

ترکیب ضد عفونی کننده و آنتی سبتیک نانوساختار با استفاده از عصاره گیاهان زنیان، شیرین بیان، اسطوخودوس و نعناع فلفلی

عارف عاطفی^۱، پریسا دهقان^۲، حسین دهقان^۳

۱- واحد تحقیق و توسعه، شرکت تحقیقاتی و تولیدی ایستا نانو فارمد آریا، یزد، ایران

۲- واحد تحقیق و توسعه، شرکت تحقیقاتی و تولیدی ایستا نانو فارمد آریا، یزد، ایران

۳- واحد تحقیق و توسعه، شرکت تحقیقاتی و تولیدی ایستا نانو فارمد آریا، یزد، ایران

چکیده

بر اساس شیوع گسترده بیماری‌های باکتریایی، انگلی و ویروسی زئونوز نوپدید یا بازپدید به صورت اندمیک و پاندمیک در جامعه، بروز مقاومت آنتی‌بیوتیکی در پی مصرف نامناسب و عدم کارآیی مناسب ترکیبات آنتی‌بیوتیکی، اثرات نامطلوب زیست محیطی و مسبب بروز عوارض نامناسب بر نسوج که در پی بکارگیری مواد ضد عفونی کننده بر پایه ترکیبات شیمیایی بروز می‌یابد، ضرورت فرمولاسیون ضد عفونی کننده بر پایه ترکیبات گیاهی را تبیین می‌کند. ترکیب ضد عفونی کننده و آنتی‌سبتیک نانوساختار با استفاده از عصاره گیاهان دارویی زنیان، شیرین بیان، اسطوخودوس، نعناع فلفلی و نانوذرات اکسید روی، در زمینه‌ی فنی پزشکی - دامپزشکی - داروسازی طراحی و فرموله شده است که منجر به ثبت اختراع به شماره ۱۰۵۵۱۰ در مرکز مالکیت معنوی ایران گردید. سوسپانسیون ضد عفونی کننده مورد ادعا یک محصول کاملاً نوترکیب، پایدار و بسیار قوی با توانایی کاهش ۷ لگاریتم باکتری سطوح بوده که شامل عصاره هیدروالکلی گیاهان زنیان، شیرین بیان، اسطوخودوس و نعناع فلفلی، نانوذرات اکسید روی، اسیدها، عوامل کلات کننده، اتانول و آب مقطر است که این مجموع این مواد اثر سینرژیستیک با همدیگر ایجاد می‌کنند. از مهمترین مزایای این اختراع، استفاده از گیاهان دارویی جهت جایگزینی ترکیبات شیمیایی، بکارگیری ترکیبات نانوساختار، غیر سمی بودن، عدم آسیب به محیط زیست، اثر بخشی قوی و قابلیت استفاده گسترده از آن جهت ضد عفونی کردن در انسان، دام، طیور و آبزیان اشاره کرد.

واژگان کلیدی: ضد عفونی کننده نانوساختار، زنیان، شیرین بیان، اسطوخودوس، نعناع فلفلی

مقدمه:

کنترل عوامل بیماری‌زا که طی شیوع روز افزون مقاومت آنتی‌بیوتیکی در باکتری‌ها و شیوع گسترده بیماری‌های باکتریایی، انگلی و ویروسی زئونوز نوپدید یا بازپدید به صورت اندمیک و پاندمیک در جامعه، مستلزم استفاده از روش‌های مناسب برای ضد عفونی کردن می‌باشد. ضد عفونی کردن توسط عوامل فیزیکی و شیمیایی انجام می‌شود که سبب تخریب، مهار و یا ممانعت از رشد عوامل بیماری‌زا می‌گردد (عاطفی، ۱۳۹۹). ضد عفونی کننده‌ها، دسته‌ای از مواد شیمیایی هستند که با اثر بر عوامل بیماری‌زایی نظیر باکتری‌ها، ویروس‌ها، قارچ‌ها، اسپور باکتری و سایر ارگانسیم‌ها، آنها را از بین می‌برند و یا از رشد آنها جلوگیری می‌کنند. عدم کارآیی مناسب، اثرات نامطلوب زیست‌محیطی و مسبب بروز عوارض نامناسب بر نسوج (نظیر حساسیت پوستی و تنفسی، سرطان‌زایی و ...) که در پی بکارگیری مواد ضد عفونی کننده تجاری بر پایه ترکیبات شیمیایی بروز می‌یابد. محققین رشته‌های گوناگون پزشکی، میکروبیولوژی و فارماکولوژی، به طور مداوم در جهت یافتن ترکیبات جدید جهت کنترل، حذف و درمان عفونت‌ها می‌باشند. همچنین سازمان بهداشت جهانی، بکارگیری مواد طبیعی برای از بین بردن عوامل بیماری‌زا را توصیه نموده است. قرن‌هاست که گیاهان به عنوان داروی سنتی و جایگزین در سراسر جهان به عنوان دارو و درمان برای بیماری‌های متعدد و بیماری‌های عفونی مورد استفاده قرار گرفته‌اند و استفاده از مواد موثره گیاهان دارویی یکی از روش‌های مناسب کنترل و مهار میکروارگانسیم‌های مختلف است که نگرانی‌های مصرف ترکیبات شیمیایی را در پی ندارد که در نتیجه طراحی و فرمولاسیون یک ترکیب آنتی‌سپتیک و ضد عفونی کننده قوی بر پایه مواد گیاهی و نانوذرات ضرورت می‌یابد (Atefi, 2021).

