i> | - | - | - | - | - | - | - | - | + | + | + | - |
| <i>Caondida albicans</i> | - | - | - | - | - | - | - | - | - | + | + | - |