پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره هفدهم شماره ۵۷ فروردین و اردیبهشت سال ۱۳۸۶ (۶۶-۵۷)

بررسی و مقایسه اثر ضدمیکروبی عصاره های متانولی چند گونه گیاه از جنس های Stachys و Phlomis

کتایون مرتضی سمنانی(Ph.D.) *+ **مجید سعیدی** (Ph.D.)**

محمدرضا مهدوی (D.MT.)*** **فاطمه رحیمی**(Pharm.D.)****

چکیده

سابقه و هدف: بررسی و جست‌وجو بر روی اثر ضد میکروبی عصاره‌های گیاهی و ترکیبات طبیعی نشان داده است که گیاهان منابع بالقوه‌ای از عوامل ضد عفونت را ارائه نموده‌اند که این امر معرفی ترکیبات جدیدی را به دنبال داشته است. درمان ضد باکتری از طریق مواد شیمیایی به موازات توسعه سریع خود، با بروز مقاومت‌های دارویی نیز همراه بوده است، بدین لحاظ لزوم بررسی بر روی عوامل ضد باکتریایی جدید جهت مقابله با سویه‌های مقاوم ضروری به نظر می‌رسد. با توجه به رویکرد مجدد به گیاهان دارویی، با در نظر داشتن اثرات ضد میکروبی مناسب گونه‌هایی از دو جنس استخیس (Stachys) و فلومیس (Phlomis)، در این مطالعه برخی از گیاهان رویش یافته در استان مازندران که تا به حال هیچ‌گونه گزارشی از آن‌ها در مجلات معتبر علمی مشاهده نگردیده است، انتخاب شده و مورد بررسی قرار گرفتند.

مواد و روش‌ها: پس از جمع‌آوری گیاهان، تأیید نام علمی آن‌ها، خشک نمودن در سایه و عصاره‌گیری به روش خیساندن توسط حلال متانول، عصاره‌ها تغلیظ و خشک گردیدند. بررسی اثرات ضدمیکروبی عصاره‌های حاصل با دو روش دیسک کاغذی و رقت‌های مکرر (serial dilution) بر روی میکروارگانیسم‌های استافیلوکک طلایی، کلبسیلا پنومونیه، اشریشیاکولی، استرپتوکک سانگوئیس، پسودوموناآئروژنوس، آسپرژیلوس نایجر، کاندیدا آلبیکانس و مقایسه با جنتامایسین و آمیکاسین و آمفوتریسین B و تعیین MIC (حداقل غلظت مهاری) انجام گرفت.

یافته‌ها: مقایسه اثر مهارکنندگی رشد عصاره متانولی سه گونه استخیس، نشان داد که بر روی باکتری‌های گرم مثبت اثر بهتری نسبت به گرم منفی‌ها دارد؛ به صورتی‌که استخیس بیزانتینا *(S.byzanthina)* و استخیس لاوان دولی‌فولیا *(S.lavandulifolia)* بر میکروارگانیسم استرپتوکک سانگوئیس، استخیس لاکسا *(S.laxa)* بر روی استافیلوکک طلایی و استخیس اینفلاتا *(S.inflata)* بر هر دو باکتری گرم مثبت موردنظر، موثرتر عمل کردند. سه گونه استخیس در هیچ غلظتی بر قارچ‌های مورد بررسی موثر نبودند. مقایسه اثر مهار کنندگی رشد سه گونه فلومیس موید این مطلب بود که عصاره متانولی گیاه فلومیس بروگی‌یری *(P.bruguieri)* اثر بهتری بر استافیلوکک طلایی و استرپتوکک سانگوئیس نشان می‌دهد، در حالی‌که فلومیس هربا- ونتی *(P.herba-venti)* بر کلبسیلا پنومونیه و استرپتوکک سانگوئیس و فلومیس الیوی‌یری *(P.olivieri)* اثر بیش‌تری بر کلبسیلا پنومونیه دارند، سه گونه فلومیس در هیچ غلظتی بر قارچ‌های مورد بررسی موثر نبودند. مقایسه اثر ضدباکتری عصاره‌های هفت گیاه مورد مطالعه نشان می‌دهد که همگی تا حدی اثر مهارکنندگی رشد را بر استرپتوکک سانگوئیس نشان می‌دهند.

استنتاج: با توجه به نتایج حاصل،گیاهان مذکور تاحدی دارای اثرات ضدباکتری بوده ولی فاقد اثر ضدقارچ می‌باشند.

واژه های کلیدی : اثر ضد میکروبی، Phlomis ، Stachys

این تحقیق طی شماره ۴۰- ۸۲ در شورای پژوهشی دانشگاه ثبت شده و با حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی مازندران انجام شده است.

* متخصص شیمی دارویی، عضو هیأت علمی (دانشیار) دانشگاه علوم پزشکی مازندران + **مولف مسئول** : ساری- کیلومتر ۱۸ جاده خزر آباد، دانشکده داروسازی
E-mail : Semnani_k@yahoo.com

** متخصص داروسازی صنعتی، عضو هیأت علمی (دانشیار) دانشگاه علوم پزشکی مازندران

*** کارشناس ارشد علوم آزمایشگاهی، عضو هیأت علمی (مربی) دانشگاه علوم پزشکی مازندران **** دکتر داروساز، رزیدنت دانشگاه علوم پزشکی تهران

