مجلـه‌ی علمـی، پژوهشـی دانشـگاه علـوم پزشـکی زنجـان
دوره‌ی ۲۰، شمـاره‌ی ۸۲، آذر و دی ۱۳۹۱، صفحات ٥٤ تا ٦٣

بررسی اثر ضد میکروبی عصاره‌ی الکلی و آبی برگ و گل لاواند حقیقی (*L.angustifolia*) بر روی باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و استرپتوکوکوس پیوژنز و بررسی ترکیبات موجود در اسانس آن

فوزیه مقدمی[۱]، سمانه دولت آبادی[۲]، دکتر حبیب‌اله ناظم[۳]

نویسنده‌ی مسوول: تهران، دانشگاه پیام نور، گروه زیست شناسی fouziehm@yahoo.com

دریافت: ۹۰/۱۰/۱۲ پذیرش: ۹۱/۳/۳۰

چکیده

زمینه و هدف: *باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و استرپتوکوکوس پیوژنز از جمله عوامل عفونت‌زای بخش فوقانی دستگاه تنفسی هستند. استرپتوکوکوس پیوژنز معمولا به‌صورت عفونت ثانویه و مخلوط به‌همراه عفونت با استافیلوکوک‌ها ظاهر می‌گردد، از این‌رو اثر ضدمیکروبی لاواند بر دو باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و استرپتوکوکوس پیوژنز با هم مورد بررسی قرار گرفت.*

روش بررسی: *در این پژوهش ترکیبات موجود در اسانس برگ‌ها و گل‌های گیاه L.angustifolia (لاواند حقیقی) با دستگاه کروماتوگرافی گازی با طیف سنج جرمی (GC/Ms) مورد آنالیز قرار گرفت و سپس اثرات ضد میکروبی عصاره الکلی و آبی برگ و گل بر روی باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و استرپتوکوکوس پیوژنز بررسی شد. خاصیت ضدباکتری عصاره‌ها ابتدا به روش رقت لوله‌ای در محیط مایع مورد بررسی قرار گرفت و حداقل غلظت مهارکننده (MIC) و حداقل غلظت کشنده (MBC) با استفاده از درصد غلظت‌های مختلف عصاره‌ها تعیین شد. سپس دیسک دیفیوژن با غلظت‌های مهارکننده انجام گرفت.*

یافته‌ها: *طبق یافته‌های این مقاله اسانس گل و برگ گیاه لاواند حقیقی از نظر نوع ترکیبات یکسانند ولی از لحاظ درصد ترکیبات تفاوت‌هایی با هم دارند. مهم‌ترین ترکیبات موجود در اسانس گل و برگ لاواند به‌ترتیب عبارت از لینالول (۳۶/۸-۳۵/۲) و سینئول (۱۷/۱-۲۰/۱) و برنئول (۷/۸-۷/۲) بود. MIC عصاره‌ی الکلی و آبی برگ و گل لاواند بر استافیلوکوکوس اورئوس ۱۵ میلی‌گرم و MBC برابر ۲۰ میلی‌گرم بود. در مورد باکتری استرپتوکوکوس پیوژنز نیز MIC برابر ۲۰ میلی‌گرم ولی MBC عصاره‌ی الکلی و آبی متفاوت بود؛ در واقع MBC برای عصاره‌ی الکلی ۲۰ میلی‌گرم و عصاره‌ی آبی ۲۵ میلی‌گرم بود.*

نتیجه گیری: *نتایج نشان داد که عصاره‌ی الکلی برگ لاواند حقیقی دارای اثر ضد میکروبی بر روی باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و استرپتوکوکوس پیوژنز می‌باشد و می‌تواند به‌عنوان فرآورده‌ی آنتی‌باکتریال در درمان عفونت‌های ناشی از این دو میکروارگانیزم مطرح گردد.*

واژگان کلیدی: لاواند حقیقی، استافیلوکوکوس اورئوس، استرپتوکوکوس پیوژنز، ضد میکروبی، MIC، MBC

۱- کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، مربی دانشگاه پیام نور ابهر

۲- دانشجوی دکترای تخصصی میکروبیولوژی، مربی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد نیشابور

