

بررسی ترکیب شیمیایی و خاصیت ضد میکروبی اسانس *Artemisia aucheri* Boiss.

محدثه محبوبی^{۱*} و فاطمه قاضیان بیدگلی^۲

*- نویسنده مسئول، کارشناس ارشد میکروبیولوژی، بخش میکروبیولوژی شرکت داروسازی باریج اسانس، کاشان
پست الکترونیک: mahboubi@barijessence.com

۲- کارشناس ارشد شیمی، بخش فیتوشیمی و آنالیز دستگاهی، شرکت داروسازی باریج اسانس، کاشان

تاریخ پذیرش: اردیبهشت ۱۳۸۸

تاریخ اصلاح نهایی: اسفند ۱۳۸۷

تاریخ دریافت: آذر ۱۳۸۷

چکیده

Artemisia aucheri Boiss. گیاهی بوته‌ای از خانواده Asteraceae می‌باشد که در سراسر ایران پراکنده است. این گیاه در طب سنتی ایران، به‌عنوان قابض، ضد عفونی کننده، ضد میکروب، ضد انگل و ضد مسمومیت بکار می‌رود. هدف از این مطالعه، ارزیابی خاصیت ضد میکروبی اسانس حاصل از اندام هوایی این گیاه، بر طیف وسیعی از میکروارگانیسمها شامل باکتریهای گرم منفی، گرم مثبت، قارچهای رشته‌ای و مخمر با استفاده از روش انتشار در آگار (دیسک دیفیوژن) و روش رقت‌سازی در لوله (میکروبراث دایلوژن) بود. شناسایی اجزای اسانس با استفاده از GC و GC/MS وجود ۵۴ ترکیب را نشان داد که مجموعاً ۹۸٪ از کل اسانس را تشکیل می‌دهند. ژرانیل استات (۱۷/۲٪)، آلفا-سیترال (۱۷/۱٪)، لینالول (۱۲/۷٪)، ژرانیول (۱۰/۷٪) و Z-سیترال (۱۰/۵٪) از اجزای اصلی اسانس می‌باشند. نتایج مطالعات ضد میکروبی نشان داد که اثر ضد میکروبی اسانس درمنه کوهی با افزایش غلظت، افزایش می‌یابد. اسانس حاصل از اندام هوایی گیاه، اثر ضد قارچی بسیار خوبی نشان داد. اثر ضد قارچی اسانس از اثر ضد باکتریایی آن بیشتر بود. باکتریهای گرم منفی نسبت به باکتریهای مثبت مقاوم‌تر بودند. متوسط میانگین قطر هاله عدم رشد اسانس درمنه کوهی بر باکتریهای گرم مثبت و قارچها به ترتیب از اثر وانکومایسین و آمفوتریسین B بیشتر بود و این اثر در باکتریهای گرم منفی از جنتامایسین کمتر بود. مطالعات بیشتری لازم است تا کارایی اسانس در مقابل ایزوله‌های بالینی ارزیابی شود.

واژه‌های کلیدی: *Artemisia aucheri* Boiss.، فعالیت ضد میکروبی، ژرانیل استات، لینالول.

مقدمه

در سراسر کشور پراکنده شده است. گونه‌های انحصاری ایران عبارتند از: *A. kermanensis* و *A. melanolepis*؛ دیگر گونه‌های جنس آرتمیسیا، علاوه بر ایران در قفقاز، سیبری، ترکمنستان، افغانستان، پاکستان، آسیای مرکزی، ارمنستان، آناتولی، عراق، هیمالیا، تبت و اروپا نیز می‌رویند (مظفریان، ۱۳۷۵). این گونه‌ها به‌ویژه از اوایل پاییز و

از مهمترین گیاهان بوته‌ای موجود در مراتع، گیاهان جنس درمنه (*Artemisia*) هستند که دارای گونه‌های متعددی بوده و بخش وسیعی از پوشش طبیعی مناطق استپی و نیمه استپی کشور را تشکیل می‌دهند. این جنس، در ایران ۳۴ گونه گیاه علفی یک‌ساله و چند ساله دارد که

اندام هوایی گیاه درمنه کوهی، ۶ مشتق اکسیژنه ژرانیولی جدا شده است (Rustaiyan et al., 1987).

برخی از اثرهای فارماکولوژیکی گیاه درمنه کوهی به خوبی شناخته شده است. اسانس و عصاره درمنه کوهی، دارای اثر ضد انگلی در مقابل تریکوموناس واژینالیس (*Trichomonas vaginalis*) می باشد (آزادبخت و همکاران، ۱۳۸۵). عصاره متانولی آن به پروماستیگوت‌های لیشمانیا ماژور (*Leishmania major*) آسیبهای متابولیک وارد می نماید که این آسیبها برگشتناپذیر هستند (Sharif et al., 2006). اسانس به طور معنی داری دارای اثر دورکنندگی حشرات بوده و با افزایش غلظت، این اثر افزایش می یابد (شاکرمی و همکاران، ۱۳۸۲). عصاره درمنه کوهی در خرگوشهای آزمایشگاهی به طور معنی داری سطح تری گلیسرید (TG)، کلسترول تام (TC)، LDL-کلسترول را کاهش و سطح HDL-کلسترول را افزایش داده و سبب کاهش ضایعات آترواسکلروتیک در آئورت می شود. این عمل را احتمالاً، از طریق تأثیر عصاره بر لیپوپروتئینهای پلاسما، خواص آنتی اکسیدانی و ضد التهابی آن، انجام می دهد (Asgari et al., 2008).

