

بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره الکلی گیاه *Teucrium polium L.* روی باکتری‌های گرم مثبت و منفی

مریم تیموری^۱

تاریخ پذیرش: ۹۰/۱۱/۲۵

تاریخ دریافت: ۹۰/۷/۱۴

چکیده

با افزایش روز افزون مصرف گیاهان داروئی در درمان طبی، این شاخه از طب مکمل، جایگاه ویژه‌ای در درمان بیماری‌ها پیدا کرده است. هدف از این مطالعه بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره الکلی گیاه *Teucrium polium* روی چهار سویه مرجع از (PTCC 1454) استافیلوکوکوس اورئوس^۱، (PTCC 1447) باسیلوس سوبتیلیس^۲، (PTCC 1335) اشرشیاکولی^۳ و کلبسیلا پونومونیا^۴ می‌باشد. اندام‌های هوایی گیاهان فوق در زمان گلدھی از شهرستان ساوه واقع در استان تهران جمع آوری و عصاره گیری به روش سوکسله و حلال‌های متانول ۸۰ درصد و آب انجام شد. بررسی اثرات ضد میکروبی به روش انتشار دیسک انجام شد. غلظت‌های معینی از عصاره این گیاهدارای اثرات ضد میکروبی مؤثری روی باکتری‌ها بودند و تأثیر و عصاره‌ها با کم شدن غلظت آنها کم می‌شود عصاره گیاه *Teucrium polium* بر باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سوبتیلیس اثر داشت. هم چنین این عصاره تنها در غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر بر کلبسیلا پونومونیا مؤثر بود و بر روی باکتری اشرشیاکولی اثری نداشت. علی‌رغم تأثیر برخی از غلظت‌های عصاره‌های گیاهی بر باکتری‌ها، برای معرفی آنها به عنوان جایگزین داروهای ضد میکروبی، به بررسی‌های وسیع تری نیاز است.

کلمات کلیدی: اثرات ضد میکروبی، استافیلوکوکوس اورئوس، عصاره.

التهابی استفاده می شود. در بررسی های انجام شده بر روی گیاه کلپوره مشخص شده که این گیاه حاوی مقادیری تانن، ترپنئیدها، ساپونین، استرول، فلاونوئید، گلیکوزید، آلفا و بتا پینن و لوکوآنتوسینین است (5,7). و همچنین دارای اثرات آنتی باکتریال بوده و در برخی از نقاط ایران به صورت سنتی برای رفع درد قلب مصرف می شود. اثرات پایین آورنده کلسترول و تری گلیسرید سرم (8) و کاهنده فشار خون نیز برای این گیاه گزارش شده است (8). مصرف داروئی گیاه کلپوره از زمان های بسیار قدیم شناخته شده است. در سال های اخیر نزد اثراست ضد دیابت، ضد چربی زیاد خون، ضد میکروبی قوی و ضد التهاب آن گزارش شده است (8). و در سال های اخیر علاوه زیادی جهت بکارگیری عصاره و اسانس این گیاه برای بهبود ماندگاری مواد غذایی، تأخیر رشد قارچها و باکتری ها و جلوگیری از تولید سموم قارچی به وجود آمده است (9,10,11,12,13,14) به طوری که بعضی از گونه های این جنس بطری وسیعی در تهیه داروهای محلی در جهان به جهت دارا بودن خواص ضد اسپاسیمی، ضد التهابی، مقوی و ضد میکروبی استفاده می شوند (15,16). و مطالعات زیادی روی خاصیت ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی این جنس گزارش شده است (15,16,17,18,19,20,21,22). با توجه به دارا بودن خاصیت ضد میکروبی گیاه کلپوره در این مطالعه اثرات عصاره متابولی گیاه *Teucrium polium L.* روی برخی از باکتری های گرم مثبت و منفی بررسی شد. جمع آوری گیاه و عصاره گیری: جمع آوری گیاه در تیر ماه 1389 از شهرستان ساوه واقع در استان تهران صورت گرفت و به وسیله گیاه شناس دانشگاه شهید باهنر کرمان شناسایی و نگهداری شد. عصاره گیری از گیاه با استفاده از روش سوکسله و حلال های متانول 80 درصد و آب انجام شد. به طوری که 20g از اندام های هوایی گیاه را به وسیله آسیاب پودر کرده و به آن 400ml میلی لیتر حلال های متانول 80 درصد در داخل یک اولن اضافه کرده و در پایان حلال توسط دستگاه Rotavaopor از عصاره جدا شد عمل عصاره گیری 48h به طول انجامید.