۳- دکترای تخصصی بیوشیمی، دانشیار دانشگاه پیام نور تهران، سازمان مرکزی

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

در گذشته استفاده از گیاهان دارویی مهم‌ترین راه درمان اکثر بیماری‌ها محسوب می‌شد. اما با پیشرفت تولید داروهای شیمیایی، به تدریج اثرات مضر این داروها ظاهر شدند (۲و۱). از دهه‌ی ۱۹۵۰ باکتری‌های بیماری‌زای متعددی به آنتی‌بیوتیک‌ها مقاومت نشان دادند که این مقاومت همچنان در حال گسترش است. لذا مطالعه بر روی گیاهان دارویی جهت یافتن جایگزینی برای داروهای شیمیایی و آنتی‌بیوتیک‌ها قوت گرفت (٤و۳). یکی از این گیاهان مورد مطالعه Lavandula می‌باشد. لاوندها از خانواده Labiatae بوده، بومی مناطق مدیترانه‌ای است. Lavandula جنسی است که دارای بیش از ۳۰ گونه می‌باشد (۵). مهم‌ترین گونه‌های آن *L.Angustifolia* (*L.Officinalis*) یا لاوند حقیقی و *L.Stoechas* یا اسطوخودوس می‌باشد که به جنبه‌های درمانی آن‌ها اشارات بسیاری شده است (۷و ٦). اسانس لاوند دارای قدرت کشندگی برای طیف وسیعی از باکتری‌هاست، به‌طوری‌که در اکثر مطالعات انجام شده اثر ضدمیکروبی آن کاملا مشخص شده است (۱۲-۸). تحقیقات نشان داده است که قسمت‌های هوایی این گیاه نسبت به سایر بخش‌های آن اثر ضدمیکروبی قوی‌تری دارد (١٤و۱۳). دی‌ترپن‌های خاصی از ریشه‌ی گیاهان تیره‌ی نعناع جدا شده است که گفته می‌شود مسوول خاصیت ضد میکروبی آن‌هاست و ترکیب‌های مشابه آن را از برگ‌های لاوند جدا نموده‌اند. برخی از تحقیقات حاکی از استخراج فلانوئیدها از گیاهان تیره‌ی نعناع است که خاصیت ضدمیکروبی قوی دارند (۱۵). مشخص شده است که به طور کلی ترکیبات موجود در گیاه لاوند حقیقی ۵۹ درصد از انواع الکل‌ها و ۳۳ درصد از استرهای مختلف تشکیل شده است (۱۷) که در این میان می‌توان از دی‌ترپن، الکل‌های حلقوی، فلانوئیدها و اسیدهای آلی مثل کارنوزیک‌اسید، کامفور و ساپونین نام برد (١٦). مطالعه‌ی دیگری نشان داد که عصاره‌ی الکلی برگ لاوند نسبت به عصاره‌ی آبی آن موثرتر است (۱۸) و بر روی باکتری‌های زیادی مانند استافیلوکوکوس اورئوس، سالمونلا تیفی، سودوموناس ائروجینوزا، هموفیلوس انفلوانزا، باسیلوس سوبتیلیس و استرپتوکوکوس به خوبی اثر ضدمیکروبی دارد (۱۱و۸)، ولی کمترین اثر را بر روی باکتری اشریشیاکلی دارد (۱۹و۱۱). به‌طور کلی می‌توان گفت باکتری‌های گرم مثبت در مقایسه با باکتری‌های گرم منفی به اسانس‌های گیاهی حساس‌ترند؛ زیرا رشته‌های پلی‌ساکارید موجود در غشای خارجی باکتری‌های گرم منفی به‌دلیل هیدروفیلیک بودن به‌عنوان سدی برای اسانس‌های هیدروفیلیک عمل می‌کنند (۱۹). به‌دلیل اینکه بیشترین ماده‌ی موجود در گیاه لاوند حقیقی، لینالول می‌باشد، اکثر خواص بیولوژیکی از جمله خواص ضدمیکروبی آن را به لینالول نسبت می‌دهند (۷)، در حالی که طبق برخی از گزارشات، خواص ضدمیکروبی آن کمتر به لینالول مربوط می‌باشد (۲۰) و ترکیبات دیگر این گیاه می‌توانند عامل ضدمیکروبی گیاه لاوند باشند (۲۱). به‌طور کلی می‌توان گفت اثر ضدمیکروبی گیاه لاوند در پژوهش‌هایی که در مناطق مختلفی انجام شده یکسان نبوده، به منطقه‌ی رویشی آن بستگی دارد (۲۱). تحقیقات متعددی بر روی اثر ضدمیکروبی این گیاه تاکنون انجام گرفته اما از آنجایی‌که این مطالعات عمدتاً بر باکتری‌های خاصی متمرکز نمی‌باشد؛ لذا نمی‌توان از آن‌ها جهت بررسی‌های مقایسه‌ای استفاده کرد. همین امر سبب شد تا در این پژوهش تفاوت ترکیبات اسانس گل‌ها و برگ‌های گیاه لاوند حقیقی بومی ایران و اثرات ضدمیکروبی عصاره‌های الکلی و آبی این قسمت‌ها مورد مطالعه و ارزیابی قرار گیرد. از آنجایی که باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و استرپتوکوکوس پیوژنز از جمله عوامل عفونت‌زای بخش فوقانی دستگاه تنفسی هستند و استرپتوکوکوس پیوژنز معمولا به‌صورت عفونت ثانویه و مخلوط به‌همراه عفونت با استافیلوکوک‌ها ظاهر می‌گردند (۲۲)؛ لذا اثر ضدمیکروبی لاوند بر دو باکتری

Archive of SID

www.SID.ir

استافیلوکوکوس اورئوس و استرپتوکوکوس پیوژنز مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی

