

بررسی اثرات ضد میکروبی اسانس آویشن و سنبله ارغوانی و عصاره سماق و بنه به طریقه *In vitro*

- مسعود خیامی، دانشیار گروه زیست‌شناسی دانشگاه ارومیه
- مجید نوجوان اصغری، دانشیار گروه زیست‌شناسی دانشگاه ارومیه
- بتول رسولی، دانشجوی کارشناسی ارشد گروه زیست‌شناسی دانشگاه ارومیه

تاریخ دریافت: بهمن ماه ۱۳۷۹ تاریخ پذیرش: مرداد ماه ۱۳۸۰

✓ Pajouhesh & Sazandegi, No 54 PP:36-39

Antibacterial effects of essential oils of *Stachys* and *Thymus* and extract of *Sumach* and wild Maunt Atlas *Pistacia* *in vitro*.

By: Masoud Khayami, Associate Professor, Department of Biology University, of Urmia

Majid Nogavan Asghari, Associate Professor, Department of Biology, University of Urmia

Batol Rasoli, M.Sc. Student of Biology, Department of Biology, University of Urmia

The antibacterial effects of essential oils of *Stachys inflata* Benth, *Thyms hotschyanus* Bioss & Hohen, and the extracts of *Rhus coraria* L. and *Pistachia atlantica* Desf. sub species *Kurdica* were in Vitro on three bacteria: *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. We used Tube Dilution Method for essential oils and Disk Diffusion Method for extract of plants. *Stachys* was collected from vicinity of Jolfa and three other plants from vicinity of Urmia. To take essential oils fresh leaves of *Stachys* and Thyme were used and extract of *Sumach* and wild Maunt Atlas *Pistacia* took from dried fruits. The results indicate that essential oils of *Stachys* and *Thymus* showed a significant effect on *K. pneumoniae* which was equal to the effect of Ceftazidin. The essential oils of both plants were effective on *Sta. aureus* but essential oil of *Stachys* showed a higher effect which was same as the effect of Tobramycin and higher than Erythromycin. The extract of wild Maunt Atlas *Pistachia* had no effect on *K. pneumoniae*, but extract of *Sumach* showed a high effect, which was higher than the effect of Amoxycillin. The extract of both plants had little effect on *Sta. aureus* when compared with related antibiotics. The extract of *Sumach* and Maunt Atlas *Pistachia* were effective on *Sta. epidermidis* and their effect was higher than Erythromycin.

Keywords: Antimicrobial, Essential oil, Extract, Antibiotic, Disk diffusion, Tube dilution.

چکیده

اثرات ضد میکروبی اسانس آویشن و سنبله ارغوانی با استفاده از روش رقت لوله‌ای و اثرات ضد میکروبی عصاره سماق و بنه با روش انتشار دیسک مورد مطالعه و با آنتی‌بیوتیک‌هایی که علیه این باکتریها توصیه می‌شوند مقایسه گردیدند. گیاه سنبله ارغوانی از اطراف شهرستان جلفا و آویشن و سماق و بنه از اطراف ارومیه جمع آوری شدند. از یوه سماق و بنه عصاره‌گیری و از برگ‌های جوان آویشن و سنبله ارغوانی اسانس‌گیری به عمل آمد و روی باکتریهای انتخاب شده اثر داده شدند. نتایج حاصله نشان می‌دهد که اسانس آویشن و سنبله ارغوانی اثر ضد باکتریایی قوی در حد آنتی‌بیوتیک سفتازیدین بر باکتری *Klebsiella pneumoniae* نشان داده‌اند، همچنین عصاره سماق نیز به‌طور موثر و قوی‌تر از آموکسیسیلین روی این باکتری عمل کرده است. اسانس آویشن و سنبله ارغوانی اثرات ضد باکتریایی *staphylococcus aureus* روی روى داشته‌اند. در این مورد اسانس سنبله ارغوانی قوی‌تر بوده و در حد توبراپاکسین و قوی‌تر از اریتروماسین عمل کرده است. عصاره سماق و *Sta. epidermidis* داشته‌اند و قوی‌تر از اریتروماسین و کلوکسیلین عمل نموده‌اند، با توجه به خاصیت ضد باکتریایی خوبی که اسانس و عصاره این گیاهان از خود نشان داده‌اند استفاده از آنها به عنوان داروی ضد باکتری کاملاً محتمل بنظر می‌رسد.