مقدمه

اسانس ها و عصاره ها می توانند به عنوان منبع غنی جهت تهیه گیاهان دارویی و به عنوان نگهدارنده و آنتی اکسیدان در فراورده های غذایی، دارویی و محصولات آرایشی و بهداشتی مطرح باشند و به نظر می رسد که در آینده به دلیل ایمنی بالاتر، به طور کلی ترکیبات طبیعی مانند این نوع ترکیبات جایگزین سایر عوامل شیمیایی شوند (1,2). جنس *Teucrium* از خانواده نعنایان با پیش از 340 گونه در سراسر جهان انتشار وسیعی دارد. نام فارسی آن در ایران مریم نخودی و شامل 12 گونه علفی، بوته ای می باشد که سه گونه انحصاری ایران است (3). کلپوره گیاهی پایا، علفی و بر شاخه به ارتفاع 35-10 cm و دارای ظاهری سفید پنبه ای که به طور معمول در نواحی بایر، سواحل سنگلاخی و ماسه زارهای نواحی مختلف اروپا، منطقه مدیترانه، شمال آفریقا و جنوب غربی آسیا از جمله ایران می روید. در نواحی کوهستانی البرز تا ارتفاعات 1500 متری نیز دیده می شود. برگ های آن باریک، دواز بوشیده از کرک های پنبه ای در هر سطح پهنه ک است گل هایی متفاوت به رنگ های سفید، سفید مایل به زرد و یا زرد و حتی ارغوانی دارد که این حالت متغیر بوده نه تنها در رنگ گل بلکه در وضع ساقه گیاه که به صورت پر پشت و پر شاخه و یا به حالت خوابیده در می آید نیز دیده می شود. زمان گل دادن به تناسب شرایط محیط زندگی بین خرداد و مرداد است. زیور عسل به علت وجود نوش در گل های آن، به سمت گیاه جذب می شود. قسمت مورد استفاده گیاه سر شاخه های گلدار آن است (4,5) اثر مقوی و ضد تشنج داشته و مصرف آن را برای رفع بیماری های دستگاه تناسلی - ادراری و تأخیر یا عدم قاعدگی مفید می دانند (6). بیش از 2000 سال است که گونه های مختلف *Teucrium* به عنوان گیاه داروئی شناخته شده و اثرات ضد تشنج، ضد التهاب، ضد درد، تب بر، التیام دهنده گیزم در آن ها شناسایی شده است. در طب سنتی کشور مان گونه هایی نظیر *T. polium* به عنوان ضد عفونی کننده، درمان دیابت، ضد اسپاسم، تب بر و ضد

به عنوان شاهد منفی استفاده شد.