زنیان با نام علمی *Trachyspermum Copticum* گیاهی یک ساله و متعلق به خانواده چتریان می‌باشد. بیشترین ترکیبات تشکیل دهنده اسانس بذر زنیان، تیمول (۶۴/۹ درصد) و گاماترپنین (۱۱/۱ درصد) می‌باشد. زنیان در طب سنتی به عنوان ضد اسپاسم، محرک، مقوی و ضد نفخ کاربرد دارد، اما مطالعات جدید نشان داده است که این گیاه دارای اثرات سم زدایی آفلاتوکسین‌ها و تخریب آفلاتوکسین G_1 را دارد. اسانس میوه زنیان و نیز عصاره‌های مختلف قسمت‌های گوناگون گیاه رشد باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت آلوده کننده مواد غذایی را از طریق تداخل با عملکرد طبیعی غشاء سیتوپلاسمی باکتری‌ها مهار می‌کند (احمدپور، ۱۳۹۷).

گیاه شیرین بیان با نام علمی *Glycyrrhiza glabra L* از خانواده بقولات است که به واسطه دارا بودن ترکیبات دارویی و مهم در ریشه و ریزوم آن در دنیا حائز اهمیت است. ریشه شیرین بیان دارای ترکیبات متعددی نظیر قندهای مختلف، فلاوونوئیدها، استرول‌ها، اسیدهای آمینه، صمغ، نشاسته، اسانس روغنی و ساپونین می‌باشد. شیرین بیان به دلیل خواص بیولوژیک نظیر فعالیت ضد التهابی، ضد توموری، محرک سیستم ایمنی، ضد باکتری، ضد ویروس و آنتی‌اکسیدان را دارا است (خان احمدی، ۱۳۹۲).

اسطوخودوس از خانواده نعنائیان با نام علمی *Lavandula stoechas* گیاهی علفی، معطر و همیشه سبز است. اثرات درمانی بسیاری در کتب درمانی برای اسطوخودوس ذکر شده است، مانند درمان بیماری‌های عفونی، سیاه سرفه، برونشیت

اولیگوری، اسهال، حصبه، ورم مئانه، عفونت قارچی واژینال و ... می باشد. اسانس اسطوخودوس از برگ‌ها و گل‌های گیاه به دست می‌آید و دارای ترکیبات مختلف شامل استات، اسید بوتریک، اسید پروپیونیک، اسید والریک و لینالیل آزاد می‌باشد. اثر ضدباکتریایی اسانس گیاه اسطوخودوس روی باکتری‌های گرم منفی و مثبت و عوامل قارچی نشان می‌دهد که اسانس اسطوخودوس می‌تواند جایگزین داروهای شیمیایی برای درمان عفونت‌های میکروبی گردد (یعقوبی، ۱۳۹۴).
نعناع فلفلی با نام علمی *Mentha piperita* L حاوی مواد موثره‌هایی شامل یک درصد روغن فرار، رزین، فالونوئیدها، فنل‌ها، کاروتن، بتائین و تانن است. غالباً بیشترین ترکیب تشکیل دهنده‌ی اسانس آن منتول است که از خانواده‌ی مونوتراپن اکسیژن دار است. نعناع فلفلی دارای خاصیت آنتی‌اکسیدان، خواص آنتی‌میکروبی بواسطه داشتن فعالیت ضد ویروسی (هرپس ویروس‌ها، آنفولانزا و نیوکاسل)، فعالیت ضد باکتریایی (باکتری گرم منفی) و خاصیت ضد قارچی (کاندیدا آلبیکنس، آسپرژیلوس آلبوس و قارچهای درماتوفیت) است (علایی، ۱۳۸۶).