تاریخ دریافت : ۸۴/۱۲/۳ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۸۵/۱۲/۲۴ تاریخ تصویب: ۸۶/۱/۲۲

www.SID.ir

مقدمه

بی‌شک توسل به گیاهان دارویی، کهن‌ترین رهیافت بشر برای درمان بیماری‌ها بوده است و در خلال توسعه تمامی تمدن‌های بشری همواره ارتباطی تنگاتنگ و نزدیک میان آدمی و گیاه وجود داشته است. با این حال هنوز بیش‌تر گونه‌های گیاهی بررسی نشده و ناشناخته مانده‌اند و هنوز زمان زیادی مانده است تا منابع جدید و با ارزش گیاهی کشف شوند. به این ترتیب گیاهان را می‌توان به عنوان منبعی از مواد شیمیایی بالقوه مفید دانست که تنها بخشی از آن مورد بهره برداری قرار گرفته است. این مواد شیمیایی بالقوه مفید را می‌توان نه تنها به عنوان دارو بلکه به عنوان الگویی بی‌نظیر به صورت نقطه شروعی برای ساخت آنالوگ‌های دارویی به‌کار برد و همچنین به عنوان ابزاری جالب به منظور فهم و درک بیش‌تر و بهتر پدیده‌های زیست شناختی به کمک گرفت. با توجه به مقاومت دارویی و عوارض جانبی داروهای آنتی‌باکتریال شیمیایی رویکرد تحقیقات علمی به منابع طبیعی در چند دهه اخیر بسیار فراوان می‌باشد؛ از جمله در تحقیقات متعددی اثرات ضد میکروبی گیاهان مختلف خانواده نعناع به اثبات رسیده است که برخی از آنها به‌علت وجود ترپنوئیدها می‌باشد. مطالعات انجام شده برروی گونه‌های مختلف جنس استخیس (Stachys) حاکی از اثرات آنتی باکتریال آن‌ها می‌باشد(۳-۱). مطالعات انجام شده به شکل مشابهی بیانگر این اثرات در برخی از گونه‌های جنس فلومیس (Phlomis) بود(۸-۴). ترپنوئیدهای موجود در اسانس تعدادی از گیاهان جنس استخیس (Stachys) و فلومیس (Phlomis) رویش یافته در ایران قبلا" شناسایی شده است(۱۱-۹) که خود می‌تواند اثرات ضد میکروبی احتمالی گیاهان مورد استفاده در این دو جنس را توجیه نماید.

در مطالعه‌ای که در سال ۱۹۹۹ در یونان بر روی اثرات ضد باکتری اسانس گیاهان استخیس کادینا *(S.cadina)* و استخیس کریسانتا *(S.chrysantha)* صورت پذیرفت، نشان داده شد که این اسانس‌ها اثرات ضد باکتری مناسبی بر روی باکتری‌های گرم مثبت استافیلوکک طلایی و استرپتوکک اپیدرمیس و گرم منفی اشریشیاکلی، کلبسیلاپنومونیه و پسودومونا آئروژینوزا از خود نشان می‌دهند(۱). در مطالعه دیگری در یونان اثرات ضد باکتری مناسبی از اسانس ۸ گونه گیاه جنس استخیس [یوبویی کا (euboica) ، اسپینولوزا (spinulosa)، رکتا (recta)، جرمانیکا (germanica)، کرتیکا (cretica)، اسکاردیکا (scardica)، آلوپکوروس (alopecuros)، منتی‌فولیا (menthifolia)] مشاهده شد، اثرات ضد قارچی این اسانس‌ها به مراتب کمتر از اثرات ضد باکتری آنها بود(۲). در سال ۲۰۰۱ نیز مطالعه‌ای بر روی اثرات ضد باکتری گیاهان استخیس پومیلیا *(S.pumilia)* و استاچیس آنووا *(S.annua)* رویش یافته در ترکیه صورت پذیرفته است(۳).

در سال۲۰۰۰ میلادی گزارشی از اثرات ضد میکروبی مناسب عصاره اتانولی و اسانس گیاه فلومیس فروتی کوزا *(P.fruticosa)* به چاپ رسیده است(۴). همچنین در همین سال اثرات ضد باکتری و قارچ مناسب گیاه فلومیس لاناتا *(P.lanata)* از یونان گزارش گردیده است(۵). در سال ۲۰۰۱ نیز مطالعه‌ای برروی یک فنیل اتانوئید جدا شده از قسمت‌های هوایی گیاه فلومیس سامیا *(P.samia)* انجام گرفت و نشان داده شد که دارای اثرات مناسب ضد میکروبی بر روی باکتری‌های گرم مثبت و منفی می‌باشد(۶). در تحقیقات دیگری نیز اثرات ضد میکروبی عصاره متانولی گیاه فلومیس براکی دون *(P.brachydon)* بر روی سوش‌های

Archive of SID

www.SID.ir

مقاوم پسودوموناآئروژنوس(۷) و استافیلوکک طلایی (۸) نشان داده شد.

با توجه به اثرات ضد میکروبی مناسب گونه‌هایی از دو جنس استخیس و فلومیس (۸-۱) در این مطالعه برخی از گیاهان رویش یافته در استان مازندران(۱۲) که تا به حال هیچ‌گونه مطالعه ضد میکروبی بر روی آن‌ها صورت نپذیرفته است، انتخاب شده و مورد بررسی قرار گرفتند.