نتایج

در این مطالعه تأثیر عصاره گیاه *Teucrium polium* با غلظت‌های (mg/ml) 100, 75, 50, 25 به روش انتشار دیسک بر روی سویه‌های (PTCC 1454) استافیلوکوکوس اورئوس، (PTCC 1447) باسیلوس سوبتیلیس، (PTCC 1335) اشرشیاکولی و کلبسیلا پونومونیا بررسی شد. نتایج نشان داد که گیاه فوق‌دارای اثرات ضد میکروبی می‌باشد به طوری که همراه با افزایش غلظت عصاره قطر هاله عدم رشد اطراف میکروارگانیسم‌ها نیز افزایش می‌یابد. میانگین قطر هاله‌های عدم رشد سویه‌های مورد مطالعه در برابر غلظت‌های مختلف عصاره متنالوی گیاه *Teucrium polium* و قطر هاله عدم رشد سویه‌های فوق در برابر آنتی‌بیوتیک‌های به کار گرفته شده در این مطالعه جهت مقایسه در جدول 1 آورده شده است. در بین باکتری‌های مورد آزمایش عصاره گیاه *Teucrium polium* بر باکتری‌های، باسیلوس سوبتیلیس اثر داشت. هم چنین این عصاره تنها در غلظت 100mg/ml بر کلبسیلا پونومونیا مؤثر بود و بر روی باکتری اشرشیاکولی اثری نداشت (جدول 1).

مواد و روش کار

به منظور بررسی اثرات ضد میکروبی، 4 غلظت 100, 75, 50, 25 از عصاره گیاه *Teucrium polium* تهیه شد. بدین منظور مقدار مناسبی از عصاره خشک گیاه را پس از توزیع دقیق با ترازوی دیجیتال در حلال دی متیل سولفوکسامید¹ (DMSO) حل کرده و سپس از آن جهت بررسی اثرات ضد میکروبی گیاه استفاده شد(17). میکرو ارگانیسم‌های مورد مطالعه شامل: (PTCC1454) استافیلوکوکوس اورئوس، (PTCC1335) باسیلوس سوبتیلیس (PTCC1447) اشرشیاکولی و کلبسیلا پونومونیا استفاده شد.

میکرو ارگانیسم‌های مورد نظر از آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشکده‌داروسازی دانشگاه تهران تهیه شدند. جهت بررسی اثرات ضد میکروبی از روش دیسک دیفیوژن Kirby-Bauer antibiotic testing (KB testing or disk diffusion antibiotic sensitivity testing) شد(18، 9). باکتری‌های مورد آزمایش را در محیط کشت جامد تریپتیکس سوی آگار به مدت 24h کشت داده، سپس به وسیله لوب از کلنی هر کدام از باکتری‌ها برداشته و در یک لوله آزمایش استریل حاوی 5 ml سرم فیزیولوژی استریل کاملاً مخلوط کرده به طوری که سوسپانسیون کاملاً یکنونخنی از باکتری مورد آزمایش به دست آید. این لوله به مدت 30 min در دمای 37°C درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری شد تا کدورتی مشابه لوله استاندارد 0/5 مک فارلند ایجاد نماید. توسط سوآپ استریل از لوله حاوی سوسپانسیون باکتری مقداری برداشته و روی پلیت حاوی محیط کشت مولر هیبتون آگار کشت داده و دیسک‌های حاوی غلظت‌های متفاوت عصاره را با فواصل مناسب روی پلیت‌ها قرار داده شد. سپس پلیت‌های دیسک گذاری شده به مدت 24h در دمای 37°C درجه سانتی گراد در گرمخانه قرار داده شدندتا میکروارگانیسم‌ها رشد کنند. و در نهایت قطر هاله‌های عدم رشد ایجاد شده در اطراف دیسک‌ها با خط کش اندازه گیری شد. در این آزمایش از دیسک آنتی‌بیوتیک جنتامایسین و کلارامفنیکل به عنوان شاهد مثبت و دیسک حاوی دی متیل سولفوکسامید¹ (DMSO)

جدول شماره 1- میانگین قطر هاله عدم رشد سویه‌های باکتریایی مورد مطالعه در برابر عصاره مтанولی گیاه *Teucrium polium* بر حسب میلی متر