جمع‌آوری نمونه‌ها: جهت بررسی خواص ضدمیکروبی عصاره‌ی گیاه لاواند حقیقی بر روی باکتری‌ها در ابتدا گیاه مورد نظر از پارک‌های شهر قزوین جمع‌آوری شد و پس از شناسایی توسط گروه زیست‌شناسی دانشگاه پیام نور نمونه‌ای از آن در واحد هرباریوم آزمایشگاه سیستماتیک گیاهی دانشگاه به شماره ۲۳L ضبط گردید. سپس سرشاخه‌های برگ‌دار گیاه لاواند حقیقی و گل‌های آن‌ها جداگانه در آزمایشگاه در محل تاریک و خشک نگه‌داری و به‌طور کامل خشک شدند. پس از جداسازی و آسیاب‌کردن برگ‌ها و گل‌ها به‌طور جداگانه، نمونه‌ها برای عصاره‌گیری و استخراج اسانس آماده‌سازی شدند.

عصاره‌گیری: عصاره‌گیری از نمونه‌ها به دو روش عصاره‌ی الکلی و آبی انجام گرفت. بدین‌منظور ۱۲/۵ گرم از پودر برگ گیاه به ۱۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر و ۱۲/۵ گرم نیز به ۱۲۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۹/۵ درصد به‌طور جداگانه اضافه گردید. این کار برای گل‌ها نیز انجام شد و سپس هر دو مخلوط به روش Maceration (خیساندن) عصاره‌گیری شدند برای این کار ظرف‌های حاوی مخلوط‌های تهیه شده به‌مدت ۱۸ ساعت روی دستگاه چرخاننده قرار گرفت تا عمل خیساندن به خوبی انجام گیرد. سپس مخلوط‌ها درون دستگاه تقطیر ریخته و عصاره‌ها تهیه شد. عصاره‌ها تا زمان استفاده در یخچال نگه‌داری شدند.

استخراج اسانس: جهت استخراج اسانس از روش تقطیر با آب استفاده شد سپس اسانس‌ها توسط سولفات سدیم رطوبت‌زدایی شدند.

مشخصات دستگاه‌های مورد استفاده: از دستگاه GC دارای گاز کروماتوگراف Buck Scientis مجهز به ستون DB-۵ به طول ۳۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلی‌متر که ضخامت لایه‌ی فاز ساکن در آن ۰/۲۵ میکرومتر بود، استفاده شد. برنامه‌ریزی حرارتی ستون ۶۰ تا ۲۱۰ درجه‌ی سانتی‌گراد بود که با سرعت ۳ درجه در دقیقه افزایش یافته تا به ۲۱۰ درجه‌ی سانتی‌گراد می‌رسید. دمای محفظه‌ی تزریق ۳۰۰ درجه‌ی سانتی‌گراد بود. دتکتور (Detector) مورد استفاده در دستگاه GC از نوع FID بوده و روی دمای ۲۷۰ درجه‌ی سانتی‌گراد تنظیم شد. از گاز هلیوم به‌عنوان گاز حامل استفاده شد که فشار آن به ستون برابر ۳ کیلوگرم بر سانتی‌متر مربع تنظیم شده بود.

دستگاه GC/Ms: از گاز کروماتوگراف واریان ۳۴۰۰ متصل به طیف سنج جرمی از نوع تله یونی استفاده شد که ستون آن DB-۵ به طول ۳۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه‌ی فاز ساکن در آن ۰/۲۵ میکرومتر بود. برنامه‌ریزی حرارتی ستون شبیه به برنامه ریزی ستون در دستگاه GC بود، فقط دمای نهایی ستون ۲۸۰ درجه‌ی سانتی‌گراد بود. گاز حامل هلیوم بود که با سرعت ۳۱/۵ سانتی‌متر بر ثانیه در طول ستون حرکت می‌کرد. Resolution برابر با ۱۰۰۰ بود، انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت و ناحیه‌ی جرمی از ۳۵ تا ۴۵۰ بود.

سویه‌های باکتریایی و محیط کشت: سویه‌های استفاده شده در این طرح، سویه‌های کلینیکی بودند که از آزمایشگاه‌های تشخیصی طبی در شهر قزوین جداسازی شده و شامل دو جنس استافیلوکوکوس و استرپتوکوکوس بود. از جنس اول استافیلوکوکوس اورئوس و از جنس دوم استرپتوکوکوس پیوژنز مورد بررسی قرار گرفت. محیط کشت‌های مصرف شده در این پژوهش عبارت بودند از نوترین آگار (NA) و مولرهینتون آگار (MHA) و مولر هینتون براث که از شرکت Merck خریداری شدند.