بر اساس بررسیهای انجام شده، هیچ مطالعه ای روی اثر ضد باکتریایی اسانس درمنه کوهی انجام نشده است. تنها در دو مطالعه، اثر ضد قارچی اسانس آن در مقابل قارچهای پاتوژن گیاهی مطالعه شده است. در مطالعه Farzaneh و همکاران (۲۰۰۶) اسانس در غلظت $41/406 \mu\text{l/ml}$ رشد رایزوکتونیا سولانی (*Rhizoctonia solani*) را مهار می کند. شاکرمی و همکاران (۱۳۸۵) اثر ضد قارچی این اسانس را در مقابل فیتوپاتوژنهای

بتدریج بعد از مرحله گلدهی و رسیدن بذر که گیاه بتدریج خشک شده و منجر به تبخیر روغنهای فرار موجود در اندامها می شود، مورد چرای دام قرار می گیرند. درمنه کوهی یکی از اعضای خانواده Asteraceae و گونه ای دائمی است که در شرایط بیش از ۳۰۰ میلی لیتر بارندگی سالیانه، رشد می کند. شرایط کشت و خصوصیات آن شبیه سایر درمنه هاست. درمنه کوهی (*Artemisia aucheri*) گیاهی بوته ای به ارتفاع ۲۵ تا ۵۰ سانتی متر می باشد که در شمال ایران بسیار فراوان است. در طب سنتی ایران، درمنه کوهی با خواص قایض، ضد عفونی کننده، ضد میکروب، ضد انگل و ضد مسمومیت شناخته می شود (زرگری، ۱۳۶۸).

مطالعات مختلفی بر روی اسانس حاصل از اندام هوایی درمنه کوهی توسط محققان مختلف انجام شده است. آنالیز شیمیایی اسانس در روش Microextraction نشان داده که ۸،۱-سینئول (۲۲/۸٪)، کریزاننون (۱۸/۱۶٪)، آلفا-پینن (۸/۳۳٪) و مسیتیلن (۷/۴۱٪) بخش عمده اسانس را تشکیل می دهند (Hashemi et al., 2007).

وربنول (۲۱/۵٪)، کامفور (۲۱/۰٪)، ۸،۱-سینئول (۸/۳٪) و ترانس وربنول از اجزای اصلی اسانس این گونه (استان سمنان، ایران) گزارش شده اند (Sefidkon et al., 2002). در مطالعه دیگری کامفور (۴۵/۵٪) و ۸،۱-سینئول (۱۴/۳٪) به عنوان اجزای اصلی اسانس معرفی شده اند (Mohammadpour et al., 2002). لینالول (۴۴/۱٪)، ژرانیل استات (۱۰/۷٪)، α -سیترال (۹/۷٪) و Z-سیترال (۷/۷٪) از اجزای اصلی اسانس درمنه کوهی استان خراسان می باشند (Farzaneh et al., 2006). از

قطر ۰/۳۲ میلی متر که ضخامت لایه فاز ساکن در آن ۰/۲۵ میکرومتر می باشد، بکار گرفته شد؛ که در آن از گاز هلیوم با درجه خلوص ۹۹/۹۹ به عنوان فاز متحرک استفاده شد. برنامه ریزی حرارتی ستون از ۴۰ درجه شروع شده و پس از ۱ دقیقه توقف در همان دما، بتدریج با سرعت ۳ درجه در دقیقه افزایش یافته تا به دمای ۲۳۰ درجه رسید. دمای دکتور و محفظه تزریق به ترتیب ۲۵۰ و ۲۳۰ درجه بوده است. در سیستم GC/MS از همان دستگاه HP 6890 GC متصل به دکتور طیف سنج جرمی MS 5973 با قدرت انرژی یونیزاسیون ۷۰eV و آنالیزور Quadrupole استفاده شد که سرعت گاز هلیوم در هر دو تزریق ۱ میلی لیتر در دقیقه بود. دمای حرارتی آون و محفظه تزریق مانند گاز کروماتوگراف برنامه ریزی شده بود. ترکیبهای اسانس، با مقایسه اندیس بازداری و تحلیل طیف جرمی با استانداردهای موجود شناسایی و گزارش شد.

سویه های میکروبی

میکروارگانیزمهای مورد مطالعه شامل کوکوسهای گرم مثبت: استافیلوکوکوس اورئوس (ATCC 25923)، استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس (ATCC 13518)، استافیلوکوکوس اپیدرماییدیس (ATCC 12228)، استرپتوکوکوس پیوجنز (ATCC 19615)، استرپتوکوکوس پنومونیا (ATCC 49615)، استرپتوکوکوس آگالکتیه (سوش بالینی)، استرپتوکوکوس فکاليس (ATCC 29212)، استرپتوکوکوس سنگوئیس (PTCC 1449)، استرپتوکوکوس سالیواریوس (PTCC 1448)، استرپتوکوکوس موتانس (PTCC 1601)، استرپتوکوکوس فسیوم (ATCC 25778) و باسیل های گرم مثبت اسپوردار: باسیلوس سرئوس (ATCC 1247)، باسیلوس سوبتیلیس

Fusarium, *Gaeumannomyces graminis*, *R. solani* *Pythium ultimum* و *oxysporum* بررسی نمودند و نشان دادند که اسانس از رشد همه قارچها بجز *R. solani* ممانعت می کند. بنابراین با توجه به اهمیت و ویژگیهای گیاه درمنه کوهی (*A. aucheri*)، ترکیب شیمیایی و اثر ضد میکروبی اسانس آن در مقابل میکروارگانیزمهای مختلف (باکتری، قارچ و مخمر) در شرایط آزمایشگاه (*in vitro*) مورد مطالعه و بررسی قرار گرفت.

مواد و روشها

جمع آوری گیاه و استخراج اسانس

اندام هوایی گیاه *A. aucheri* از رویشگاه طبیعی خود از حوالی کاشان (روستای نسلج) در مرحله بذردهی کامل جمع آوری شد. پس از تأیید و شناسایی گیاه توسط هرباریوم مرکزی شرکت داروسازی باریج اسانس، گیاه در سایه و دمای مناسب خشک شد. بعد گیاه آسیاب شده و به روش تقطیر با آب، اسانس آن استخراج گردید و توسط سولفات سدیم رطوبت زدایی شد.