باکتری	غلظت عصاره (mg/ml)					شاهد (-)	DMSO	جنتامایسین	کلرامفینیکل
	25	50	75	100					
استافیلوکوکوس اورئوس	10	18	22	24	-	27	28		
باسیلوس سوبتیلیس	8	10	16	18	-	28	29		
کلیپسیلا پنومونیا	-	-	-	11	-	22	20		
اشریشیاکلی	-	-	-	-	-	23	24		

:- بی اثر

: DMSO دی متیل سولفو کسامید

بحث و نتیجه گیری

منفی (12). محققان دیگری روی اثر ضد باکتریایی گیاه *Teucrium polium* مطالعاتی انجام داده و آزمایش‌های به منظور بررسی اثر ضد میکروبی اسانس و عصاره گیاه فوق روی چند میکرووارگانیسم انجام شد و به ماهیت ضد میکروبی گیاه پی بردن. Šamec و همکاران در سال 2010 نشان دادند که اسانس گیاه *Teucrium arduini* روی باکتری‌های گرم مثبت مثل استافیلوکوکوس اورئوس بیشترین تأثیر مهار کنندگی داشته در صورتی که دارای هیچ گونه اثر بازدارنده‌گی روی باکتری‌های گرم منفی نظری *Ecoli* نمی‌باشد (5). این نتیجه با نتایج حاصل از این تحقیق مطابقت دارد، به طوری که عصاره گیاه *Teucrium polium* از میان باکتری‌های مورد آزمایش در این مطالعه روی باکتری‌های گرم مثبت نظری استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سوبتیلیس اثرقابل ملاحظه‌ای داشته و روی اشریشیاکلی (گرم منفی) اثری نداشت. از آنجایی که مطالعات اخیر نشان داده اثر ضد باکتریایی بعضی از داروهای گیاهی در حد و یا بیشتر از داروهای شیمیایی می‌باشد (18)، امید است در آینده تحقیقات بیشتری در زمینه اثر ضد میکروبی این گیاه بر گونه‌های مختلف میکروبی انجام گیرد تا با یافتن مواد مؤثره گیاه *Teucrium polium* و فرمولاسیون آن تهیه

در سال‌های اخیر پژوهش‌های زیادی در زمینه اثرات ضد باکتریایی گیاهان مختلف انجام گرفته است و مشخص شده که برخی از گیاهان دارای اثراتی مشابه داروهای شیمیایی یا حتی بیشتر از آنها می‌باشند (13). نتایج حاصل از بررسی عصاره الکلی این گیاه حاکی از این است که عصاره الکلی گیاه مذکور روی اشریشیاکلی اثر قابل ملاحظه‌ای ندارد. در حالی که اثر این عصاره بر روی باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سوبتیلیس قابل ملاحظه می‌باشد و با افزایش غلظت عصاره اثر ضد باکتریایی آن افزایش می‌یابد. هم چنین این عصاره تنها در غلظت 100 mg/ml بر کلیپسیلا پنومونیا مؤثر بود. *Hayouni* و همکارانش در سال 2007 بیان کردند که باکتریهای گرم مثبت مثل استافیلوکوکوس اورئوس با سهولت بیشتری نسبت به باکتری‌های گرم منفی مثل *Ecoli* مهار می‌شوند. این امر ممکن است به لیپو پلی ساکاریدها در غشاء بیرونی باکتری‌های گرم منفی نسبت داده شود. که آنرا به عوامل خارجی مانند آنتی‌بیوتیک‌ها و شوینده‌ها مقاوم می‌سازد (11). همچنین *Basri* و همکارانش در سال 2005 بیان نمودند که عصاره‌های گیاهی معمولاً بیشتر در برابر باکتریهای گرم مثبت فعال هستند تا باکتری‌های گرم

و عوارض جانبی داروهای شیمیایی پیشنهاد می‌شود که از داروهای گیاهی به عنوان یک جایگزین مناسب برای داروهای شیمیایی استفاده کرد.