تست تعیین حداقل غلظت مهار کننده از رشد (MIC) و حداقل غلظت کشنده (MBC): جهت انجام تست تعیین حداقل غلظت مهار کننده از رشد یا MIC ابتدا باید

Archive of SID
www.SID.ir

سوسپانسیون میکروبی مطابق با نیم مک فارلند تهیه گردد. از این‌رو از سویه‌های مورد آزمایش مقداری درون لوله‌های حاوی محیط مولر هینتون براث ریخته شد که پس از ۲ تا ٤ ساعت رشد در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد و بعد از هم‌زدن، سوسپانسیون تا رسیدن به نیم مک فارلند رقیق شد. در مرحله‌ی بعد ۱۰ لوله انتخاب شد که به همه‌ی آن‌ها مقدار ۱ میلی‌لیتر محیط کشت مولر هینتون براث افزوده شد. سپس به‌ترتیب مقادیر ۰/۷۵، ۱/۲۵، ۲/۵، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۰، ٤۰ میلی‌گرم از عصاره‌ها از لوله‌ی ۱ تا لوله‌ی ۱۰ افزوده شد. در مرحله‌ی آخر به میزان ۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون میکروبی برابر با استاندارد نیم مک فارلند را به تمام لوله‌ها افزوده، به مدت ۲٤ ساعت در ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری در نهایت اولین لوله‌ی شفاف، بیانگر MIC می‌باشد. برای تأیید نیز، یک لوله‌ی ماقبل و یک لوله‌ی ما بعد و خود لوله MIC هر سه در سه محیط کشت جداگانه NA کشت شدند تا اطمینان از عدم رشد لوله‌ی MIC مورد نظر حاصل آید. لازم به یاد آوری است که در آزمایش لوله‌ی ۱، شاهد منفی و لوله‌ی ۱۰، شاهد مثبت است. این آزمایش برای سویه‌های باکتری‌هایی هم با عصاره‌ی الکلی برگ و گل لاواند حقیقی و هم با عصاره‌ی آبی برگ و گل لاواند حقیقی انجام پذیرفت.

تست دیسک دیفیوژن (Disk Diffusion): جهت یافتن میزان اثر ضدمیکروبی عصاره‌ها، عمل دیسک دیفیوژن انجام گرفت. برای انجام این تست ابتدا از سوسپانسیون میکروبی هر سویه‌ی معادل نیم مک فارلند بر روی پلیت‌های حاوی محیط مولر هینتون آگار با سوآپ کشت چمنی انجام گرفت. سپس دیسک‌های کاغذی آغشته به عصاره‌ها بر روی آن‌ها قرار داده شدند. جهت تهیه‌ی این دیسک‌ها، از دیسک‌های بلانک که از شرکت پادتن طب تهیه شده بودند، استفاده شد. بدین صورت که ۱۰ میکرولیتر از عصاره‌ی معادل با غلظت MIC هر باکتری بر روی دیسک‌های بلانک ریخته شد. مقادیر MIC به‌دست آمده از عصاره‌ها به‌همراه حلال وارد دیسک‌ها شد. به‌عنوان حلال هم از دی‌متیل‌سولفوکساید (DMSO) استفاده شد. دیسک‌ها به‌مدت ۳۰ تا ٦۰ دقیقه درون یک پتری دیش درون انکوباتور با دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار گرفتند تا حلال استفاده شده تبخیر گردد. سپس دیسک‌های تهیه شده از عصاره‌ها با فاصله معین از یکدیگر و از لبه‌ی پلیت روی آگار قرار داده شد. پلیت‌ها به‌مدت ۲٤ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شدند و سپس با اندازه‌گیری قطر هاله‌های تشکیل شده در اطراف دیسک‌ها، نتایج مورد بررسی قرار گرفت جهت حصول اطمینان از هر یک از غلظت‌های مختلف عصاره‌ی آبی و الکلی، این آزمایش‌ها برای هر سویه‌ی باکتری‌هایی پنج بار تکرار شد، همچنین به منظور تعیین پایداری عصاره‌ها، قطر هاله‌ی عدم رشد با انجام مجدد آزمایش‌ها در ٤ ماه متوالی یادداشت شد و با مقایسه‌ی قطر هاله‌های به‌دست آمده در ماه‌های مختلف پایداری عصاره‌ها مورد سنجش قرار گرفت.

یافته‌ها

نتیجه‌ی GC/MS: ابتدا عمل آنالیز اسانس‌ها توسط GC/Ms انجام شد. آنالیز اسانس‌ها در دو قسمت اسانس گل و اسانس برگ انجام شد. ترکیبات موجود در اسانس ٤۰ ترکیب بود که بعضی از ترکیبات درصد بالایی را شامل می‌شدند. در واقع در حدود ۱۱ ترکیب با درصد بالا در آن وجود داشت و بقیه‌ی ترکیبات مقادیر کمتری را شامل می‌شدند. بیشترین ترکیبات به ترتیب لینالول، سینئول و برنئول بود. جدول ۱ نشانگر ترکیبات موجود در اسانس گل و اسانس برگ لاواند حقیقی می‌باشد.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱: ترکیبات موجود در اسانس گل و اسانس برگ گیاه لاواند حقیقی