کلمات کلیدی: ضد میکروبی، اسانس، عصاره، آنتی‌بیوتیک، انتشار دیسک، رقت لوله‌ای.

انسان این گیاه اثر میکروبکشی قوی دارد^(۶). در سال ۱۹۹۰ اثرات ضد میکروبی تعدادی از گونه‌های جنس مریم گلی بومی جزایر قناری با روش انتشار دیسک کاغذی مورد مطالعه قرار گرفته و نشان داده شده که تعدادی از باکتریهای گرم منفی و بعضی از گرم مثبتها در برابر ترکیبات استخراج شده از این گیاهان حساس بوده‌اند^(۵). در سال ۱۹۸۷ مطالعاتی بر روی خواص ضد میکروبی گونه‌ای گیاه از تیره افوریاپسیه^۱ انجام گرفته و نشان می‌دهد که عصاره آبی و الکلی این گیاه روی نوع باکتری موثر بوده است^(۱۵). در سال ۱۹۹۷ انسانهای استخراج شده از دو گونه گیاه گل کاغذی بومی یونان فعالیت ضد میکروبی معنی‌داری در مقابل شش نوع باکتری گرم منفی و گرم مثبت از خود نشان داده است، در این بررسی روش رقت لوله‌ای بکار برده شده و از آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد برای مقایسه میزان مؤثر بودن انسانهای استفاده شده است^(۹). در سال ۱۹۹۳ عصاره^۲ گیاه بومی آرژانتین جهت بررسی فعالیت ضد میکروبی آنها مورد آزمایش قرار گرفته که از بین آنها عصاره‌های ۱۲ گونه بر روی یک نوع باکتری و عصاره‌های ۱۰ گونه بر روی نوع دیگری باکتری و عصاره^۴ گونه بر روی یک نوع قارچ مؤثر بوده است. در انسان آویشن ۳۶ ترکیب ترپنی و ترپنوتیک شناسایی شده که مهمترین آنها تیمول و کاراکرول است که این دو ماده بخصوص تیمول خاصیت شدید ضد میکروبی دار، در انسان سنبله ارغوانی^{۲۲} ماده شیمیایی شناخته شده ولی در مورد خواص ضد میکروبی آنها گزارش نشده است^(۸). در همه قسمتهای سماق تان زیادی وجود دارد مثلاً در کرک‌های میزان تان تا ۲۷ درصد نیز می‌رسد، در پوست و کرک بنه نیز تان وجود دارد^(۳).

مواد و روشها

در این بررسی اثرات ضد میکروبی انسان دو گیاه از تیره نعناع و عصاره دو گیاه از تیره پسته بر روی سه نوع باکتری مورد آزمایش قرار گرفته است.

گیاهان مورد آزمایش

آویشن کوهی (*Thymus kotschyanus* Biss & Hohen) و سنبله ارغوانی (*Stachys inflata* Benth) از تیره نعناع سماق (Rhus cotinia L) و بنه از تیره (Pistachia atlantica Desf. ssp. species) آویشن (Kurdica Zohari) Rech f) و بنه از دره شهدابی ارومیه و سماق از اطراف ارومیه و سنبله ارغوانی از حوالی جلفا جمع آوری گردیده و در هر باریوم داشتگاه ارومیه شناسائی شدند^{(۲)، (۵)، (۶)}.

باکتریهای مورد آزمایش

Klebsiella pneumoniae (PTCC 1053)

Staphylococcus aureus (PTCC 1114)

Staphylococcus epidermidis (PTCC 1112)

باکتریها از مرکز کلکسیون باکتریها و قارچهای ایران (P.T.CC) تهیه شدند. برای ارزیابی دقیق‌تر، اثر ضد باکتریائی انسانهای و عصاره‌ها با اثر آنتی‌بیوتیک‌های که بر علیه این باکتریها توصیه می‌شوند^(۱۱) مقایسه شده‌اند. این آنتی‌بیوتیک‌ها عبارتند از:

جدول شماره ۱- میانگین اثرات ضد میکروبی انسانهای سنبله ارغوانی و آویشن بر باکتری *Kl. pneumoniae* مقایسه آن با چند آنتی‌بیوتیک استاندارد با روش رقت لوله‌ای آموکسی سیلین = AMX، سفتازین = CF، جنتامایسین = GM، آویشن = Thy، سنبله ارغوانی = Sta، شاهد = Cnt

غله‌ت (mg/5mL)	Cnt (۰)	Sta (۱۲/۵)	Sta (۲۵)	Sta (۵۰)
میانگین جذب (nm)	۰/۷۶۱۶	۰/۶۹۹۳	۰/۲۶۰۳	۰/۲۰۰۷

غله‌ت (mg/5mL)	Thy (۱۲/۵)	Sta (۲۵)	Thy (۵۰)
میانگین جذب (nm)	۰/۶۸۵۷	۰/۳۰۱	۰/۲۰۸

غله‌ت (mg/5mL)	GM (۵۰)	CF (۵۰)	AMX (۵۰)
میانگین جذب (nm)	۰/۰۷۱	۰/۱۷۸۷	۰

جدول شماره ۲- میانگین اثرات ضد میکروبی انسانهای سنبله ارغوانی و آویشن بر باکتری *Sta. aureus* مقایسه آن با چند آنتی‌بیوتیک استاندارد با روش رقت لوله‌ای آریتمایسین = E، توبرامایسین = TOB، آویشن = Thy، سنبله ارغوانی = Sta، شاهد = Cnt، نکومایسین V

غله‌ت (mg/5mL)	Cnt (۰)	Sta (۱۲/۵)	Sta (۲۵)	Sta (۵۰)
میانگین جذب (nm)	۰/۵۳۳	۰/۲۴۴۳	۰/۱۰۶۳	۰/۰۴۱

غله‌ت (mg/5mL)	Thy (۱۲/۵)	Sta (۲۵)	Thy (۵۰)
میانگین جذب (nm)	۰/۴۹۵۳	۰/۳۲۳۵	۰/۲۵۴۷

غله‌ت (mg/5mL)	GM (۵۰)	CF (۵۰)	AMX (۵۰)
میانگین جذب (nm)	۰	۰/۰۲۲۳	۰/۱۴۹

معین استفاده کرد و حایگزینی بی ضرر برای آنتی‌بیوتیکها که مصرف آنها معمولاً با عوارض جانبی همراه است پیدا نمود. اگرچه استفاده از گیاهان علیه بعضی بیماریهای عفونی سابقه زیادی دارد ولی در سالهای اخیر اثرات ضد میکروبی تعدادی از گونه‌های گیاهی با روش‌های علمی مورد مطالعه قرار گرفته‌اند که به بعضی از آنها اشاره می‌شود در سال ۱۳۷۴ همکاران اثر ضد میکروبی انسان^۲ گیاه *Artemisia haussknechtii* را روی هشت میکروگانیسم برسی و با آنتی‌بیوتیک‌های مربوطه مقایسه نشان داند و که

مقدمه

اگرچه تنوع گونه‌های گیاهی داروئی در کشور ما زیاد است ولی شناخت دقیقی از اثرات ضد میکروبی آنها در درست نیست^(۱). از طرف دیگر استفاده از گیاهان به بیوتیکها باعث مقاومت روزافزون باکتریها به این داروها شده است به طوریکه کارآئی آنتی‌بیوتیکها روز به روز محدودتر می‌شود. جون تعدادی از گیاهان خاصیت ضد میکروبی از خود بروز می‌دهند^(۱۴، ۱۲، ۷). می‌توان با شناخت این گیاهان از آنها علیه میکروبها بیماری‌زای