اشکال دارویی مختلف از آن امکان پذیر و اقدامات ارزنده‌ای در جهت بهبود بیماری‌های عفونی ناشی از گونه‌های متفاوت میکروبی انجام گیرد. در مطالعه‌ای توسط Darabpour و همکاران در سال 2005 اثر ضد باکتریایی عصاره‌های آلی (اتانولی و متانولی) گیاه بررسی و مشخص شد که عصاره اتانولی گیاه فوق روی Teucrium polium روی تعدادی از عوامل بیماری زا بررسی و مشخص شد که عصاره اتانولی گیاه فوق روی باکتری باسیلوس آتراسیس‌دارای بیشترین اثر مهارکنندگی و بر روی اشریشیاکلی و پروتئوس میرا بیلیس دارای اثر بازدارنده‌گی رشد نمی‌باشد در حالی که عصاره متانولی این گیاه بر روی Bordetella bronchiseptica بیشترین اثر مهارکنندگی و پروتئوس میرا بیلیس و باکتریوم پیوژنزمقاوم ترین گونه‌های باکتریایی در مقابل این عصاره می‌باشد(14). Asem و Karaman با مطالعه روی خواص ضد میکروبی گیاه *T. leucocladum* نشان دادند که انسان این گیاه‌دارای تأثیر ضد میکروبی مؤثری روی باکتری‌های گرم مثبت نظری استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سوبتیلیس و قارچ کاندیدا آلبیکنتر داشته در حالی که روی باکتری‌های گرم منفی مثل اشریشیاکلی و سودوموناس آئرودینوزاداری اثر مهاری مؤثری نمی‌باشد(15). در مطالعه دیگری که توسط Ricci و همکاران در سال 2005 روی اثر ضد میکروبی گیاه *Teucrium marum* انجام گرفت مشخص شد که انسان این گیاه‌دارای اثرات ضد میکروبی مؤثری به ویژه روی Fusarium و *Rhizoctonia solani* و *Fusarium oxysporum* می‌باشد(16). همان طور که مشاهده می‌شود علی رغم وجود گونه‌های متنوع در جنس *Teucrium* و انجام آزمون‌های ضد میکروبی بر روی آن‌ها به روش‌های مختلف، اثبات خواص ضد میکروبی گونه‌های مختلف این جنس وسیع می‌باشد. از بین چهار باکتری اشریشیاکلی بیشترین مقاومت را در برابر اثر ضد باکتریایی عصاره داشته است. و با افزایش غلظت عصاره خاصیت ضد میکروبی نیز افزایش می‌یابد و در غلظت بالا اثر ضد باکتریایی عصاره تا حدودی مشابه آنتی‌بیوتیک‌ها می‌باشد. به علت افزایش روزافزون مقاومت آنتی‌بیوتیک‌ها، اثرات