ردیف	نام ترکیب	برگ (٪)	گل (٪)
۱	Linalool	۳۵/۲	۳٦/۸
۲	1,8-cineol	۲۰/۱	۱۷/۱
۳	Borneol	۷/۲	۷/۸
٤	Camphor	٤/۳	٤/٥
٥	Terpinen-4-ol	٤	٤/٤
٦	α-terpinol	۲/۲	۲/۲
۷	Linalyl-acetate	۳/۷	۳/٥
۸	Thymol	۲	۱/۹
۹	β-Frarnesene	۲/۲	۲/٥
۱۰	α- Pinene	۲/۸	۲/۷
۱۱	α- Bisabolol	٤	۳/٥
۱۲	α- Chamigrene	۰/۷	۰/۸
۱۳	Bornyl acetate	۰/۷	۰/۸۲
۱٤	Caryophyllene	۰/۲	۰/۸
۱٥	1,3,7-Octatriene ,3,7 dimethyl	۰/۳	۰/۱
۱٦	Menthol	۰/۲	۰/۲
۱۷	Geraniol	۰/۱٥	۰/۱
۱۸	Octan-3 ol	۰/۱٦	۰/۱۷
۱۹	β-Ocimene	۰/۱	۰/۰۹
۲۰	Menthone	۰/۱	۰/۳
۲۱	Cis-β-Terpineol	۰/۰٥	۰/۰۲
۲۲	Limonene	۰/۰۹	۰/۱
۲۳	Benzene-1,methyl-4-methylethyl	۰/٤٥	۰/۳٥
۲٤	Benzene-1,methyl-2-methylethyl	۰/۸۸	۰/٦۷
۲٥	3-Carene	۰/۹	۰/۸
۲٦	Bicyclo	۰/۰۷	۰/۰۹
۲۷	Butanoic acid- hexyl ester	۰/۰۸	۰/۰٥
۲۸	Acetic acid-hexyl ester	۰/۰۹	۰/۱
۲۹	Isocaryophillene	۰/۷	۰/۸
۳۰	Methylene ۲-vinylcyclopentane	۰/٥	۰/٤
۳۱	Octadien1-ol 3,7dimethyl acetate	۰/۳	۰/۳
۳۲	β- Myrcene	۰/۲	۰/۱۳
۳۳	Trans-β-Ocimene	۰/٦	۰/٦٥
۳٤	Octen-1-ol acetate	۰/۷	۰/۹
۳٥	Camphene	۰/۳	۰/۹
۳٦	3-Octanone	۰/۷	۰/۷٦
۳۷	Cardinene	۰/۲	۰/۳
۳۸	Caryophyllene oxide	۰/٤	۰/٥
۳۹	α- Santoloene	۰/۹	۰/۳
٤۰	Geranyl Acetate	۰/۱	۰/۱

Archive of SID

www.SID.ir

حداقل غلظت مهار کننده‌ی رشد (MIC) و حداقل غلظت کشنده‌ی (MBC): تست‌های MIC و MBC جهت تعیین حداقل غلظت مهار کننده‌ی رشد و حداقل غلظت کشنده‌ی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و استرپتوکوکوس پیوژنز انجام شد. جدول ۲ نشانگر نتایج MIC و MBC عصاره‌ی الکلی و آبی گل و برگ لاواند حقیقی بر روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس می‌باشد و جدول ۳ نیز نشانگر نتایج MIC و MBC عصاره‌ی الکلی و آبی گل و برگ لاواند حقیقی بر روی باکتری استروپتو کوکوس پیوژنز می‌باشد.

جدول ۲: نتایج MIC و MBC عصاره‌ی الکلی و آبی گل و برگ لاواند حقیقی بر روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس

غلظت عصاره / نوع عصاره	MIC ۲۰ میلی‌گرم		MIC ۱۵ میلی‌گرم		MBC ۲۰ میلی‌گرم		MBC ۱۵ میلی‌گرم	
	گل	برگ	گل	برگ	گل	برگ	گل	برگ
عصاره‌ی الکلی	+	+	+	+	+	+	+	+
عصاره‌ی آبی	+	+	+	+	+	+	+	+

جدول ۳: نتایج MIC و MBC عصاره‌ی الکلی و آبی گل و برگ لاواند حقیقی بر روی باکتری استروپتو کوکوس پیوژنز

غلظت عصاره / نوع عصاره	MIC ۲۵ میلی‌گرم		MIC ۲۰ میلی گرم		MBC ۲۵ میلی‌گرم		MBC ۲۰ میلی‌گرم	
	گل	برگ	گل	برگ	گل	برگ	گل	برگ
عصاره‌ی الکلی	+	+	+	+	+	+	+	+
عصاره‌ی آبی	+	+	+	+	+	+	—	—*

* ***+ عصاره در این غلظت دارای اثر مهار کنندگی (MIC) یا کشندگی (MBC) می‌باشد.***

— عصاره در این غلظت دارای اثر مهار کنندگی (MIC) یا کشندگی (MBC) نمی‌باشد.