عصاره کاملاً غلیظ شود به مدت ۴۸ ساعت در آون و در دمای ۴۰ درجه قرار داده شد (۱۳). آزمایشات بصورت طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار پیاپید گردید. در روش رقت لوله‌ای مقادیر ۵۰ و ۲۵ و ۱۲/۵ و ۱ میلی گرم اسنس هر گیاه به لوله‌ای آزمایش محتوی ۵ میلی لیتر پیتون و اتر اضافه گردید. لوله‌های شاهد حاوی ۵ میلی لیتر محیط کشت و فاقد هر گونه دارو در نظر گرفته شد. لوله‌ها با سوسپانسیونی از باکتری که تیغی آن معادل استاندارد ۰/۵ مک فارلن و حاوی تقریباً 10×10^8 عدد باکتری در هر میلی لیتر بوده تلقیح شدند و بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون در ۳۷ درجه تیرگی محیط کشت که نشانه رشد باکتریها است یا یک دستگاه اسپکتروفوتومتر بک من مدل ۴۰۵۰ میکرومیکری شد. در آزمایش به روش انتشار دیسک محیط کشت مول هینتون آغاز به ضخامت ۵ میلی متر در پتربال دیش ریخته شد و بعد از انجام دیسک خالی فاقد دارو بعنوان شاهد همراه هر نمونه روی پتربال دیش وارد شده، پتربال مورد بررسی قرار گرفتند و قطر هاله ممانعت رشد باکتریها با یک کولیس اندازه گیری شد.

نتایج

نتایج بدست آمده از اثرات ضد میکروبی اسنس آویشن و سنبله ارغوانی بر روش رقت لوله‌ای و مقایسه آن با چند آنتی بیوتیک استاندارد به صورت اثر روی باکتری *Kal. pneumoniae* در جدول شماره ۱، اثر روی باکتری *Sta. aureus* در جدول شماره ۲، اثر روی باکتری *Sta. epidermidis* در جدول شماره ۳ و نتایج بدست آمده از اثرات ضد میکروبی عصاره سماق و بنه و مقایسه آن با چند آنتی بیوتیک استاندارد بر روش انتشار دیسک به صورت اثر روی باکتری *Kl. pneumoniae* در جدول شماره ۴، اثر روی باکتری *Sta. aureus* در جدول شماره ۵ و اثر روی باکتری *Sta. epidermidis* در جدول شماره ۶ عبوده است.

بحث و نتیجه گیری

اسنس آویشن و سنبله ارغوانی اثر ضد باکتریایی خوبی در حد آنتی بیوتیک سفتازیدین بر باکتری *Kl. pneumoniae* نشان داده‌اند در مقایسه با کار Bruneton (۸) به نظر می‌رسد تیمول و کارواکرول که خاصیت ضد میکروبی شدیدی از خود نشان می‌دهند ترکیبات اصلی ضد باکتریایی اسنس آویشن هستند، همچنین عصاره سماق نیز فعالیت خوبی علیه *Kl. pneumoniae* داشته است به طوری که از آموکسی‌سیلین قوی‌تر بوده، فعالیت ضد باکتریایی عصاره سماق را تا حد زیادی مربوط به وجود مقادیر زیاد تانن در آن می‌دانند (۹). اسنس آویشن و سنبله ارغوانی اثرات ضد باکتریایی خوبی روی *Sta. aureus* در این مورد اثر اسنس سنبله ارغوانی قوی‌تر بوده و در حد توبرامایسین و قوی‌تر از اریترومایسین عمل کرده

جدول شماره ۳- میانگین اثرات ضد میکروبی اسنسهای سنبله ارغوانی و آویشن بر باکتری *Sta. epidermidis* مقایسه آن با چند آنتی بیوتیک استاندارد با روش رقت لوله‌ای TOB، جنتامايسین = GM، آویشن = Thy، سنبله ارغوانی = Sta، شاهد = Cnt، کلوکاسلین = CX

غلظت (mg/5mL)	Cnt (۰)	Sta (۱۲/۵)	Sta (۲۵)	Sta (۵۰)
میانگین جذب (nm)	۰/۲۹۲۳	۰/۲۷۰۷	۰/۲۰۸	۰/۱۶۱۳