نانومواد سولفیدی و اکسید فلزات دارای خواص ضد باکتریایی، ضد قارچی، ضد ویروسی بسیار خوبی هستند و ترکیبات ضد عفونی که شامل این نانومواد باشند، می‌توانند دارای خاصیت ضد باکتریایی، ضد قارچی، ضد ویروسی بسیار موثری باشند. نانوذرات اکسید روی، یک نانوذره غیرسمی و زیست سازگار است. مکانیسم‌های مختلفی برای فعالیت ضد میکروبی اکسید روی گزارش شده است که شامل انتشار ROS است که با آسیب رساندن به DNA، غشای سلولی و پروتئین‌های سلولی باعث ایجاد استرس اکسیداتیو می‌شود که باعث تجزیه دیواره سلولی و متعاقباً نشت محتویات سلول و در نهایت مرگ سلولی می‌شود. همچنین انتشار Zn^{2+} مکانیسم دیگری است که می‌تواند به غشای سلولی آسیب برساند و درون محتویات داخل سلولی نفوذ کند. همچنین سایش ZnO باعث افزایش نفوذپذیری غشایی می‌شود. فرمولاسیون ویژه "ترکیب ضد عفونی کننده و آنتی‌سپتیک نانو ساختار با استفاده از گیاهان زنیان، شیرین بیان، اسطوخودوس و نعناع فلفلی" سعی در افزایش توان آنتی‌سپتیک و کاهش سوء ضد عفونی کننده‌های شیمیایی و پایداری مناسب با بهره‌گیری مواد موثره شامل عصاره هیدروالکلی گیاهان زنیان، شیرین بیان، اسطوخودوس و نعناع فلفلی، نانوذرات اکسید روی، اتیلن دی‌آمین تراستیک اسید، استیک اسید، هیدروکلریک اسید، اتانول و آب است که همکاری متقابل با همدیگر ایجاد می‌کنند و سبب بروز خواص آنتی‌باکتریال، آنتی‌ویرال، آنتی‌فانگال می‌گردد (عاطفی، ۱۴۰۰). با بررسی مقالات، مطالعات مروری انتشار یافته در مجلات معتبر داخلی و بین‌المللی و بررسی در سایت WIPO، Google Patent، FPO، LENS و مرکز مالکیت معنوی، تاکنون مطالعه یا اختراع مشابهی در مورد ترکیب مورد ادعا جهت ساخت مواد آنتی‌سپتیک و ضد عفونی کننده وجود نداشته که دال بر گام ابتکاری و نوآوری در این محصول است.

روش تحقیق:

فرآیند تهیه عصاره هیدروالکلی گیاهان زنیان، شیرین بیان، اسطوخودوس و نعناع فلفلی با استفاده از حلال آب و تکنیک ماسراسیون، عصاره به مدت ۶ ساعت و در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد و میکس شدن مداوم در انکوباتور شیکردار، بدون

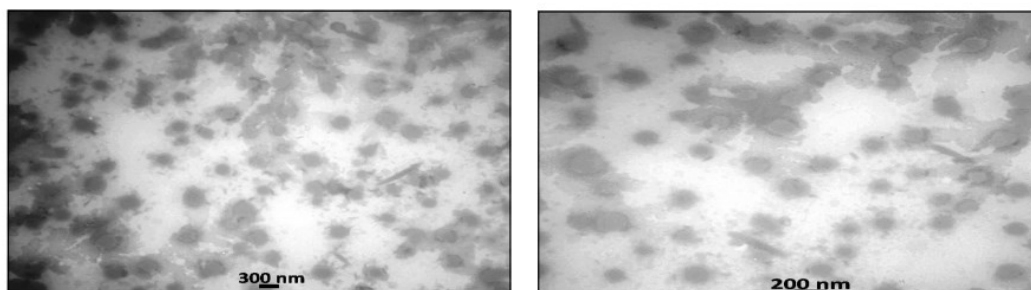
ایجاد تغییر در ماهیت مواد موثره، بیشترین میزان عصاره گیاهی استخراج گرفت. صاف نمودن عصاره با استفاده از گاز استریل جهت جدا کردن رسوبات از محلول و سپس صاف نمودن نهایی با استفاده از کاغذ صافی والتمن صورت گرفت. نانوذرات اکسید روی با غلظت ۴۰ میلی گرم در میلی لیتر و قطر ذرات ۱۰۰-۲۰۰ نانومتر (NAMAGO، ایران) مورد استفاده قرار گرفت. پس از کاهش دمای محلول اکسید روی، EDTA (مرک، آلمان) مطابق فرمول برداشت و محلول در حین اختلاط اضافه شد. پس از میکس مناسب ترکیبات فوق، عصاره های گیاهی افزوده شد. در نهایت برای به حجم رساندن نهایی محول، آب مقطر افزوده شد.