روش انتشار در آگار یا Disk Diffusion: بعد از به‌دست آوردن غلظت MIC برای هر باکتری غلظت مورد نظر جهت Disk Diffusion استفاده شد. در مورد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس MIC به‌دست آمده ۱۵ میلی‌گرم با استفاده از عصاره‌ی الکلی برگ و گل بود. بنابراین غلظت ۱۵ میلی‌گرم عصاره‌ی الکلی در دیسک‌ها استفاده شد. برای باکتری استرپتوکوکوس نیز MIC ۲۰ میلی‌گرم برای دیسک‌های همین مقدار در نظر گرفته شد. سپس قطر هاله‌ی عدم رشد باکتری‌ها برحسب میلی‌متر اندازه‌گیری و میانگین آن‌ها گزارش شد. جدول ٤ میانگین قطر هاله‌ی عدم رشد سویه‌های باکتری برحسب میلی‌متر ناشی از تاثیر عصاره‌ی الکلی گل و برگ لاواند را نشان می‌دهد.

جدول ٤: میانگین قطر هاله‌ی عدم رشد باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و استرپتوکوکوس پیوژنز برحسب میلی‌متر ناشی از تاثیر عصاره‌ی الکلی گل و برگ لاواند حقیقی

باکتری / نوع عصاره	استافیلوکوکوس اورئوس (mm)	استرپتو کوکوس پیوژنز (mm)
عصاره‌ی آبی برگ	۱۷/۱	۱۰/۵
عصاره‌ی آبی گل	۱۵/۹	۹/۵
عصاره‌ی الکلی برگ	۲۰/۲	۱٦/۳
عصاره‌ی الکلی گل	۱۹/۵	۱٤/۲

Archive of SID

www.SID.ir

بحث

در این مطالعه اثر ضدمیکروبی عصاره‌ی الکلی و آبی برگ و گل لاواند حقیقی بر روی باکتری‌های استافیلوکوکوس‌اورئوس و استرپتوکوکوس پیوژنز مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که عصاره‌ی آبی و الکلی قسمت‌های گل و برگ گیاه لاواند حقیقی بر روی باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و استرپتوکوکوس پیوژنز موثر است. بیشترین تاثیر عصاره‌ی لاواند حقیقی بر روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس زمانی حاصل شد که عصاره‌ی الکلی برگ با غلظت ۱۵ میلی‌گرم استفاده شد و در مورد باکتری استرپتوکوکوس پیوژنز هم غلظت ۲۰ میلی‌گرم عصاره‌ی الکلی برگ موثرترین بود. روش انتشار در آگار نیز موید همین مطلب بود که عصاره‌ی الکلی برگ با غلظت‌های MIC بیشترین تاثیر را داشته است. طبق نتایج به‌دست آمده عصاره‌ی الکلی اثر بیشتری نسبت به عصاره‌ی آبی داشت. قطر هاله‌ی عدم رشد در عصاره‌ی الکلی برگ در مورد هر دو باکتری بزرگ‌تر از قطر هاله‌ی عدم رشد در عصاره‌ی الکلی گل بود. بنابراین می‌توان گفت استفاده از عصاره‌ی الکلی برگ موثرتر از عصاره‌ی الکلی گل می‌باشد. نتایج به‌دست آمده از آنالیز GC/MS هر دو اسانس گل و برگ نشان می‌دهد که تفاوت اندکی در مورد درصد ترکیبات موجود در اسانس گل و برگ وجود دارد. ولی نوع ترکیبات در هر دو مشترک می‌باشد. اگر چه تفاوت میان درصد ترکیبات موجود در اسانس گل و برگ در حد ناچیزی است ولی می‌تواند باعث تفاوت در ایجاد حساسیت بیشتر باکتری به اثر ضدمیکروبی عصاره‌ها گردد. نتایج حاصل از آنالیز ترکیبات موجود در این گیاه، مشابه اکثر مطالعاتی است که در ایران انجام گرفته است (۲٤و ۲۳، ۱٦)؛ ولی ترکیبات این اسانس با اسانس لاواندهای دیگر کشورها تفاوت‌هایی دارد. در اکثر مطالعاتی که در کشورهای دیگر انجام گرفته بیشترین ماده‌ی موجود در ترکیب اسانس، لینالول و لینالیل استات می‌باشد (۲۵و ۷). تفاوت‌هایی که در نوع و میزان ترکیبات مشاهده می‌شود، می‌تواند به دلیل تفاوت در محیط‌های رشد، ژنتیک، نوع تغذیه و غیره باشد (۲۵). باوجود تفاوت‌هایی که در ترکیبات گیاه در کشورهای مختلف مشاهده می‌شود، این گیاه همچنان دارای خاصیت ضدمیکروبی قوی می‌باشد. برخی از این ترکیبات نظیر لینالول، تریپن ٤ ال، سینئول، کامفور و تیمول هستند که در اسانس لاواند حقیقی وجود دارند و مشخص شده است که همگی آن‌ها دارای خواص ضدمیکروبی هستند. تیمول که در این پژوهش در مقایسه با چهار ترکیب دیگر دارای مقدار کمتری بود، بیشترین خاصیت ضدمیکروبی را داراست (۱۹). بدین ترتیب می‌توان گفت اثر ضدمیکروبی *L.angustifolia* نمی‌تواند صرفا به‌ترکیب عمده (ماده موثره) آن مربوط باشد. چرا که اثر ضدمیکروبی این گیاه به مجموعه‌ای از ترکیبات ضدمیکروبی آن مربوط می‌باشد. برخی از این ترکیبات می‌تواند با مختل کردن کار ساختارهای غشای سلولی باعث اختلال در نفوذپذیری سدهای غشایی شده، با به هم زدن کنترل شیمیواسمزی سلول باعث مرگ باکتری‌ها گردد (۲۵). به طور کلی می‌توان گفت ترکیبات ضدمیکروبی با ترکیب پروتئین‌های خارج سلولی و یا تشکیل کمپلکس با دیواره‌ی سلولی و یا ایجاد اختلال در غشای سلولی میکروارگانیزم‌ها آن‌ها را از بین می‌برند (۲۷و ۲٦).