غلظت (mg/5mL)	Thy (۱۲/۵)	Sta (۲۵)	Thy (۵۰)
میانگین جذب (nm)	۰/۲۵۷۳	۰/۱۶۷۷	۰/۰۹۱۷

غلظت (mg/5mL)	GM (۵۰)	CF (۵۰)	AMX (۵۰)
میانگین جذب (nm)	۰	۰	۰

جدول شماره ۴- میانگین اثرات ضد میکروبی دو گیاه سماق و بنه بر باکتری *Kl. pneumoniae* و مقایسه آن با چند آنتی بیوتیک استاندارد با روش انتشار دیسک AMX، سفالوتین = CF، جنتامايسین = GM، بنه = Pis، سماق = Rhu، شاهد = Cnt

(mg/Paper disk)	Cnt (۰)	Rhu (۰/۵)	Rhu (۱)	Rhu (۲)
قطر هاله عدم رشد (mm)	۰	۱۰/۱۳	۱۱/۳۶	۱۲/۱۸

(mg/Paper disk)	Pis (۰/۵)	Pis (۱)	Pis (۲)
قطر هاله عدم رشد (mm)	۰	۰	۰

(mg/Paper disk)	GM (۰/۰۱)	CF (۰/۰۳)	AMX (۰/۰۲۵)
قطر هاله عدم رشد (mm)	۱۸/۶۱	۱۸/۸	۸/۸

پخار آب را سریعاً به مخزن جمع آوری هدایت کند. دمای این مخزن صفر درجه تنظیم شده و پخار آب در این دما میان پیدامی کند و از اسنس ها جدا می‌شود و اسنس ها از طریق لوله های ظرفی به طرف مخزن دوم که زیر صفر درجه است حرکت می‌کنند و در آنجا میان می‌شوند (۱۲). عصاره الکلی از میوه های سماق و بنه با الکل ۷۰ درصد به شرح زیر تهیه گردید: ۱۰ میلی لیتر اتانول ۷۰ درصد به هر گرم پودر گیاهی اضافه و ۲۴ ساعت در همزن قرار داده شد، سپس صاف و بوسیله دستگاه تقطیر در خلاء عصاره از حلال جدا گردید و برای اینکه گیاهان جمع آوری شده در سایه خشک و سپس پودر شدند. اسنس از برگ های جوان آویشن و سنبله ارغوانی توسط یک دستگاه اسنس گیری بر روش تقطیر آبی به شرح زیر تهیه شد. پودر گیاه و آب در مخزن دستگاه حرارت داده شده است. دستگاه از سر به منبع ازت و در انتهای به پمپ خلاء متصل است تا اسنس ها و

جدول شماره ۵- میانگین اثرات ضد میکروبی دو گیاه سماق و بنه بر باکتری *Sta. aureus* و مقایسه آن با چند آنتی بیوتیک استاندارد با روش انتشار دیسک
اریترومایسین = E، توبیرامایسین = TOB، جنتامایسین = GM، بنه = Pis، شاهد = Cnt، و نکومایسین V

(mg/Paper disk)	Cnt (۰)	Rhu (۰/۵)	Rhu (۱)	Rhu (۲)
قطر هاله عدم رشد (mm)	۰	۱۰/۸۶	۱۲/۸۵	۱۴/۹

(mg/Paper disk)	Pis (۰/۵)	Pis (۱)	Pis (۲)
قطر هاله عدم رشد (mm)	۸/۲۳	۹/۵۸	۱۲/۳۱

(mg/Paper disk)	GM (۰/۰۱)	CF (۰/۰۳)	AMX (۰/۰۲۵)
قطر هاله عدم رشد (mm)	۲۷/۷۶	۲۷/۷۵	۳۱/۹۵۲۳/۲۳

جدول شماره ۶- میانگین اثرات ضد میکروبی دو گیاه سماق و بنه بر باکتری *Sta. epidermidis* و مقایسه آن با چند آنتی بیوتیک استاندارد با روش انتشار دیسک
توبیرامایسین = TOB، جنتامایسین = GM، بنه = Pis، سماق = Rhu، شاهد = Cnt، کلوكسیلین CX

(mg/Paper disk)	Cnt (۰)	Rhu (۰/۵)	Rhu (۱)	Rhu (۲)
قطر هاله عدم رشد (mm)	۰	۱۱/۱	۱۱/۷	۱۴/۷