مواد و روش ها

پس از جمع‌آوری گیاهان استخیس (لاوان دولی فولیا، لاکسا، اینفلاتا، بی زانتینا) (شماره هرباریومی به ترتیب عبارتند از: ۱۵۲،۱۵۱ ،۱۵۴و ۱۵۵) و فلومیس (هربا- ونتی، بروگی‌یری، الیوی‌یری) (شماره هرباریومی به ترتیب عبارتند از: ۱۱۵، ۱۱۸و ۱۱۹)، تأیید نام علمی در مرکز تحقیقات منابع طبیعی استان مازندران و گروه فارماکوگنوزی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام گرفت. خشک نمودن نمونه‌ها در سایه صورت پذیرفت. عصاره‌گیری به روش خیساندن توسط حلال متانول، سپس تغلیظ عصاره‌ها و خشک نمودن آن‌ها انجام شد. بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره‌های حاصل با دو روش دیسک کاغذی و رقت‌های مکرر (serial dilution) بر روی میکرو ارگانیسم‌های استافیلوکوک طلایی، استرپتوکوک سانگوئیس، اشریشیا کلی، کلبسیلا پنومونیا، پسودوموناآئروژینوزا، کاندیدا آلبیکنس، آسپرژیلوس نایجر، (تهیه شده از مرکز پژوهش‌های علمی صنعتی ایران) و مقایسه با جنتامایسین و آمیکاسین و آمفوتریسین و تعیین MIC (حداقل غلظت مهاری) انجام گرفت(۱۴،۱۳). در روش دیسک کاغذی، میزان هاله عدم رشد از طریق اندازه‌گیری قطر هاله مطالعه شد و بر این اساس در مقایسه با شاهد منفی(حلال)، MIC تعیین می‌گردد، در این روش از غلظت‌های ۱۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و ۱میلی‌گرم بر میلی‌لیتر استفاده شد. بدین منظور محلول مناسب تهیه و پس از قرار دادن حجم مشخصی از آن بر روی هر دیسک، در کنار شعله دیسک‌ها خشک گردید. پس از تهیه محیط‌های کشت آغشته به میکروارگانیسم مربوطه، دیسک‌ها در جای مشخص شده قرار گرفت و تاثیر آن بر رشد میکرو ارگانیسم بررسی و قطر هاله عدم رشد، تعیین گردید. در روش رقت‌های مکرر نیز رشد یا عدم رشد میکرو ارگانیسم در محیط مایع جهت تعیین MIC به کار رفت، در این روش از غلظت‌های ۱۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و ۱، ۱۰، ۲۵ و ۴۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر استفاده شد. از جنتامایسین و آمیکاسین و آمفوتریسین B به‌عنوان شاهد مثبت استفاده گردید.

یافته ها

نتایج حاصل از اثر مهار رشد عصاره متانولی گیاهان استخیس (لاکسا، اینفلاتا، بی زانتینا، لاوان دولی فولیا) و فلومیس (الیوی‌یری، هربا- ونتی، بروگی‌یری) بر باکتری‌ها و قارچ‌های مورد مطالعه در جداول شماره ۱ تا ۳ مشاهده می‌گردد.

همان‌گونه که درجدول شماره ۱ مشاهده می‌گردد، در هر چهار گونه از جنس استخیس (Stachys) مورد مطالعه هیچ اثری بر روی مهار رشد دو قارچ مورد مطالعه مشاهده نگردید. در خصوص عصاره گیاه استخیس بیزانتینا*(S.byzantina)* بیشترین عملکرد مهاری بر روی باکتری استرپتوکوک سانگوئیس و کم‌ترین اثر بر روی پسودوموناآئروژینوزا دیده شد. این عملکرد مهار رشد بر روی میکروارگانیسم‌های استافیلوکوک طلایی، استرپتوکوک سانگوئیس، اشریشیا کلی، پسودوموناائروژنوس و کلبسیلا پنومونیه؛ نسبت به جنتامایسین به ترتیب حدودا : ۱/۷۸ ، ۳/۱۲ ، ۱/۲،۶۴/۲۹

Archive of SID

www.SID.ir

و۲/۶۱ درصد و نسبت به آمیکاسین حدودا : ۰/۲۶ ، ۰/۲۵ ، ۰/۲۱ ، ۰/۱۴ و ۰/۲۸ درصد می باشد.

درخصوص عصاره‌گیاه استخیس اینفلاتا *(S.inflata)* بیش‌ترین عملکرد مهاری بر روی باکتری پسودومونا آئروژینوزا و کم‌ترین اثر بر روی اشریشیا کلی دیده شد. این عملکرد مهار رشد بر روی میکروارگانیسم‌های استافیلوکوک طلایی،استرپتوکوک سانگوئیس، اشریشیا کلی، پسودومونا آئروژینوزا و کلبسیلا پنومونیه؛ نسبت به جنتامایسین به ترتیب حدودا: ۱/۵۹، ۲/۵۶، ۲/۲۵، ۲/۰۵ و ۲/۰۹ درصد و نسبت به آمیکاسین حدودا ۰/۲۴، ۰/۲۱، ۰/۱۵، ۰/۲۷ و ۰/۲۲ درصد می‌باشد.

جدول شماره ۱: نتایج حاصل از اثر مهار رشد عصاره متانولی گونه های مختلف استخیس (Stachys) بر میکروارگانیسمهای مورد مطالعه