نتیجه گیری

نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که عصاره‌ی الکلی برگ لاواند حقیقی دارای ویژگی‌های ضدباکتری قابل توجهی است و با توجه به طیف وسیعی از مطالعاتی که بر روی این گیاه انجام گرفته همچنان زمینه‌ی تحقیقات بیشتری جهت شناسایی و تخلیص ترکیبات موثره این گیاه فراهم است. از آنجا که مقاومت روزافزون باکتری‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها در حال گسترش است، نتایج فوق می‌تواند حایز اهمیت باشد چرا که

Archive of SID

www.SID.ir

خواص دیگر این گیاه نظیر خواص تحریک کنندگی سیستم ایمنی و ضد التهابی آن (۷) در کنار خواص ضدمیکروبی آن سبب می‌شود که عصاره‌ی الکلی برگ لاوند حقیقی را به عنوان یک ماده ضد باکتریایی برای درمان عفونت‌های ناشی از این باکتری‌ها پیشنهاد نمود.

References

1- Pauwels E, Stoven V, Yamanishi Y. Predicting drug side-effect profiles: a chemical fragment-based approach. *BMC Bioinformatics*. 2011; 12: 169.

2- Tatonetti NP, Liu T, Altman RB. Predicting drug side-effects by chemical systems biology. *Genome Biology*. 2009; 10: 238.

3- Baquero F, Beltrén J M and, Loza E. A review of antibiotic resistance patterns of *Streptococcus pneumoniae* in Europe. *J Antimicrob Chemother*. 1991; 28: 31-8.

4- Gould IM. A review of the role of antibiotic policies in the control of antibiotic resistance. *J Antimicrob Chemother*. 1999; 43: 459-65.

5- Ghahreman A. Iranian chormophytes four-volume book (Iranian plants). Tehran: Nashre daneshgahi; 1991.

6- Mirheidar H. Education vegetation (plants used in the prevention and treatment). Tehran: Nashre Islami; 1998.

7- Cavanagh HMA, Wilkinson JM. Biological activities of lavander essential oil. *Phitother Res*. 2002; 16: 301-8.

8- Sienkiewicz M, Lysakowska M, Ciećwierz J, Denys P, Kowalczyk E. Antibacterial activity of thyme and lavender essential oils. *Med Chem*. 2011; 7: 674-89.

9- Hancianu M, Aprotosoaie AC, Gille E, Poiata A. Chemical composition and antibacterial activity of the essential oils from launaea resedifolia. *Rev Med Chir Soc Med Nat Lasi*. 2008; 112: 843-7.

10- Soković M, Glamočlija J, Marin PD, Brkić D, van Griensven LJ. Antibacterial effects of the essential oils of commonly consumed medicinal herbs using an in vitro model.*Med Dosw Mikrobiol*. 2011; 63: 273-81.

11- Sienkiewicz M, Kalemba D, Wasiela M. Sensitivity assessment of thyme and lavender essential oils against clinical strains of *Escherichia coli* for their resistance. *Med Dosw Mikrobiol*. 2011; 63: 273-81.

12- Chen WQ, Jin JZ. Antimicrobial activity and GC-MS analysis of essential oil from lavender extracted by supercritical CO2 extraction and hydrodistillation. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*. 2008; 33: 1821-4

13- Panizze L, Flamini G, Coini P. Composition and antimicrobial properties of essential oils of four mediteranean lamiaceae. *J Ethnopharmacol*. 1993; 39: 167-70.

14- Lodhia MH, Bhatt KR, Thaker VS. Antibacterial activity of essential oils from palmarosa, evening primrose, lavender and tuberose. *Indian J Pharm Sci*. 2009; 71: 134-6.

Archive of SID

www.SID.ir

15- Larrondo J, Agut M, Calvo T. Antimicrobial activity of essence from labiates. *Microbios*. 1995. 82: 171-2.