شناسایی فاز نانویی با تکنیک های پراکندگی نور پویا (DLS) و میکروسکوپ الکترونی (TEM) انجام گرفت. فعالیت ضد میکروبی در برابر باکتری های گرم مثبت، گرم منفی، قارچ های فرصت طلب، و اسپور باکتری با استفاده از روش چاهک مورد سنجش قرار گرفت.

یافته ها:

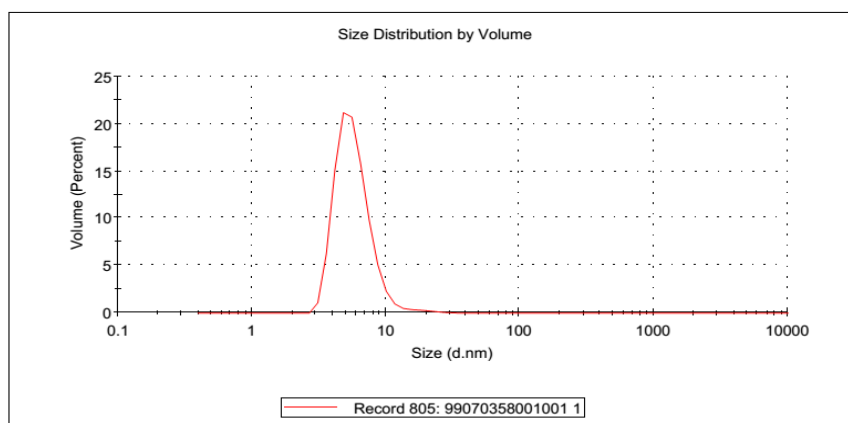
بر اساس داده های DLS، اندازه متوسط نانوساختارهای سنتز شده ۲۱۱/۶۶ نانومتر بود. تصویربرداری TEM از نانوساختار طراحی شده در شکل ۱ و ۲ مطابق با اندازه به دست آمده با DLS بود. بر طبق آزمایشات صورت گرفته محصول مورد ادعا توانایی حذف میکروارگانیسم هایی نظیر اشرشیا کلی، استافیلوکوکوس اورئوس، پسودوموناس آئروژینوزا، کاندیدا آلبیکنس را به میزان کاهش ۷ لگاریتیمی دارا بود (جدول ۱)، همچنین اسپور باسیلوس سوبتلیس را به میزان کاهش ۲ لگاریتیمی دارد که در مجموع نشان دهنده تاثیر بسیار قوی و موثر ترکیب مورد ادعا بر روی انواعی از باکتری های گرم مثبت و گرم منفی، قارچ و اسپور نشان می دهد.

شکل و جداول:



شکل ۱: تصویر میکروسکوپ الکترونی TEM از ترکیب نهایی

Z-Average (d.nm): 211.7 **Peak 1:** 5.941 **% Volume:** 99.9 **St Dev (d.nm):** 2.308
Pdl: 0.966 **Peak 2:** 282.4 **% Volume:** 0.0 **St Dev (d.nm):** 74.67
Intercept: 0.661 **Peak 3:** 4417 **% Volume:** 0.1 **St Dev (d.nm):** 1154
Result quality : Refer to quality report



شکل ۲: نتیجه آنالیز DLS که میانگین ابعاد نانوذرات را ۲۱۱٫۷ نانومتر گزارش کرده است.

| Microorganism | Number of inoculated microorganisms | Density (%) | Time (min) | Result | Reduction |
|--------------------------------|-------------------------------------|-------------|------------|-------------------|-----------|
| <i>E. coli</i> | 1.53×10^7 | 1X | 10 | <10 | >99.9999% |
| <i>S. aureus</i> | 3.3×10^7 | 1X | 10 | <10 | >99.9999% |
| <i>P. aeruginosa</i> | 1.05×10^7 | 1X | 10 | <10 | >99.9999% |
| <i>C. albicans</i> | 3.95×10^6 | 1X | 10 | <10 | >99.999% |
| <i>Bacillus subtilis Spore</i> | 1.18×10^5 | 1X | 15 | 1.6×10^3 | 98.64% |