منابع

1. Murray P, Baron R, Pfeifer EJ, Tenover M, Yajken FC, Robert H. Manual of clinical Microbiology. 7th Ed. Am; society for microbiology: 1999.
2. Shariat Hadi S. Extraction of beneficial materials from medicine plants, identification methods and their evaluation. *Mani press*: 1998.
3. Akin M, Oguz D, Saracoglu T. Antibacterial activity of essential oil from Thymbra spicata Var. Spicata L. and Teucrium polium (Stapf Brig). *Int. J. Pharm. Appl. Sci* 2010; 1(1): 36- 9.
4. Carreiras MC, Rodring V. A chlorin containing and two 17 beta- Neo- Clerodan diterpenoids from Teucrium polium subspine centrum. *phytochem* 1989; 8(1): 1453- 1461.
5. Samec D, Gruz J, Strnad M, Kremer D, Kosalec I, Grubesić RJ, Karlović K, Lucic A. Antioxidant and antimicrobial properties of Teucrium arduini L. (Lamiaceae) flower and leaf infusions (Teucrium arduini L. antioxidant capacity). *Food Chem. Toxicol* 2010; 48(1): 113- 9.
6. Donata R, Daniele F, Laura Giamperi, A. B, Francesco E, Giovanni B and Massimo C. Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activity of the essential oil of Teucrium marum (Lamiaceae). *J. Ethnopharmacol* 2005; 98: 195- 200.
7. Motamedi H, Darabpour E, Seyyed Nejad S. M. Antimicrobial properties of Teucrium polium against some clinical pathogens. *Asian Pac. J Trop. Med* 2010; 3: 124- 27.
8. Abdulkhader H, Nirmal P, Al- Saidi S, Al- Salami, A. Composition and Antimicrobial Activity of Leaf Essential Oil of Teucrium masticenses Boiss. from Oman. *J. Essent. Oil Res* 2006; 90: 66- 69
9. Oganesian GB, Galstyan AM, Mantsatanyan VA, Shashakov AS, Agababjan PV. Phenyl propanoid glycosides of Teucrium polium. *Chem. nat. compd* 1991; 27(5): 556- 559.
10. Maccioni S, Baldin R, Tebano M, Cioni P. L, Flaminio G. Essential oil of Teucrium scorodonia L. ssp. scorodonia from Italy. *Food Chem* 2007; 104: 1393-1395
11. Hayouni El, Abedrabb M, Bouix M and Hamdi M. The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian Quercus coccifera L. and Juniperus phoenicea L. fruit extracts. *Food chem.* 2007; 105(3): 1126- 34.
12. Basri DF, Fan SH. The potential of aqueous and acetone extracts of galls of Quercus infectoria and antibacterial agents. *J. pharmacol* 2005; 37(1): 26- 9
13. Djabou N, Battesti M- J, Allali H, Desjobert J M, Varesi L, Costa J, Muselli A. Chemical and genetic differentiation of Corsican subspecies of Teucrium flavum L. *Phytochem* 2011; 72: 1390- 1399
14. Darabpour E, Motamedi H, Seyyed Nejad S. M. Antimicrobial properties of Teucrium polium against some clinical pathogens. *Asian Pacific J. Trop. Medicine* 2010; 3(2): 124- 127
15. Assem M, El- Shazly, Karam T, Hussein. Chemical analysis and biological activities of the essential oil of Teucrium leucocladum Boiss. (Lamiaceae). *Bioch. Syst. Ecol* 2004; 32: 665-674
16. Ricci, Fraternale D, Giamperi, Buccini A, Epifano F, Burini G, Curini M. Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activity of the essential oil of Teucrium marum (Lamiaceae). *J. Ethnopharm* 2005; 98: 195-200
17. آینه چی، یعقوب. مفردات پزشکی و گیاهان داروئی ایران. تهران: انتشارات و چاپ دانشگاه تهران، 1370.
18. زرگری علی. گیاهان دارویی جلد چهارم. تهران: انتشارات دانشگاه تهران، 1372.
19. مظفریان، ولی... فرهنگ نامهای گیاهان ایران. تهران: فرهنگ معاصر، 1342.
20. زرگری علی. روش شناسایی گیاهان (پیوسته گلبرگ). تهران: انتشارات امیر کبیر، 1375.
21. نیازمند سعید، نعمتی کریمی حبیب الله، اسپرهم مریم. بررسی اثر عصاره گیاه کلپوره Teucrium polium (L.) بر فشار خون ضربان قلب و فشار درون بطی خرگوش. *فصلنامه گیاهان دارویی*, سال نهم، ش 33 (تابستان 1388): 31-35.
22. انصاری محمد، علیزاده علی محمد، پاک نژاد ملیحه، خانیکی محمود، نیمی سیدمهدي. اثرات عسل گیاه کلپوره بر فرایند التیام زخم سوتختگی. *مجله دانشگاه علوم پزشکی بابل*, دوره یازدهم، ش 3 (زمستان 1388): 12- 9