شناسایی ترکیبهای شیمیایی اسانس

به منظور شناسایی اجزای اصلی، اسانس به دستگاه گاز کروماتوگراف (GC) تزریق شد. جهت یافتن مناسبترین برنامه ریزی حرارتی ستون برای دستیابی به بهترین جداسازی، اسانس بدست آمده ابتدا به دستگاه گاز کروماتوگراف متصل به دکتور FID تزریق شده که پس از جداسازی طیفها جهت شناسایی پیکها به نحو مطلوب از گاز کروماتوگراف مجهز به دکتور جرمی (GC/MS) استفاده شد. دستگاه گاز کروماتوگراف سیستم HP 6890 مجهز به ستون HP-5MS به طول ۶۰ متر و

سوسپانسیونهای میکروبی تهیه شده در بالا، روی محیط مولر هیتتون آگار (باکتریهای کم نیاز) و Todd Hewitt Agar غنی شده با ۰/۵٪ عصاره مخمر و ۰/۰۰۰۱٪ توئین ۲۰ (THA غنی شده) (استرپتوکوکوسها) و سوسپانسیونهای قارچی و مخمر روی سابورو دکستروز آگار کشت گردید. دیسکهای استریل (پادتن طب، تهران، ایران) با ۲/۵، ۵، ۷/۵ و ۱۵ اسانس رقیق شده در ۱۰ μl دی‌متیل سولفوکساید روی محیطهای کشت شده قرار می‌گیرند. از دیسک آنتی‌بیوتیک و دیسک حاوی دی‌متیل سولفوکساید به‌عنوان کنترل مثبت و منفی استفاده شد. کشت‌های باکتریایی در دمای ۳۷°C به مدت ۲۴ ساعت و کشت‌های قارچی در دمای ۳۰°C به مدت ۴۸ ساعت انکوبه شدند. قطر هاله عدم رشد بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری شد (NCCLS., 2006a؛ Nascimento *et al.*, 2000).

در روش رقت‌سازی در چاهک، حداقل غلظت مهارکننده رشد (MIC) و حداقل غلظت کشنده رشد (MBC) اسانس بر میکروارگانیسمهای مختلف تعیین شد. همچنین اسانس در دی‌متیل سولفوکساید ۱۰٪ رقیق شد؛ به نحوی که غلظت اسانس ۸-۱۲۵ μl/ml باشد. از RPMI 1640 (قارچها و مخمر) (Marchetti *et al.*, 2000)، مولر هیتتون برات (باکتریهای کم نیاز) (NCCLS., 2006a) و THB غنی شده (استرپتوکوکوسها) به‌عنوان محیط برات استفاده شد (Carson *et al.*, 1996). ۱۰۰ میکرولیتر از هر رقت به هر چاهک از پلیت ۹۶ تایی افزوده شد. غلظت سوسپانسیون میکروبی رقیق شده به نحوی است که تعداد باکتریها به ۱۰^۶-۱۰^۰ CFU/ml و تعداد قارچها و مخمر به ۱۰^۴-۱۰^۰ برسد. ۱۰۰ میکرولیتر از هر ارگانیسم به هر سری رقت افزوده شده و پلیت‌های

(ATCC 6051) و باسیل‌های گرم مثبت بدون اسپور: لیستریا مونوسیتوجنز (ATCC 7644) و باسیل‌های گرم منفی بدون اسپور اشرشیاکلی (ATCC 8739)، سالمونلا تیفی موریوم (ATCC 14028)، شیگلا دیسانتری (RI 366)، شیگلا فلکسنری (سویه بالینی)، کلبسیلا پنومونیه (ATCC 10031)، پروتئوس و لگاریس (RI 231)، انتروکوکوس آتروجینز (NCTC 10009)، پسودوموناس آتروجینوزا (ATCC 9027)، سراشیا مارسنس (ATCC 13880) و قارچهای آسپرژیلوس نایجر (ATCC 16404) و ایزوله بالینی آسپرژیلوس فلاووس و مخمر کاندیدا آلبیکانس (ATCC 10231) بودند. سویه‌های باکتریایی در دمای ۳۷°C به مدت یک شب روی محیط کشت مناسب (نوترینت آگار، بلاد آگار) کشت شدند. قارچها و مخمر روی سابورو دکستروز آگار در دمای ۳۰°C تلقیح شدند.

ارزیابی اثر ضد میکروبی اسانس درمنه کوهی

اثر ضد میکروبی اسانس درمنه کوهی با استفاده از روش انتشار در آگار (دیسک دیفیوژن) و رقت‌سازی در چاهک (میکروبراث دایلوژن) بررسی شد (NCCLS., 2006b).

در روش انتشار در آگار، دو تا سه کلنی از کشت شبانه باکتری در سرم فیزیولوژی استریل تلقیح شد. قارچها و مخمر مورد بررسی از کشت ۷۲ و ۲۴ ساعته روی محیط سابورو دکستروز آگار در محیط RPMI 1640 (سیگما) که با مورفولین پروپان سولفونیلک اسید ۰/۱۶۵ مولار بافری شده، معلق شده و کدورت هر سوسپانسیون، با استاندارد نیم مک‌فارلند تنظیم شد (تعداد تقریبی باکتریها: ۱×۱۰^۸ CFU/ml؛ مخمر و قارچ: ۱×۱۰^۶ CFU/m). با استفاده از سوآب استریل، از

استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس (۷/۰-۲۹/۰) نسبت به اسانس درمنه کوهی حساس‌ترند. در مقابل، استرپتوکوکوس موتانس (۷-۱۷/۳)، استرپتوکوکوس فکالیس (۷-۱۷/۵) و استرپتوکوکوس فاسیوم (۷-۱۷/۵) مقاوم‌ترند (جدول ۲).