جدول ۱: نتایج آزمایش اثربخشی ترکیب با استفاده از روش چاه ارائه شده است. اثر ترکیب ادعا شده بر روی اشرفیسا کلی، استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس آنروژینوزا باعث کاهش ۷ لگاریتمی سویه ها شد. اثر ترکیب ادعا شده بر روی سویه قارچی کاندیدا آلیکنس و اسپور باسیلوس سوبتیلیس به ترتیب باعث کاهش ۶ و ۲ لگاریتمی شد. بنابراین با توجه به استاندارد ترکیبات ضد عفونی کننده، ترکیب ادعا شده به دلیل توانایی در حذف باکتری های مختلف، قارچ ها و اسپورهای باکتریایی و دسته های ویروسی، در دسته ترکیبات ضد عفونی کننده سطح بالا دسته بندی می شود.

بحث و نتیجه گیری:

ترکیب ضد عفونی کننده و آنتی سبتیک نانوساختار با استفاده از گیاه آنگوزه یک ترکیب اکولوژیکی و دوستدار محیط زیست بوده که علاوه بر کاهش بار میکروبی هوا، برای ضد عفونی کردن و حذف بیوفیلم از سیستم توزیع آب و تمامی سطوح، کف سالن ها، وسایل حمل و نقل، تجهیزات مورد استفاده در صنایع غذایی و نیز مراکز پرورش دام، طیور و آبزیان (ضد عفونی سطوح، ابزار آلات، دانخوری، آبخوری و سایر تجهیزات) و کشتارگاه ها، کشاورزی و صنایع وابسته، مراکز بهداشتی و درمانی نظیر بیمارستان ها، درمانگاه و ...، اماکن عمومی و نیز مصارف خانگی را دارا می باشد. این ترکیب قابلیت عرضه به صورت محلول شستشو، پماد یا کرم، ژل، افشانه گازی، استفاده به صورت مه پاشی یا اسپری و سایر روش های متداول دارا می باشد.

از مهمترین مزایای کلی این اختراع، استفاده از گیاهان دارویی بومی جهت جایگزینی ترکیبات شیمیایی ضد عفونی کننده، امکان تولید در مقیاس نیمه صنعتی و صنعتی، عدم مقاومت میکروارگانیسم ها، غیر سمی بودن، عدم آسیب به محیط زیست، اثر بخشی قوی، فاقد اثر مخرب بر روی ساختمان و تجهیزات، استفاده گسترده از آن جهت ضد عفونی کردن در انسان، دام، طیور و آبزیان اشاره کرد. این ترکیب دارای گواهی ثبت اختراع به شماره ۱۰۵۵۱۰ از مرکز مالکیت معنوی (سازمان ثبت اسناد و املاک کشور) می باشد و در سبد محصولات شرکت تحقیقاتی و تولیدی ایستا نانو فارمد آریا قرار گرفته است.

منابع:

۱-عاطفی، عارف؛ دهقان، پریسا. ترکیب ضدعفونی کننده و آنتی سپتیک نانو ساختار با استفاده از گیاه آنغوزه، مرکز مالکیت معنوی، شماره اختراع ۱۰۱۷۰۷.

2-Atefi, Aref. The Disinfectant and Antiseptic Nano- Compound using the Ferula Assa-Foetida (NANO HING GUARD®). The 8th International Biennial Conference on Ultrafine Grained and Nanostructured Materials (UFGNSM2021). 2021

۳-احمدپور، هانیه. مقایسه اثر عصاره متانولی و اسانس گیاه زنیان به اشرشیا کلی و انتروکوکوش فکالیس. فصلنامه بیماری های عفونی و گرمسیری، ۲۳(۸۲)، ۱۳۹۷.

۴-خان احمدی، معصومه. مروری بر گیاه دارویی شیرین بیان. فصلنامه گیاهان دارویی، ۱۲(۲)، ۱۳۹۲.

۵-یعقوبی، کیوان. اثرات درمانی گیاه اسطوخودوس. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی گرگان، ۱۷(۴)، ۱۳۹۴.

۶-علایی، شیما. مقایسه اسانس و تغییرات ماده ی موثره منتول در گیاه نعنای فلفلی در سه منطقه ی مختلف از استان کرمانشاه. مجله علمی پژوهشی گیاه و زیست بوم، ۹، ۱۳۸۶.

۷-عاطفی، عارف؛ دهقان، پریسا؛ دهقان، حسین. ترکیب ضدعفونی کننده و آنتی سپتیک نانو ساختار با استفاده از عصاره گیاهان زنیان، شیرین بیان، اسطوخودوس و نعنای فلفلی، مرکز مالکیت معنوی، شماره اختراع ۱۰۵۵۱۰.