نمونه	غلظت	قطر هاله عدم رشد (میلی متر)						
	(µg/ml)	باکتری					قارچ	
		S.aureus (G +)	*S.sanguis* (G +)	*E.coli* (G -)	*P.aeroginosa* (G -)	*K.pneumoniae* (G -)	*C.albicans*	*A.niger*
S. byzantina	۱۰	–	–	–	–	–	–	–
	۵۰	–	۸/۷±۰/۲	–	–	–	–	–
	۱۰۰	۸/۴ ±۰/۲	۱۰/±۰/۱۴	۸/۵±۰/۲	–	–	–	–
	۲۵۰	۹/۶±۰/۵	۱۱/۷±۰/۵	۹/۵±۰/۵	–	۸/۸±۰/۳	–	–
	۵۰۰	۱۰/۹±۰/۳	۱۲/۷±۰/۵	۱۱/۱±۰/۳	–	۱۰/۱±۰/۲	–	–
	۷۵۰	۱۲/۲±۰/۵	۱۳/۸±۰/۵	۱۳/۳±۰/۵	۸/۸±۰/۳	۱۱/۳±۰/۵	–	–
	۱۰۰۰	۱۳/۴±۰/۴	۱۵/۰±۰/۷	۱۴/۵±۰/۵	۱۰/۲±۰/۷	۱۳/۴±۰/۵	–	–
S. inflata	۱۰	–	–	–	–	–	–	–
	۵۰	–	–	–	–	–	–	–
	۱۰۰	–	–	–	–	–	–	–
	۲۵۰	۸/۳±۰/۲	۸/۶±۰/۴	–	۹/۰	۸/۷±۰/۲	–	–
	۵۰۰	۹/۴±۰/۴	۹/۸±۰/۳	۸/۸±۰/۲	۱۰/۲	۹/۵±۰/۳	–	–
	۷۵۰	۱۰/۸±۰/۲	۱۱/۲±۰/۳	۹/۶±۰/۳	۱۱/۳	۱۰/۷±۰/۳	–	–
	۱۰۰۰	۱۱/۹±۰/۵	۱۲/۴±۰/۳	۱۰/۷±۰/۳	۱۲/۷	۱۱/۷±۰/۳	–	–
S.lavandulifolia	۱۰	–	–	–	–	–	–	–
	۵۰	–	۸/۶±۰/۲	–	–	–	–	–
	۱۰۰	–	۹/۵±۰/۴	–	–	۸/۵±۰/۲	–	–
	۲۵۰	–	۱۰/۹±۰/۲	۸/۵±۰/۲	۸/۶±۰/۲	۹/۳±۰/۴	–	–
	۵۰۰	۸/۶±۰/۲	۱۱/۷±۰/۴	۹/۵±۰/۴	۹/۷±۰/۳	۱۰/۹±۰/۴	–	–
	۷۵۰	۹/۵±۰/۴	۱۳/۵±۰/۴	۱۰/۶±۰/۳	۱۰/۹±۰/۳	۱۱/۸±۰/۲	–	–
	۱۰۰۰	۱۱/۶±۰/۴	۱۵/۳±۰/۵	۱۲/۱±۰/۴	۱۲/۴±۰/۴	۱۲/۹±۰/۴	–	–
S. laxa	۱۰	–	–	–	–	–		–
	۵۰	–	–	–	–	–	–	–
	۱۰۰	۸/۶±۰/۳	–	–	–	–	–	–
	۲۵۰	۱۰/۰±۰/۳	۸/۶±۰/۲	–	۸/۵±۰/۲	–	–	–
	۵۰۰	۱۱/۵±۰/۴	۱۰/۰±۰/۳	–	۹/۸±۰/۳	۸/۵±۰/۳	–	–
	۷۵۰	۱۳/۲±۰/۵	۱۱/۳±۰/۵	–	۱۱/۶±۰/۴	۱۰/۱±۰/۲	–	–
	۱۰۰۰	۱۴/۲±۰/۵	۱۳/۴±۰/۶	–	۱۲/۶±۰/۴	۱۲/۲±۰/۶	–	–
Gentamycin	۵۰	۳۷/۳±۱/۲	۲۴/۰±۰/۱	۳۱/۶±۱/۲	۳۱/۰±۰/۳	۲۸/۰±۰/۱	–	–
Amikacin	۳	۱۶/۷±۰/۴	۱۹/۹±۰/۳	۲۳/۸±۰/۹	۱۵/۸±۰/۳	۱۸/۰±۰/۱	–	–
Amphotericin B	۱۰۰	–	–	–	–	–	۲۲/۳±۱/۳	۲۲/۷±۰/۲

Archive of SID

www.SID.ir

جدول شماره ۲: نتایج حاصل از اثر مهار رشد عصاره متانولی گونه های مختلف فلومیس (Phlomis) بر میکروارگانیسم های مورد مطالعه

نمونه	غلظت (µg/ml)	قطر هاله عدم رشد (میلی متر)						
		باکتری					قارچ	
		S. aureus (G +)	*S. sanguis* (G +)	*E. coli* (G -)	*P. aeroginosa* (G -)	*K.pneumoniae* (G -)	*C. albicans*	*A. niger*
P. bruguieri	۱۰	۱۰/۱±۰/۵	۱۳/۸±۰/۴	–	–	–	–	
	۵۰	۱۱/±۰/۲۳	۱۴/۲±۰/۶	–	–	–	–	–
	۱۰۰	۱۲/۱±۰/۴	۱۵/۰±۰/۳	–	–	۹/۸±۰/۴	–	–
	۲۵۰	۱۳/۴±۰/۴	۱۶/۰±۰/۲	–	–	۱۲/۲±۰/۴	–	–
	۵۰۰	۱۴/۸±۰/۵	۱۶/۸±۰/۳	۹/۲±۰/۲	۹/۹±۰/۴	۱۳/۱±۰/۴	–	–
	۷۵۰	۱۵/۶±۰/۴	۱۷/۷±۰/۳	۹/۹±۰/۲	۱۰/۹±۰/۴	۱۳/۹±۰/۲	–	–
	۱۰۰۰	۱۶/۷±۰/۴	۱۸/۶±۰/۳	۱۱/۱±۰/۳	۱۲/۳±۰/۴	۱۴/۶±۰/۳	–	–
P. herba-venti	۱۰	–	–	–	–	–	–	–
	۵۰	–	–	–	–	۸/۷±۰/۴	–	–
	۱۰۰	–	۸/۳±۰/۱	–	–	۱۰/۵±۰/۷	–	–
	۲۵۰	۸/۷±۰/۴	۹/۳±۰/۳	۸/۴±۰/۲	–	۱۱/۸±۰/۲	–	–
	۵۰۰	۹/۹±۰/۳	۱۰/۶±۰/۴	۹/۲±۰/۳	۸/۵±۰/۲	۱۳/۲±۰/۴	–	–
	۷۵۰	۱۱/۱±۰/۳	۱۱/۸±۰/۳	۱۰/۲±۰/۲	۹/۳±۰/۳	۱۳/۹±۰/۲	–	–
	۱۰۰۰	۱۲/۲±۰/۳	۱۳/۳±۰/۳	۱۱/۲±۰/۲	۱۰/۹±۰/۱	۱۴/۶±۰/۳	–	–
P. olivieri	۱۰	–	–	–	–	۸/۹±۰/۲	–	–
	۵۰	–	–	–	–	۹/۸±۰/۳	–	–
	۱۰۰	–	–	–	–	۱۰/۹±۰/۶	–	–
	۲۵۰	۸/۹±۰/۲	–	۹/۰±۰/۲	–	۱۲/۳±۰/۴	–	–
	۵۰۰	۱۰/۳±۰/۳	۸/۹±۰/۳	۱۰/۴±۰/۳	۸/۹±۰/۳	۱۳/۳±۰/۴	–	–
	۷۵۰	۱۱/۵±۰/۳	۱۰/۶±۰/۶	۱۱/۵±۰/۴	۹/۸±۰/۳	۱۴/۳±۰/۴	–	–
	۱۰۰۰	۱۳/۱±۰/۲	۱۲/۰±۰/۵	۱۳/۶±۰/۵	۱۱/۵±۰/۴	۱۵/۹±۰/۳	–	–
Gentamycin	۵۰	۳۷/۳±۱/۲	۲۴/۰±۰/۱	۳۱/۶±۱/۲	۳۱/۰±۰/۳	۲۸/۰±۰/۱	–	–
Amikacin	۳	۱۶/۷±۰/۴	۱۹/۹±۰/۳	۲۳/۸±۰/۹	۱۵/۸±۰/۳	۱۸/۰±۰/۱	–	–
Amphotericin B	۱۰۰	–	–	–	–	–	۲۲/۳±۱/۳	۲۲/۷±۰/۲