متوسط میانگین قطر هاله عدم رشد اسانس درمنه کوهی بر باکتریهای گرم منفی از باکتریهای گرم مثبت (۱۶/۶±۰/۹۳) در مقابل ۲۸/۶±۰/۴۵ میلی‌متر در غلظت ۱۵μl/disc کمتر است (جدول ۲ و ۳). پسودوموناس آئروجینوزا (۷/۰±۰/۰)، سالمونلا تیفی‌موریوم (۹/۵±۰/۷) و اشیرشیاکلی (۱۰/۵±۰/۷) نسبت به سایر باکتریهای گرم منفی مقاوم‌ترند. در مقابل، شیگلا دیسانتری (۲۳/۵±۳/۵)، شیگلا فلکسنری (۲۳/۵±۰/۷)، آنتروباکتر آئروجینوز (۲۰/۰±۰/۰) و کلبسیلا پنومونیه (۲۰/۰±۰/۰) نسبت به اسانس حساس‌ترند (جدول ۳). در میان باکتریهای گرم منفی MIC، MBC کلبسیلا پنومونیه از سایرین کمتر است.

مخمر کاندیدا آلیکانس از اسپرژیلوس‌ها نسبت به اسانس حساس‌تر است. در همه غلظتهای اسانس درمنه کوهی، اسپرژیلوس نایجر (۹/۵-۴۱) از اسپرژیلوس فلاووس (۷/۵±۳۰/۵) حساس‌تر است (جدول ۴). اثر ضد قارچی اسانس درمنه کوهی از اثر ضد باکتریایی آن بیشتر است. حداقل غلظت کشندگی رشد (MBC) باسیلوس سوبتیلیس و اسپرژیلوس نایجر چند برابر حداقل غلظت مهارکنندگی رشد آنهاست. اسانس درمنه کوهی بر روی باسیلوس سوبتیلیس و اسپرژیلوس نایجر اثر مهاری دارد (جدول ۲ و ۴). براساس نتایج قطر هاله عدم رشد و حداقل غلظتهای رشد باکتریهای گرم منفی از باکتریهای گرم مثبت نسبت به اسانس حساس‌ترند.

باکتریایی و مخمری در دمای ۳۷°C به مدت ۲۴ ساعت و پلیتهای قارچی در دمای ۳۰°C به مدت ۴۸ ساعت انکوبه شدند. حداقل غلظت مهارکنندگی رشد (MIC) (اولین چاهکی که در آن رشدی مشاهده نمی‌شود) و حداقل غلظت کشندگی رشد (MBC) (یعنی اولین چاهکی که روی محیط جامد رشد نمی‌کند) تعیین گردید.

نتایج

ترکیب شیمیایی اسانس

آنالیز شیمیایی اسانس درمنه کوهی منجر به شناسایی ۵۴ جزء مختلف شد که در مجموع ۹۸٪ از کل اسانس را تشکیل می‌دهند. ژرانیل استات (۱۷/۲٪)، آلفا-سیترال (۱۷/۱٪)، لینالول (۱۲/۷٪)، ژرانیول (۱۰/۷٪) و Z-سیترال (۱۰/۵٪) از اجزای اصلی اسانس می‌باشند. بتا-توجون (۱/۵٪)، کامفور (۳/۲٪)، ۸،۱-سینئول (۱/۲٪)، آلفا-توجون (۰/۴٪) از نظر درصد ترکیبهای بعدی را تشکیل می‌دهد (جدول ۱).

فعالیت ضد میکروبی اسانس

در روش انتشار در آگار، متوسط میانگین قطر هاله عدم رشد (means±SD) اسانس بر باکتریهای گرم مثبت (بر حسب میلی‌متر) در غلظت ۷/۵μl، ۲۲/۴۶±۰/۷۱ میلی‌متر و وانکومایسین ۲۰/۷±۰/۸۴ میلی‌متر است. میانگین قطر هاله عدم رشد اسانس بر استرپتوکوکوس موتانس (۱۷/۳±۰/۴)، استرپتوکوکوس فاسیوم (۱۷/۵±۰/۷) می‌باشد. در میان باکتریهای گرم مثبت، استرپتوکوکوس پنومونیا (۱۳/۰±۴۱/۵)، استافیلوکوکوس اورئوس (۱۴/۵±۳۷/۵)، استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس (۱۱/۵±۳۲/۰) و باسیلوس سرئوس (۱۱/۵±۳۲/۰) و

جدول ۱- ترکیبهای شیمیایی و مقادیر آنها در اسانس گیاه درمنه ترکی (A. aucheri)

میزان ترکیب (%)	شاخص بازداری	ترکیب
جزئی	۷۷۱	1-octene
۰/۱	۸۹۶	santolina triene
۰/۷	۹۲۵	α -pinene
۰/۷	۹۴۲	camphene
۰/۲	۹۶۶	α -phellandrene
۰/۲	۹۷۱	β -pinene
۱/۰	۹۷۶	6-methyl-5-hepten-2-one
۱/۱	۹۸۱	myrcene
۰/۱	۹۸۷	yomogi alcohol
جزئی	۹۹۷	β -phellandrene
۰/۲	۹۹۹	herboxid second isomer
۰/۱	۱۰۱۰	α -terpinene
۱/۶	۱۰۱۶	<i>p</i> -cymene
۰/۲	۱۰۲۱	limonene
۲/۱	۱۰۲۵	1,8-cineole
۰/۵	۱۰۵۱	γ -terpinene
۰/۴	۱۰۶۶	<i>trans</i> linalool oxide
۰/۶	۱۰۸۵	terpinolene
۱۲/۷	۱۰۹۱	linalool
۱/۵	۱۱۰۰	α -thujone
۰/۴	۱۱۱۰	β -thujone
۰/۲	۱۱۱۵	citral
۰/۳	۱۱۳۳	1-terpineol
۳/۲	۱۱۳۹	camphor
۱/۴	۱۱۶۲	lavandulol
۲/۵	۱۱۶۵	borneol
۱/۴	۱۱۷۲	terpinen-4-ol
۰/۴	۱۱۷۹	<i>p</i> -cymen-8-ol
۰/۷	۱۱۸۵	β -fenchyl alcohol
۰/۲	۱۱۸۸	estragole
۰/۹	۱۲۲۲	β -citronellol
۱۰/۵	۱۲۳۲	Z-citral
۱۰/۷	۱۲۴۸	geraniol
۱۷/۱	۱۲۶۵	α -citral
۰/۴	۱۲۷۲	lavandulyl acetate
۱/۴	۱۲۷۶	bornyl acetate
۰/۳	۱۳۳۰	<i>cis</i> -2,6-dimethyl-2,6-octadiene