(mg/Paper disk)	Pis (۰/۵)	Pis (۱)	Pis (۲)
قطر هاله عدم رشد (mm)	۸/۶۵	۹/۳۳	۱۱/۵۶

(mg/Paper disk)	GM (۰/۰۱)	CF (۰/۰۳)	AMX (۰/۰۲۵)
قطر هاله عدم رشد (mm)	۲۹/۶	۲۹/۷۶	۹/۷۸۶/۶۸

است به طوری که وندیوسوفی و همکاران (۶) نشان داده‌اند انسانس گیاه *Artemisia haussknechtii* (۶) داشته و در مقایسه با آنتی بیوتیک قوی‌تر عمل کرده است. عصاره سماق و بنه هر دو فعالیت خوبی علیه *Sta. epidermidis* داشته‌اند و قوی‌تر از اریترومایسین و کلوكسیلین عمل نموده‌اند. انتشار جغرافیایی گیاهان مورد آزمایش در کشور نسبتاً وسیع بوده و در طب سنتی نیز مورد استفاده قرار می‌گیرند. با توجه به خاصیت ضد باکتریایی خوبی که از خود نشان داده‌اند. استفاده از آنها به عنوان داروی ضد باکتریایی کاملاً متحمل بنظر می‌رسد.

پاورقی

1- Euphorbiaceae

منابع مورد استفاده

- امین، غلامرضا، ۱۳۲۰، گیاهان دارویی سنتی ایران، جلد اول، معاونت پژوهشی وزارت بهداشت درمان و آموزش پزشکی، تهران: ۲۳ صفحه.
- خاتم ساز، محبوبه، ۱۳۶۷، فلور ایران، شماره ۳، مؤسسه تحقیقات چنگلها و مراعات، تهران: ۲۲ صفحه.
- زرگری، علی، ۱۳۶۱، گیاهان دارویی، جلد اول و سوم، انتشارات دانشگاه تهران - تهران.
- قهرمان، احمد، ۱۳۶۵، فلور رنگی ایران، جلد ۱۳ - ۱، موسسه تحقیقات چنگلها و مراعات، تهران.
- مظفریان، ولی الله، ۱۳۷۵، فرهنگ نامه‌ای گیاهان ایران، چاپ فرهنگ معاصر، تهران: ۶۷۱ صفحه.
- وندیوسوفی، جلیل، نصیر احمدی، احمد، ۱۳۷۴، پژوهش بیولوژیکی انسانس گیاه *Artemisia haussknechtii* و سازندگی، شماره ۲۹، زمستان ۱۳۷۴.

7- Anesini, C., C. Peraz, C., 1993. Screening of plants used in Argentine folk medicine for antimicrobial activity, J. of Ethnopharmacology 39(2): 119-128.

8- Bruneton, J., 1995. Pharmacology, phytochemistry of medicinal plants. Lavoisier Publishing, London, 915. pp.

9- Chinov, B., Rovssis, V., 1997. Chemical and Antimicrobial studies of two Helichrysum species of Greek origin, J. of planta Medica, 63: 181-183.

10- Darias, V., Bravol, L., 1990. Cytostatic and Antibacterial activity of some compounds isolated from several Lamiaceae species from the Ganary Island. J. of Planta Medica 59: 70-72.

11- Fauci, S., Beaunald, E., 1988. Harrison. Principles of internal medicine, 14 edition, Mc raw Hill, London: 986. pp.

12- Janssen, A.M., Scheffer, J.C., 1987. Antimicrobial activity of essential oils. J. of Planta Medica 30: 395-397.

13- Meurer, B., Mcbeth, B.L. 1996, Antimicrobiol activity in medicinal plants of the scrophulariaceae and acanthaceae, International journal of Pharmacognosy 34(4): 243-284.

14-

Meurer, B., Mcbeth, B.L. 1996, Antimicrobiol activity in medicinal plants of the scrophulariaceae and acanthaceae, International journal of Pharmacognosy 34(4): 243-284.

15- Peres, M., Monache, F. 1997. Chemical

composition and antimicrobial activity of *Corton urucurana* (Euphorbiaceae) J. of Ethnopharmacology 56(3): 223-226.
16 - Rechinger, K. H. 1969, Flora Iranica, 63: 17, Akademische Druck - U, Verlagsanstalt, Graz-Austria.