جدول شماره ۳: نتایج حاصل از تعیین MIC به روش رقت های مکرر (بر حسب میکروگرم بر میلی لیتر)

میکروارگانیسم	*Stachys byzantina*	*Stachys inflata*	*Stachys laxa*	*Stachys lavandulifolia*	*Phlomis herba-venti*	*Phlomis bruguieri*	*Phlomis olivieri*
Staphylococcus aureus	۱۰	۱۰	۱۰	۴۰	۱۰	۱۰	۲۵
Streptococcus sanguis	۱۰	۱۰	۲۵	۱۰	۲۵	۱	۱۰
Escherichia coli	۲۵	۴۰	–	۲۵	۲۵	۲۵	۱۰
Pseudomonas aeroginosa	۴۰	۴۰	۴۰	۲۵	۲۵	۲۵	۱۰
Klebsiella pneumoniae	۴۰	۴۰	۴۰	۲۵	۴۰	۲۵	۲۵
Candida albicans	–	–	–	–	–	–	–
Aspergilus niger	–	–	–	–	–	–	–

درخصوص عصاره گیاه استخیس لاوان دولی‌فولیا *(S.lavandulifolia)* بیش‌ترین عملکرد مهاری بر روی باکتری استرپتوکوک سانگوییس و کم‌ترین اثر بر روی استافیلوکوک طلایی دیده شد. این عملکرد مهار رشد

Archive of SID

www.SID.ir

بر روی میکروارگانیسم‌های استافیلوکوک طلایی، استرپتوکوک سانگوئیس، اشریشیا کلی، پسودومونا آئروژینوزا و کلبسیلا پنومونیه؛ نسبت به جنتامایسین به ترتیب حدودا: ۱/۵۵، ۳/۱۹، ۱/۹۱، ۱/۹۸، ۲/۳ درصد و نسبت به آمیکاسین حدودا: ۰/۲۴، ۰/۲۶،۰/۱۷، ۰/۲۶ و ۰/۲۴ درصد می‌باشد.

در خصوص عصاره گیاه استخیس لاکسا *(S.laxa)* بیش‌ترین عملکرد مهاری بر روی باکتری استافیلوکوک طلایی و کم‌ترین اثر بر روی اشریشیا کلی دیده شد. این عملکرد مهار رشد بر روی میکروارگانیسم‌های استافیلوکوک طلایی، استرپتوکوک سانگوئیس، اشریشیاکلی، پسودومونا آئروژینوزا و کلبسیلا پنومونیه؛ نسبت به جنتامایسین به ترتیب حدودا: ۱/۹۰، ۲/۷۷، ۰، ۲/۰۳و ۲/۱۸ درصد و نسبت به آمیکاسین حدودا: ۰/۲۹، ۰/۲۳ ، ۰ ، ۰/۲۷ و ۰/۲۳ درصد می‌باشد.

درخصوص عصاره گیاه فلومیس بروگی یری (P.bruguieri) بیش‌ترین عملکرد مهاری بر روی باکتری استرپتوکوک سانگوئیس و کم‌ترین اثر بر روی اشریشیا کلی دیده شد. این عملکرد مهار رشد بر روی میکروارگانیسم‌های استافیلوکوک طلایی، استرپتوکوک سانگوئیس، اشریشیا کلی، پسودومونا آئروژینوزا و کلبسیلا پنومونیه؛ نسبت به جنتامایسین به ترتیب حدودا: ۲/۲۴، ۳/۸۷، ۱/۷۶، ۱/۹۸ و ۲/۶۱ درصد و نسبت به آمیکاسین حدودا: ۰/۳۴، ۰/۳۲، ۰/۱۶، ۰/۲۶ و ۰/۲۷ درصد می‌باشد.

در خصوص عصاره گیاه فلومیس هربا- ونتی *(P.herba-venti)* بیش‌ترین عملکرد مهاری بر روی باکتری کلبسیلا پنومونیه و کم ترین اثر بر روی پسودومونا آئروژینوزا دیده شد. این عملکرد مهار رشد بر روی میکروارگانیسم‌های استافیلوکوک طلایی، استرپتوکوک سانگوئیس، اشریشیا کلی، پسودومونا آئروژینوزا و کلبسیلا پنومونیه؛ نسبت به جنتامایسین به ترتیب حدودا: ۱/۶۳، ۲/۷۷، ۱/۷۷، ۱/۷۶ و ۲/۶۱ درصد و نسبت به آمیکاسین حدودا: ۰/۲۵، ۰/۲۳، ۰/۱۶، ۰/۲۳ و ۰/۲۷ درصد می‌باشد.