16- Rasuli A, Rezai M. Study of antimicrobial activity and chemical composition of essential oils of *L.angustifolia. J Kerman Univ Med Sci*. 2000; 7: 173-81.

17- Daferera DJ, Ziogas BN, Polissiou MG. GC-MS analysis of essential oils from some greek aromatic plants and their fungitoxicity on penicillium digitatum. *J Agric Food Chem.* 2000; 48: 2576-81.

18- Khosravi A, Malekan M. Effects of lavandula stoechas extracts on staphylococcus aureus and other gram negative bacteria. *J Qazvin Univ Med* . 2004; 29: 1-9.

19- Inouyea S, Takizawab T, Yamaguchia H. Antibacterial activity of essential oils and their major constituents against respiratory tract pathogens by gaseous contact *J. Antimicrob. Chemother*. 2001; 47: 565-73.

20- Lis Balchin M, Deans SG, Eaglesham E. Relationship between bioactivity and chemical composition of commercial essential oilos. *Flavour Fragr J*. 1998; 13: 98-104.

21- Pattnaik S, Subramanyam VR, Bapaji M, Kole CR. Antibacterial and antifungal activity of aromatic constituents of essential oils. *Microbs*. 1997; 89: 39-46.

22- Malek zadeh F. Microbiology. Tehran: Tehran University Press; 1992.

23- Barazandeh M. The essential oils of composition of *L.latifolia. J Tehran UnivMed Sci.* 2002; 14: 103-4.

24- Afsharypour S, Azarbayejany N. Chemical constituents of flower essential oil of *L.officinalis chaix* From Isfahan. *Iranian J pharmaceutical Sci.* 2006; 2: 169-72.

25- Hui L, He L, Huan L, Xiaolan L, Aiguo Z. Chemical composition of lavender oil and its antioxidant activity and inhibition against rhinitis-related bacteria. *African J Microbiol Res*. 2010; 4: 309-13.

26- Sharafati-chaleshtori A, Sharafati-chaleshtori R, Sharafati-chaleshtori F, Rafieian M Antibacterial effect of ethanolic extract of walnut leaves (*Juglans Regia*) on *Propionibacterium Acnes. J Zanjan Univ Med Sci*. 2010; 18: 42-9.

27- Tsuchiya HM, Sato M, Miyazaki T, *et al.* Comparative study on the antibacterial activity of phytochemical flavanones against methicillin-resistant *Staphylococcus Aureus. J Ethnopharmacol*. 1996; 50: 27-34.

Archive of SID

www.SID.ir

Antimicrobial Activity of Alcohol and Aqueous Extract of *Lavandula angustifolia* Leaves and Flowers on *Staphylococcus pyogenes* and *Staphylococcus aureus*

Moghadami F[1], Dolatabadi S[2], Nazem H[3]

[1]Dept. of Biology, Payam-e-Noor University, Tehran, Iran

[2]Dept. of Biology, Faculty of Science, Neishaboor Branch of Islamic Azad University, Neishaboor, Iran

[3]Dept. of Biology, Payam-e-Noor University, Tehran, Iran

Corresponding Author: Moghadami F, Dept. of Biology, Payam-e-Noor University, Tehran, Iran

E-mail: fouziehm@yahoo.com

Received: 2 Jan 2012 **Accepted:** 19 Jun 2012

Background and Objective: *Staphylococcus pyogenes* and *Staphylococcus aureus* bacteria are infectious agents of the pulmonary system. *S. pyogenes* usually appears as a secondary infection along with a primary staphylococcus infection. Hence, antimicrobial effects of *Lavandula angustifolia* on *S. pyogenes* and *S. aureus* were simultaneously examined.

Materials and Methods: In this study, compounds existing in essences of leaves and flowers of *L. angustifolia* (true Lavander) were analyzed by gas chromatography using mass spectrometry (GC/Ms) and the antibacterial effects of the extracts were investigated by tube dilution method in a broth medium. Minimal Inhibition Concentration (MIC) and Minimal Bactericidal Concentration (MBC) were determined using different concentrations of the extracts. Then disk diffusion was performed with MIC concentrations.

Results: The most important compounds existing in the essence of *L. angustifolia* flowers and leaves included linalool (35.2%-36.8%), cineole (17.1%-20.1%), and borneol (7.2%-7.8%), respectively. MIC and MBC of aqua and alcohol extracts of the leaves and flowers on *S. aureus* were 15 mg and 20 mg, respectively. As for *S. pyogenes*, the MIC was 20 mg. However, the MBCs of alcohol and of the aqueous extracts were different (20 mg vs. 25 mg).

Conclusion: Our results reveal that alcohol extract of *L. angustifolia* leaves has antibacterial effect on *S. aureus* and on *S. pyogenes* and could be considered as an antibacterial product in the treatment of infections caused by these two microorganisms.

Keyword: L.angustifolia, S.pyogenes, S.aureus, Antimicrobial, MIC, MBC

Archive of SID

www.SID.ir