ادامه جدول ۱- ترکیبهای شیمیایی و مقادیر آنها در اسانس گیاه درمنه ترکی (*A. aucheri*)

میزان ترکیب (%)	شاخص بازداری	ترکیب
۰/۴	۱۳۴۳	3,7-dimethyl-2,6-octadien-1-ol
۱۷/۲	۱۳۶۸	geranyl acetate
۰/۲	۱۳۸۷	methyl eugenol
۰/۴	۱۳۸۹	cis-jasmone
۰/۴	۱۴۱۷	E-caryophyllene
۰/۲	۱۴۵۵	geranyl propionate
۰/۵	۱۴۶۹	α -curcumene
۰/۱	۱۴۸۱	zingiberene
۰/۲	۱۴۸۳	β -selinene
۰/۳	۱۵۷۱	cis-davanone
۰/۲	۱۵۷۵	spathulenol
۰/۳	۱۵۸۱	caryophyllene oxide
۰/۲	۱۶۲۰	valencene
۰/۲	۱۶۳۲	methyl jasmonate
۰/۲	۱۶۶۱	5-(t-butyl)-4-methoxy-1,2-dihydroxybenzene
۰/۲	۱۶۶۹	β -bisabolol
۰/۵	۱۶۷۵	α -bisabolol

جزئی = کمتر از ۰/۰۵٪

جدول ۲- بررسی اثر ضد میکروبی اسانس درمنه کوهی (*A. aucheri*) بر باکتریهای گرم مثبت

حداقل غلظت رشد		قطر هاله عدم رشد (میلی متر)					ونکومایسین	
اسانس درمنه کوهی ($\mu\text{l/ml}$)		اسانس درمنه کوهی (μl)						
MBC	MIC	۱۵	۷/۵	۵	۲/۵	۳۰ μg		
۰/۵	۰/۵	۳۷/۵±۰/۷	۳۰/۰±۰/۰	۲۳/۸±۰/۴	۱۴/۵±۰/۷	۲۶/۸±۱/۹	استافیلوکوکوس اورئوس	
۱	۰/۵	۳۲/۰±۰/۰	۲۹/۵±۰/۷	۲۳/۰±۱/۴	۱۱/۵±۲/۱	۱۷/۸±۰/۴	استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس	
۱	۰/۵	۲۹/۰±۰/۰	۱۷/۸±۰/۴	۱۱/۲±۰/۴	۷/۰±۰/۰	۲۰/۰±۰/۸	استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس	
۱	۰/۵	۳۲/۰±۰/۰	۲۹/۵±۰/۷	۲۳/۰±۱/۴	۱۱/۵±۲/۱	۱۹/۵±۰/۸	باسیلوس سرئوس	
>۱۶	۲	۳۰/۰±۰/۰	۲۹/۰±۱/۴	۱۹/۰±۱/۴	۱۱/۰±۰/۰	۲۲/۲±۱/۰	باسیلوس سوبتیلیس	
۲	۲	۱۷/۵±۰/۷	۱۳/۵±۰/۷	۹/۰±۰/۰	۷/۰±۰/۰	۱۵/۰±۲/۰	استرپتوکوکوس فکالیس	
۲	۱	۱۷/۵±۰/۷	۱۳/۵±۰/۷	۹/۰±۰/۰	۷/۰±۰/۰	۱۹/۵±۱/۰	استرپتوکوکوس فاسیوم	
۲	۲	۲۲/۸±۰/۴	۱۸/۵±۰/۷	۱۷/۰±۰/۰	۱۱/۰±۰/۰	۲۰/۲±۰/۴	استرپتوکوکوس آگالاکتیه	
۲	۱	۴۱/۵±۰/۷	۳۸/۳±۰/۴	۳۰/۵±۰/۷	۱۳/۰±۰/۰	۱۸/۵±۰/۵	استرپتوکوکوس پنومونیا	
۴	۲	۲۰/۳±۰/۴	۱۶/۰±۱/۴	۱۰/۵±۰/۷	۷/۰±۰/۰	۱۹/۰±۱/۲	استرپتوکوکوس سنجنویس	
۱	۱	۲۷/۰±۱/۴	۲۱/۰±۱/۴	۱۵/۵±۳/۵	۹/۰±۱/۴	۲۰/۰±۰/۸	استرپتوکوکوس سالیواریوس	
۴	۲	۱۷/۳±۰/۴	۱۳/۰±۰/۰	۸/۸±۰/۴	۷/۰±۰/۰	۲۹/۷±۰/۶	استرپتوکوکوس موتانس	
		۲۸/۶±۰/۴۵	۲۲/۴±۰/۷۱	۱۶/۵±۰/۸۶	۹/۹±۰/۵۷	۲۰/۷±۰/۸۴	Means±SD	

جدول ۳- بررسی اثر ضد میکروبی اسانس درمنه کوهی (*A. aucheri*) بر باکتریهای گرم منفی