در خصوص عصاره گیاه فلومیس الیوی یری *(P.olivieri)* بیش‌ترین عملکرد مهاری بر روی باکتری کلبسیلا پنومونیه و کم‌ترین اثر بر روی پسودومونا آئروژینوزا دیده شد. این عملکرد مهار رشد بر روی میکروارگانیسم‌های استافیلوکوک طلایی،استرپتوکوک سانگوئیس، اشریشیا کلی، پسودومونا آئروژینوزا و کلبسیلا پنومونیه؛ نسبت به جنتامایسین به ترتیب حدودا: ۱/۷۶، ۲/۵، ۲/۱۵، ۱/۸۵ و ۲/۸۴ درصد و نسبت به آمیکاسین حدودا: ۰/۲۷، ۰/۲۰، ۰/۱۹، ۰/۲۵ و ۰/۳۰ درصد می‌باشد.

بحث

در این تحقیق اثرات ضدمیکروبی عصاره متانولی گیاهان دو جنس استخیس (Stachys) و فلومیس (Phlomis) از خانواده نعناع که از مناطق مختلف جمع‌آوری شده بود، مورد بررسی قرار گرفت. برای استخراج عصاره گیاهان روش‌های متعددی وجود دارد که روش پرکولاسیون (percolation) و خیساندن معمول‌تر هستند. در این تحقیق متانول به عنوان حلال جهت عصاره‌گیری به روش خیساندن مورد استفاده قرار گرفت. مقایسه اثر مهارکنندگی رشد عصاره متانولی سه گونه استخیس، نشان داد که بر روی باکتری‌های گرم مثبت اثر بهتری نسبت به گرم منفی‌ها دارد؛ به صورتی که بیزانتینا و لاوان‌دولی‌فولیا بر میکروارگانیسم استرپتوکک سانگوئیس، لاکسا بر روی استافیلوکک طلایی و اینفلاتا بر هر دو باکتری گرم مثبت موردنظر، موثرتر عمل کردند. با ذکر این مطلب که در هیچ غلظتی بر قارچ‌های مورد بررسی موثر نبودند. مقایسه اثر مهار کنندگی رشد سه گونه فلومیس موید این مطلب

Archive of SID

www.SID.ir

بود که عصاره متانولی گیاه بروگی یری اثر بهتری بر استافیلوکک طلایی و استرپتوکک سانگوئیس نشان می‌دهد، در حالی‌که فلومیس هربا- ونتی بر کلبسیلا پنومونیه و استرپتوکک سانگوئیس و فلومیس الیوی یری اثر بیش‌تری بر کلبسیلا پنومونیه دارند، با ذکر این مطلب که درهیچ غلظتی بر قارچ‌های مورد بررسی موثر نبودند. مقایسه اثر ضدباکتری عصاره‌های هفت گیاه مورد مطالعه نشان می‌دهد که همگی تا حدی اثر مهارکنندگی رشد را بر استرپتوکک سانگوئیس نشان می‌دهند، در خصوص اثر بر استافیلوکک طلایی گونه‌های استخیس (بیزانتینا، لاکسا ، انفلاتا) و فلومیس بروگی‌یری اثر مهار رشد بیش‌تری نشان دادند، از نظر اثر مهار رشد بر اشریشیاکولی، عصاره متانولی گونه بیزانتینا اثر بیش‌تری نسبت به سایر گونه نشان داد در حالی‌که سایر گونه‌ها تا حدی این اثر را نشان دادند، در خصوص اثر بر کلبسیلا پنومونیه گونه‌های فلومیس بهتر عمل کردند، فلومیس الیوی یری و در رتبه بعد هرباونتی اثر مهار رشد بیش‌تری نسبت به سایر گونه‌ها بر کلبسیلا پنومونیه از خود نشان دادند. از دیدگاه اثر بر پسودوموناآئروژینوزا نیز نتایج مشابهی با اثر بر دو باکتری گرم منفی دیگر خصوصاً درگونه‌های استخیس دیده شد. از نظر اثر بر مهار رشد دوقارچ آسپرژیلوس نایجر وکاندیدا آلبیکانس عصاره متانولی گیاهان مورد بررسی بی‌اثر بودند.

بررسی انجام شده بر روی ترکیبات اسانس گیاه فلومیس هربا- ونتی نشان داد اصلی‌ترین مواد موجود در برگ (۹/۴ درصد) آلفا- پینن، (۱۲/۹ درصد) هگزادکانوئیک اسید و (۳۳/۹ درصد) ژرماکرن دی می‌باشد. اصلی‌ترین مواد شناسایی شده در اسانس گل شامل(۳۳/۱ درصد) هگزادکانوئیک اسید، (۹/۴ درصد) ارتوگزیلن (xylene)، (۱۱/۷ درصد) متاگزیلن، (۱۶/۲ درصد) ۶، ۱۰، ۱۴- تری متیل- ۲- پنتادکانون، (۶/۷ درصد) دی جرماکرن و (۶/۷ درصد) متیل تترادکان می‌باشد(۹).

بررسی انجام شده بر روی ترکیبات اسانس گیاه فلومیس بروگی یری نشان داد اصلی ترین مواد موجود (۶/۸ درصد) آلفا- پینن، (۱۵ درصد) ۴- هیدروکسی- ۴- متیل-۲- پنتانون، (۲۳/۶ درصد) دی جرماکرن، (۶/۷ درصد) بتا- کاریوفیلن می‌باشد(۱۰).

بررسی انجام شده بر روی ترکیبات اسانس گیاه استخیس- بیزانتینا نشان داد اصلی‌ترین مواد موجود (۶/۴ درصد) ان- تری کوزان، (۹/۹ درصد) ۶، ۱۰، ۱۴- تری متیل- ۲- پنتادکان و پی‌پری تنون (۶/۴ درصد) در گیاه استخیس اینفلاتا اصلی‌ترین مواد شامل (۹/۱ درصد) هگزادکانوئیک اسید، (۵/۱ درصد) بیسیکلوجرماکرن و (۵/۸ درصد)آلفا- پینن،(۸/۰ درصد) جرماکرن D، در گیاه استخیس لاوان دولی فولیا اصلی‌ترین مواد شامل (۹/۳ درصد) ۴- هیدروکسی- ۴ متیل-۲-پنتانون، (۵/۲) هگزادکانوئیک اسید و (۷/۹ درصد) آلفا- پینن و در گیاه استخیس لاکسا اصلی‌ترین موادشامل(۱۲/۳ درصد) ۷- اپی- آلفا- سلینن، (۱۷/۱ درصد) ۴- هیدروکسی-۴ متیل-۲- پنتانون، (۵/۹ درصد) دی‌ارماکرن، (۶/۲ درصد) آلفا- پینن، (۶/۷ درصد) بتا- کاریوفیلن، (۸/۳ درصد) بی‌سیکلوجرماکرن می‌باشد(۱۱).

بررسی‌های انجام شده در برزیل بیانگر اثر ضد میکروبی ترکیباتی همچون ۸ و۱- سینئول، ژرانیال، دی‌جرماکرن، لیمونن، لینالول و منتول در گونه‌های استخیس می‌باشد(۱۵).

بیشتر نتایج نشان داد اثرات ضد میکروبی عصاره‌های متانولی گیاهان مورد بررسی روی باکتری‌های گرم مثبت بیشتر از باکتری‌های گرم منفی می‌باشد و این اثرات در استخیس شاخص‌تر است. بیش‌ترین اثر ضد میکروبی عصاره‌ها مربوط به استرپتوکک سانگوئیس می‌باشد،که همه عصاره‌ها در غلظت‌هایی توانستند رشد این میکروارگانیسم را تا حدی مهار کنند. اثر ضد میکروبی گیاهان مورد بررسی در جنس فلومیس نسبت به گیاهان مورد بررسی دیگر

Archive of SID

www.SID.ir

در جنس استخیس قابل توجه می‌باشد و هیچ کدام از این تعداد گیاه موردنظر اثر مهاری بر رشد قارچ‌ها نشان ندادند. آنالیز شیمیایی عصاره گونه‌هایی از جنس استخیس و فلومیس حضور ترکیباتی با اثر ضد میکروبی شناخته شده مانند فلاونوئید گلایکوزیدها را نشان داد(۱۶).

اسکالتزا (Skaltsa) و همکارانش (۲۰۰۳) در یونان، اسانس حاصل از ۸ گونه استخیس که به صورت وحشی در یونان می‌روید، را بر روی پسودوموناآئروژینوزا، اشرشیاکولی، باسیلوس ساب‌تی‌لیس، باسیلوس سرئوس، میکروکوکوس فلاووس، استافیلوکک اپی درمیس و ۵ قارچ آسپرژیلوس نایجر، پنی سیلیوم اکروکلرون، اپی درموفیتون فلوکوزوم، کاندیدا آلبیکانس و تریکوفیتون منتاگروفیتز مورد آزمایش قرار دادند. اسانس‌های مورد آزمایش بر روی باکتری‌ها نسبت به قارچ‌ها اثرات بهتری داشتند. پسودوموناآئروژینوزا مقاوم‌ترین گونه بوده و هیچ کدام از اسانس‌ها فعالیتی بر علیه آن نشان ندادند و اسانس حاصل از استخیس‌اسکاردیکا بیش‌ترین فعالیت را علیه قارچ و باکتری (هر دو) نشان داد(۲). در طی مطالعهٔ دیگری در ترکیه که توسط دالگر (Dulger) و همکارانش (۲۰۰۵) انجام شد، عصاره متانولی حاصل از استخیس پیناردی‌یی‌بوئیس و استخیس آله ئوریتس بوئیس و هلدر بر روی باکتری‌های: اشریشاکولی، استافیلوکک طلایی، کلبسیلا پنومونیه، پسودوموناز آئروژینوزا، پروتئوس ولگاریس، باسیلوس سرئوس، مایکوباکتریوم اسمگ ماتیز، لیستریا مونوسیتوژن ها مؤثر بود(۱۷).

در مطالعه‌ای توسط آلی جیانیس (Aligiannis) (۲۰۰۴) در یونان، اسانس‌های حاصل از فلومیس فروتی کوزا، فلومیس کرتیکا و فلومیس سامیا که در یونان می‌رویند، فعالیت ضدمیکروبی قابل توجهی بر علیه ۲ باکتری گرم مثبت و ۴ باکتری گرم منفی و ۳ قارچ پاتوژن از خود نشان دادند که این اثرات را ناشی از مواد موجود در اسانس شامل: آلفا- پینن، لیمونن، بتا- کاریوفیلن، لینالول، ترانس- بتا- فارنزن، جرماکرن D ، (Z)- گاما- بیزابولن و سیس- بتا- اوسیمن که جزء ترکیبات اصلی این گیاهان بودند، می‌دانند(۱۸). ریستیک (Ristic) (۲۰۰۰) در طی آزمایش هایی مشاهده کرد اسانس و عصاره اتانولی گونه‌هایی از جنس فلومیس فعالیت ضد باکتری و ضد قارچی از خود نشان داده‌اند، اسانس این گیاهان اثر ضد باکتری بر علیه استافیلوکک طلایی، اشریشیاکولی، باسیلوس ساب تیلیس، کلبسیلا پنومونیه، میکورکوکوس لوتئوس و اثر ضد قارچی بر علیه آسپرژیلوس نایجر، آسپرژیلوس اوکراسئوس، کلادواسپوریوم کلادواسپوریوئیدها، فوساریوم تری سینکتوم و فوموپسیس هلیانت هی از خود نشان داده‌اند. عصاره اتانلی این گیاهان نیز اثر ضد باکتری علیه استافیلوکک طلایی و باسیلوس ساب تیلیس و اثر ضدقارچ بر علیه آسپرژیلوس نایجر، آسپرژیلوس اوکراسئوس، کلادوسپوریوم کلادواسپوریوئیدها، فوساریوم تری سینکتوم و فوموپسیس هلیانت هی از خود نشان دادند(۴).