حداقل غلظت رشد (µl/ml)		قطر هاله عدم رشد (میلی متر)					جنتامایسین ۱۰µg/disc	
MBC	MIC	۱۵	۷/۵	۵	۲/۵	اسانس درمنه کوهی (میکرو لیتر)		
۱۶	۱۶	۱۰/۵±۰/۷	۸/۵±۰/۷	۸/۰±۰/۰	۷/۰±۰/۰	۲۱/۴±۰/۵	اشیریشالکی	
۱۶	۱۶	۹/۵±۰/۷	۷/۰±۰/۰	۷/۰±۰/۰	۷/۰±۰/۰	۲۱/۰±۱/۲	سالمونلا تیفی موربوم	
۴	۲	۳۳/۵±۰/۷	۲۰/۳±۰/۴	۱۸/۰±۰/۰	۱۴/۰±۰/۰	۱۷/۸±۱/۰	شیگلا فلکسنزی	
۲	۱	۲۰/۰±۰/۰	۱۹/۰±۰/۰	۱۶/۸±۰/۴	۱۴/۰±۰/۰	۱۸۷±۱/۰	کلسیلا پنومونیه	
۱۶	۱۶	۱۹/۰±۱/۴	۱۵/۰±۲/۸	۱۲/۵±۰/۷	۷/۵±۰/۷	۲۱/۰±۰/۶	پروتئوس ولگاریس	
>۱۶	۱۶	۲۰/۰±۱/۴	۱۸/۵±۰/۷	۹/۰±۰/۰	۷/۰±۰/۰	۲۴/۲±۱/۳	انتروباکتر آئروجنز	
>۳۳	>۳۳	۷/۰±۰/۰	۷/۰±۰/۰	۷/۰±۰/۰	۷/۰±۰/۰	۲۴/۳±۲/۶	پسودوموناس آئروجنیزا	
۴	۲	۱۶/۰±۰/۰	۱۴/۸±۰/۴	۱۱/۰±۰/۰	۸/۸±۰/۴	۳۳/۶±۱/۲	سراثیا مارسنز	
۲	۲	۳۳/۵±۳/۵	۱۳/۵±۰/۷	۱۳/۰±۰/۰	۱۲/۰±۰/۰	۱۹/۰±۰/۰	شیگلا دیسنتری	
		۱۶/۴±۰/۹۳	۱۳/۷±۰/۶۳	۱۱/۴±۰/۱	۹/۴±۰/۱۳	۲۱/۲±۲/۴	Means±SD	

جدول ۴- بررسی اثر ضد میکروبی اسانس درمنه کوهی (*A. aucheri*) بر قارچها و مخمر

حداقل غلظت رشد (µl/ml)		قطر هاله عدم رشد (میلی متر)					آمفو تریسین B ۱۰۰U/disc	
MBC	MIC	۱۵	۷/۵	۵	۲/۵	اسانس درمنه کوهی (میکرو لیتر)		
۴	۰/۵	۴۱/۰±۱/۴	۳۷/۰±۰/۰	۱۸/۵±۰/۷	۹/۵±۰/۷	۶/۸±۱/۵	آسپرژیلوس نایجر	
۲	۱	۳۰/۵±۰/۷	۱۶/۳±۰/۴	۱۱/۰±۰/۰	۷/۰±۰/۰	۷/۵±۱/۷	آسپرژیلوس فلاووس	
۰/۵	۰/۵	۴۵/۰±۱/۴	۳۸/۰±۰/۰	۳۱/۵±۲/۱	۲۲/۵±۰/۷	۱۳/۸±۱/۰	کلدیبا آلیککس	
		۳۸/۸±۱/۲	۳۰/۱±۰/۱۳	۲۰/۳±۰/۳۵	۱۳/۰±۰/۴۷	۹/۴±۱/۴	Means±SD	

بحث

حاصل از اندام هوایی اسانس درمنه کوهی استان سمنان متفاوت می باشد (Sefidkon et al., 2002).
 وربنول (verbenole) (۲۱/۵٪)، کامفر (۲۱/۰٪) و ۸،۱-سینئول (۸/۳٪) از اجزای اصلی اسانس درمنه کوهی (استان سمنان، ایران) می باشد (Sefidkon et al, 2002).
 در اسانس گیاه درمنه کوهی منطقه غرب کاشان ۲/۱٪، ۸،۱-سینئول و ۳/۲٪ کامفر شناسایی شد. وربنول در این اسانس یافت نشد. بنابراین ترکیب شیمیایی اسانس درمنه

نگاهی اجمالی به نتایج بدست آمده در این مطالعه، نشان می دهد که ترکیب شیمیایی اسانس استخراج شده از اندام هوایی گیاه درمنه کوهی منطقه کاشان، از نظر اجزای اسانس با اسانس اندام هوایی این گیاه از سایر مناطق کشور تفاوتی دارد. ترکیب شیمیایی این اسانس با ترکیب شیمیایی اسانس استان خراسان مشابه می باشد (Farzaneh et al., 2006)، ولی با ترکیب شیمیایی اسانس

ترکیبهای مونوترپنی به غشاهای سلولی می‌شود. اثر ضد میکروبی اسانس درمنه کوهی بر باکتریهای گرم منفی در مقایسه با باکتریهای گرم مثبت کمتر است که احتمالاً به دلیل لیپوپلی‌ساکاریدهای دیواره سلولی باکتریهای گرم منفی است (Nikaido & Vaara, 1985). مطالعه فوق نشان می‌دهد که اسانس درمنه کوهی، یک منبع بسیار قوی از ترکیبهای فعال بیولوژیکی می‌باشد که به‌عنوان یک منبع مفید از عوامل ضد باکتریایی و ضد قارچی جدید می‌تواند بکار گرفته شود (Dupont *et al.*, 1996).

در سالهای اخیر، مقاومت در پاتوژنهای انسانی افزایش یافته است (Ahmad & Beg, 2002). مقاومت به چند دارو در باکتریهای نظیر پseudomonas آئروجینوزا، اشیریشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس مشاهده شده است و سبب مقاومت این باکتریها نسبت به انواع آنتی‌بیوتیکها نظیر بتالاکتامها، ماکرولیدها، تتراسایکلین، فلوروکینولونها و کلرامفنیکل می‌شود. علاوه بر آن، عوارض جانبی بعضی از داروهای شیمیایی برای انسان بسیاری از محققان را بر آن داشته تا دنبال کشف ترکیبهای طبیعی مؤثرتر باشند.

با توجه به اثربخش بودن اسانس درمنه کوهی بر قارچها و باکتریهای گرم مثبت، لازم است مطالعات بیشتری پیرامون اثربخشی این اسانس بر سویه‌های بالینی میکروبی انجام شود و توانایی این ترکیب در مدل حیوانی ارزیابی گردد.

سپاسگزاری

نویسندگان این مقاله از جناب آقای مهندس حسین حجازی مدیر عامل محترم شرکت داروسازی بارچ

کوهی بر حسب نوع واریته، مرحله رشد یا زمان جمع‌آوری گیاه و شرایط آب و هوایی رویش متفاوت می‌باشد.

اسانس درمنه ترکی از اجزای مختلفی تشکیل شده که هر یک از این اجزاء دارای اثرهای ضد میکروبی مختلفی می‌باشند، به‌عنوان مثال ژرانیول دارای اثر ضد باکتریایی (Jirovetz *et al.*, 2007) به‌ویژه در مقابل سالمونلا تیفی‌موریوم (Kim *et al.*, 2006) و دارای اثر ضد قارچی می‌باشد (Subramanyam *et al.*, 1997). ژرانیل استات یک ترکیب آلی طبیعی از گروه مونوترپنها و دارای فعالیت ضد قارچی ضعیفی می‌باشد (Nakahara *et al.*, 2003).

لینالول دارای اثر ضد مایتی (mite) (Perrucci & Cioni, 1996)، ضد باکتریایی (Subramanyam *et al.*, 1997)، ضد قارچ (Nakahara *et al.*, 2003) و ضد کک (Hink *et al.*, 1988) می‌باشد. آلفا-بیزابولول دارای فعالیت ضد باکتریایی و ضد قارچی است (Mitova *et al.*, 2003). بنابراین اثر ضد میکروبی اسانس درمنه کوهی به هر یک از اجزای اصلی اسانس یا هر یک از اجزای فرعی یا سینتریزم یا آنتاگونیست بین آنها مربوط می‌شود. اسانس مخلوطی از اجزای شیمیایی مختلف است؛ به همین دلیل مشکل است که اثر ضد میکروبی اسانس به یک یا چند جزء خاص نسبت داده شود. نشان داده شده که اثر ضد میکروبی کل اسانس از اثر ضد میکروبی تک تک اجزای آن بیشتر است. طبیعت و سهم هر یک از اجزاء می‌تواند روی اثر ضد میکروبی آن تأثیر بگذارد. شاید حضور ژرانیول و لینالول در اسانس منجر به افزایش خاصیت ضد قارچی اسانس بشود. ترکیبهای لیپوفیلی، تمایل بیشتری به غشاهای سلولی دارند. برخلاف طبیعت لیپوفیلی ترکیبها، حلالیت کم این ترکیبها در محیطهای آبی، مانع رسیدن

- Dupont, B.F., Dromer, F. and Improvisi, L., 1996. The problem of resistance to azoles in *Candida* sp. *Journal of Medical Microbiology*, 6(2): 12-19.
- Farzaneh, M., Ahmadzadeh, M., Hadian, J. and Tehrani, A.S., 2006. Chemical composition and antifungal activity of essential oils of three species of *Artemisia* on some soil borne phytopathogens. *Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences*, 71(3): 1327-1333.
- Hashemi, P., Abolghasemi, M., Fakhari, A., Ebrahimi, S. and Ahmadi, S., 2007. Hydrodistillation-solvent microextraction and GC-MS identification of volatile components of *Artemisia aucheri*. *Chromatographia*, 66: 283-286.
- Hink, W., Liberati, T. and Collart, M.G., 1988. Toxicity of linalool to life stages of cat flea, *Ctenocephalides felis* and its efficacy in carpet and on animals. *Journal of Medical Entomology*, 25(1): 1-4.
- Kim, J.M., Marsh, M.R., Cornell, J.A., Preston, I.I.I. and Wei, C.I., 2006. Antibacterial activity of carvacrol, citral and geraniol against *Salmonella typhimurium* in culture medium and fish cubes. *Journal of Food Sciences*, 60(6): 1364-1368.
- Jirovetz, L., Buchbauer, G., Schmid, E., Stoyanova, A.S., Denkova, Z., Nikolova, R. and Geissle, M., 2007. Purity, Antimicrobial activities and olfactory evaluations of geraniol/nerol and various of derivatives. *Journal of Essential Oil Research*, 19(3): 288-299.
- Marchetti, O., Moreillon, P., Glauser, M., Bille, J. and Sanglard, D., 2000. Potent synergism of the combination of fluconazole and cyclosporine in *Candida albicans*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 44: 2373-2381.
- Mitova, M., Taskova, R., Popov, S., Burger, R.G., Krings, U. and Handjieva, N., 2003. GC/MS analysis of some bioactive constituents from *Carthamus lanatus* L. *Z. Naturforsch*, 58c: 697-703.
- Mohammadpoor, S.K., Yari, M., Rustaiyan, A. and Masoudi, S., 2002. Chemical constituents of the essential oil of *Artemisia aucheri* Boiss. a species endemic to Iran. *Journal of Essential Oil Research*, 14(2): 122-123.
- Nakahara, K., Alzorekey, N.S., Yoshihashi, T., Nguyen, H.T.T. and Trakoontivakorn, G., 2003. اسانس که همواره پشتیبان تحقیقات بوده‌اند قدردانی می‌نمایند.
- ### منابع مورد استفاده
- آزادبخت، م.، ضیایی هزارجریبی، ه.، عبداللهی، ف. و شعبانخانی، ب.، ۱۳۸۲. بررسی تأثیر اسانس گیاه درمنه کوهی، آویشن شیرازی و مورد بر تریکوموناس واژینالیس. فصلنامه گیاهان دارویی، ۸(۳): ۳۵-۴۰.
- زرگری، ع.، ۱۳۶۸. گیاهان دارویی. جلد سوم، مؤسسه چاپ و انتشارات دانشگاه تهران، ۹۲۶ صفحه.
- شاکرمی، ج.، کمالی، ک.، محرمی‌پور، س. و مشکوه‌السادات، م.، ۱۳۸۲. سمیت تنفسی و دورکنندگی اسانس درمنه کوهی (*Artemisa aucheri*) روی چهار گونه آفت انباری. آفات و بیماریهای گیاهی، ۷۱(۲): ۶۱-۷۵.
- شاکرمی، ج.، بازگیر، ع. و فیضیان، م.، ۱۳۸۵. بررسی مقدماتی اثر مهارکنندگی اسانس پنج گونه گیاه بر رشد میسیلیومی چهار گونه قارچ بیماری‌زای گیاهی در شرایط آزمایشگاهی. علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، ۱۰(۳): ۴۹۷-۵۰۳.
- ضیایی هزارجریبی، ه.، آزادبخت، م.، عبداللهی، ف. و شعبانخانی، ب.، ۱۳۸۵. تأثیر عصاره متانولی گیاهان درمنه کوهی، آویشن شیرازی و مورد روی تریکوموناس واژینالیس در محیط کشت. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی گرگان، ۸(۱): ۳۸-۳۴.
- مظفریان، و.، ۱۳۷۵. فرهنگ نامهای گیاهان ایران. فرهنگ معاصر، تهران، ۶۷۱ صفحه.
- Ahmad, I.Z. and Beg, A., 2002. Antimicrobial and phytochemical studies on 45 Indian medicinal plants against multi drug resistant human pathogens. *Journal of Ethnopharmacology*, 74: 113-123.
- Asgary, S., Jafari Dinani, N., Madani, H. and Mahzouni, P., 2008. Ethanolic extract of *Artemisia aucheri* induces regression of aorta wall fatty streaks in hypercholestromic rabbits. *Pharmazie*, 63: 394-397.
- Carson, C., Hammer, K. and Riley, T., 1996. In vitro activity of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* against *Streptococcus* ssp. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 37: 1177-1178.