بررسی و مقایسه تحقیقات ذکر شده در بالا و نتایج به دست آمده از این تحقیق، نمایانگر آن است که مشابه با تحقیقات اسکالتزا (Skaltsa) (۲۰۰۳)، گونه‌های استخیس مورد نظر در بررسی ما،بر باکتری‌ها اثر مهاری نشان دادند ولی این چنین اثری بر قارچ‌ها مشاهده نشد. همچنین پسودوموناآئروژینوزا در بین باکتری‌ها بیش‌ترین مقاومت را نشان داد. درمقایسه با تحقیق دالگر (Dulger) (۲۰۰۵)، مشابه با آن اثرات ضد میکروبی بر اشریشیاکولی، استافیلوکک طلایی، کلبسیلا پنومونیه و پسودوموناآئروژینوزا مشاهده شد(۱۷). در مورد جنس فلومیس، گونه‌های مورد بررسی در مطالعات آلی‌جیانیس (Aligiannis) (۲۰۰۴) در یونان و ریستیک (Ristic) (۲۰۰۰) در ترکیه، اثرات ضد باکتری و ضد قارچی نشان دادند(۱۹،۱۴) در حالی که گونه‌های مورد

Archive of SID

www.SID.ir

بررسی در تحقیق ما که در مازندران رویش یافته بودند، اثرات ضد باکتری خصوصاً بر کلبسیلاپنومونیه مشاهده گردید و چنین اثری را بر قارچ‌ها شاهد نبودیم.

سپاسگزاری

بدین‌وسیلـه از حمـایت مالـی حوزه معاونت محترم پژوهشی دانشگاه تشکر می‌گردد.

فهرست منابع

1. Skaltsa H, Lazari DM, Chinou IB, Loukis AE.Composition and antibacterial activity of the essential oils of Stachys candida and S. chrysantha from Southern Greece. ***Planta Med.*** 1999; 65 (3): 255-256.
2. Skaltsa HD, Demetoz C, Lazari, Sokovic M.Essential oil analysis and antimicrobial activity of eight Stachys species from Greece. ***Phytochemistry.*** 2003; 64 (3): 743-752.
3. Digrak M, Alma MH, Ilcim A. Antibacterial and antifungal activities of Turkish medicinal plants, ***Pharm. Biol.*** 2001; 39 (5):346-350.
4. Ristic MD, Duleti S, Knezevi J, Marine PD. Antimicrobial activity of essential oils and ethanol extract of Phlomis fruticosa L. (Laminaceae). ***Phytother. Res.*** 2000; 14(4): 267-271.
5. Harvala C, Couladis M, Tanimanidis A. Essential oil of Phlomis lanata growing in Greece: Chemical composition and antimicrobial activity. ***Planta Med.*** 2000; 66(7): 670-672.
6. Kyriakopolou I, Magiatis P, Skaltsounis AL, Aligiannis N. Samioside, a new phenylethanoid glycoside with free-radical scavenging and antimicrobial activities from Phlomis samia. ***J. Nat. Prod.*** 2001; 64 (8): 1095-1097.
7. Aburjai T, Darwish RM, Al-Khalil S. Screening of antibiotic resistant inhibitors from local plant materials against two different strains of Pseudomonas aeruginosa. ***J. Ethnopharmacol.*** 2001; 76 (1): 39-44.
8. Darwish RM, Aburjai T, Al-Khalil S. Screening of antibiotic resistant inhibitors from local plant materials against two different strains of Staphylococcus aureus. ***J. Ethnopharmacol.*** 2002; 79 (3): 359-364.
9. Morteza-Semnani K, Azadbakht M, Goodarzi A. The essential oils composition of Phlomis herba-venti L. leaves and flowers, ***Flavour Fragr. J.*** 2004; 19 (1): 29-31.
10. Morteza-Semnani K, Saeedi M. The essential oil composition of Phlomis bruguieri Desf. from Iran, ***Flavour Fragr. J.*** 2005; 20 (3): 344-346.

Archive of SID

www.SID.ir

11. Morteza-Semnani K, Akbarzadeh M, Changizi Sh. Essential oils composition of Stachys byzantina, S. inflata, S. lavandulifolia and S. laxa from Iran. ***Flavour Fragr. J.*** 2006; 21(2): 300-303.
12. Rechinger KH. Flora Iranica, Akademishene Drack-U Velagsan stalt, Graz. Austria, 1982, No. 150.
13. Morteza-Semnani K, Saeedi M, Mahdavi MR. Antibacterial studies on extracts of three species of Glaucium from Iran. ***Pharm. Biol.*** 2005; 43 (3): 234-236.
14. Ristic MD, Duletic- Lausevic S, Knezevic-Vukcevic J, Marin PD, Simic D, Vukojevic J. et al. Antimicrobial activity of essential oils and ethanol extract of Phlomis fruticosa L.(Lamiaceae). ***Phytother. Res.*** 2000; 14: 267-271.
15. Duarte MCT, Figueira GM, Sartoratto A, Rehder VLG, Delarmelina C. Anti-Candida activity of Brazilian medicinal plants. ***J. Ethnopharmacol.*** 2005; 97 (2): 305-311.
16. Harborn JB. Phytochemical Methods, 3rd ed, New york, Chapman & Hall, 1998; pp. 203-208.
17. Dulger B, Ugurlu E, Aki C, Suerdem TB, Camdeviren A, Tazeler G. Evaluation of Antimicrobial Activity of Some Endemic Verbascum, Sideritis, and Stachys Species from Turkey. ***Pharm. Biol.*** 2005; 43 (3): 270-274.
18. Aligiannis N, Kalpoutzakis E, Kyriakopoulou I, Mitaku S, Chinou IB. Essential oils of Phlomis species growing in Greece: chemical composition and antimicrobial activity. ***Flavour Fragr. J.*** 2004; 19 (4): 320-324.

Archive of SID

www.SID.ir