- Rustaiyan, A., Bamonieri, A., Raffatrad, M., Jakupovic, J. and Bohlmann, F., 1987. Eudesmane derivatives and highly oxygenated monoterpenes from Iranian *Artemisia* species. *Phytochemistry*, 26(8): 2307-2310.
- Sefidkon, F., Jalilli, A. and Mirhaji, T., 2002. Essential oil composition of three *Artemisia* sp. from Iran. *Flavour and Fragrance Journal*, 17(2): 150-152.
- Sharif, M., Ziaei, H., Azadbakht, M., Daryani, A., Ebadattalab, A. and Rostami, M., 2006. Effect of Methanolic extracts of *Artemisia aucheri* and *Camellia sinensis* on *Leishmania major* (*In vitro*). *Turkish Journal of Medicine Science*, 6: 365-369.
- Subramanyam, P.S., Bapaji, V.R. and Cole, M.C.R., 1997. Antibacterial and antifungal activity of aromatic constituents of essential oils. *Microbios*, 89(358): 39-46.
- Chemical composition and antifungal activity of essential oil from *Cymbopogon nardus*. *JARQ*, 37(4): 249-252.
- Nascimento, G., Locatell, J., Freitas, C. and Silva, L., 2000. Antibacterial activity of plant extract and phytochemical on antibiotic resistant bacteria. *Brazilian Journal of Microbiology*, 31: 347-351.
- Nikaido, H. and Vaara, M., 1985. Molecular basis of bacterial outer membrane permeability. *Microbiological Reviews*, 49: 1-23.
- NCCLS., 2006a. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved Standard M7-A7, 7th Edition, Wayne, Pennsylvania, 10p.
- NCCLS., 2006b. Performance standard antimicrobial disc susceptibility testing, sixteenth informational supplement M100-S16. Wayne, Pennsylvania, 11p.
- Perrucci, S. and Cioni, P., 1996. Biological activity of some essential oils and their constituents against mite (*Trypophagus longior*) pests of stored foods. *Atti convegno internazionale: coltivazione emiglioramento de piante officinali*, Trento, Italy, 2-3 giugno: 579-584.

Archive of SID

Chemical composition and antimicrobial activity of *Artemisia aucheri* Boiss. essential oil

M. Mahboubi^{1*} and Qazian Bidgoli²

1*- Corresponding author, Department of Microbiology, Barij Essence Pharmaceutical Company, Kashan, Iran

E-mail: mahboubi@barijessence.com

2- Department of Phytochemistry, Barij Essence Pharmaceutical Company, Kashan, Iran

Received: December 2008

Revised: March 2009

Accepted: May 2009

Abstract

Artemisia aucheri Boiss. is a shrub from Asteraceae family that spread all over Iran. In traditional medicine, *A. aucheri* is a plant with astringent properties, disinfectant, antimicrobial, antiparasit and antitoxicant activity. The aim of this study was to evaluate, the antimicrobial activity of aerial part essential oil of *A. aucheri* against a large number of microorganisms including gram positive, gram negative bacteria, filamentous fungi, and yeast by disc diffusion and micro broth dilution assays. Fifty four components were identified by GC and GC/MS in the essential oil of *A. aucheri*, representing 98% of total oil. The major components were geranyl acetate (17.2%), α -citral (17.1%), linalool (12.7%), geraniol (10.7%) and Z-citral (10.5%). The antimicrobial activity of *A. aucheri* oil was dose dependent. Aerial part essential oil showed the best antifungal activity and this effect is more than the antibacterial activity. Gram negative bacteria were less sensitive than gram positive bacteria. Means average of inhibition diameters of oil against gram positive bacteria and fungi were more than vancomycin and amphotricin B, respectively and this effect was smaller than gentamycin in gram negative bacteria.

Key words: *Artemisia aucheri* Boiss., antimicrobial activity, geranyl acetate, linalool.