فصلنامهٔ علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران
جلد ۲۵، شمارهٔ ۳، صفحهٔ ۴۴۰-۴۲۹ (۱۳۸۸)

بررسی ترکیب شیمیایی و خاصیت ضد میکروبی اسانس *Artemisia aucheri* Boiss.

محدثه محبوبی[1*] و فاطمه قاضیان بیدگلی[2]

۱*- نویسنده مسئول، کارشناس ارشد میکروب‌شناسی، بخش میکروب‌شناسی شرکت داروسازی باریج اسانس، کاشان
پست الکترونیک: mahboubi@barijesssence.com
۲- کارشناس ارشد شیمی، بخش فیتوشیمی و آنالیز دستگاهی، شرکت داروسازی باریج اسانس، کاشان

تاریخ دریافت: آذر ۱۳۸۷ تاریخ اصلاح نهایی: اسفند ۱۳۸۷ تاریخ پذیرش: اردیبهشت ۱۳۸۸

چکیده

Artemisia aucheri Boiss. گیاهی بوته‌ای از خانواده Asteraceae می‌باشد که در سراسر ایران پراکنده است. این گیاه در طب سنتی ایران، به‌عنوان قابض، ضدعفونی کننده، ضد میکروب، ضد انگل و ضد مسمومیت بکار می‌رود. هدف از این مطالعه، ارزیابی خاصیت ضد میکروبی اسانس حاصل از اندام هوایی این گیاه، بر طیف وسیعی از میکروارگانیسمها شامل باکتریهای گرم منفی، گرم مثبت، قارچهای رشته‌ای و مخمر با استفاده از روش انتشار در آگار (دیسک دیفیوژن) و روش رقت‌سازی در لوله (میکروبراث دایلوشن) بود. شناسایی اجزای اسانس با استفاده از GC و GC/MS وجود ٥٤ ترکیب را نشان داده که مجموعاً ۹۸٪ از کل اسانس را تشکیل می‌دهند. ژرانیل استات (۱۷/۲٪)، آلفا-سیترال (۱۷/۱٪)، لینالول (۱۲/۷٪)، ژرانیول (۱۰/۷٪) و Z-سیترال (۱۰/۵٪) از اجزای اصلی اسانس می‌باشند. نتایج مطالعات ضد میکروبی نشان داد که اثر ضد میکروبی اسانس درمنه کوهی با افزایش غلظت، افزایش می‌یابد. اسانس حاصل از اندام هوایی گیاه، اثر ضد قارچی بسیار خوبی نشان داد. اثر ضد قارچی اسانس از اثر ضد باکتریایی آن بیشتر بود. باکتریهای گرم منفی نسبت به باکتریهای مثبت مقاوم‌تر بودند. متوسط میانگین قطر هاله عدم رشد اسانس درمنه کوهی بر باکتریهای گرم مثبت و قارچها به‌ترتیب از اثر وانکومایسین و آمفوتریسینB بیشتر بود و این اثر در باکتریهای گرم منفی از جنتامایسین کمتر بود. مطالعات بیشتری لازم است تا کارایی اسانس در مقابل ایزوله‌های بالینی ارزیابی شود.

واژه‌های کلیدی: *Artemisia aucheri* Boiss.، فعالیت ضد میکروبی، ژرانیل استات، لینالول.

مقدمه

از مهمترین گیاهان بوته‌ای موجود در مراتع، گیاهان جنس درمنه (*Artemisia*) هستند که دارای گونه‌های متعددی بوده و بخش وسیعی از پوشش طبیعی مناطق استپی و نیمه استپی کشور را تشکیل می‌دهند. این جنس، در ایران ۳٤ گونه گیاه علفی یک‌ساله و چند ساله دارد که در سراسر کشور پراکنده شده است. گونه‌های انحصاری ایران عبارتند از: *A. melanolepis* و *A. kermanensis*؛ دیگر گونه‌های جنس آرتمیزیا، علاوه بر ایران در قفقاز، سیبری، ترکمنستان، افغانستان، پاکستان، آسیای مرکزی، ارمنستان، آناتولی، عراق، هیمالیا، تبت و اروپا نیز می‌رویند (مظفریان، ۱۳۷۵). این گونه‌ها به‌ویژه از اوایل پاییز و

بتدریج بعد از مرحله گلدهی و رسیدن بذر که گیاه بتدریج خشک شده و منجر به تبخیر روغنهای فرار موجود در اندامها می‌شود، مورد چرای دام قرار می‌گیرند.

درمنه کوهی یکی از اعضای خانواده Asteraceae و گونه‌ای دائمی است که در شرایط بیش از ۳۰۰ میلی‌لیتر بارندگی سالیانه، رشد می‌کند. شرایط کشت و خصوصیات آن شبیه سایر درمنه‌هاست. درمنه کوهی (*Artemisia aucheri*) گیاهی بوته‌ای به ارتفاع ۲۵ تا ۵۰ سانتی‌متر می‌باشد که در شمال ایران بسیار فراوان است. در طب سنتی ایران، درمنه کوهی با خواص قابض، ضدعفونی کننده، ضد میکروب، ضد انگل و ضد مسمومیت شناخته می‌شود (زرگری، ۱۳٦۸).

مطالعات مختلفی بر روی اسانس حاصل از اندام هوایی درمنه کوهی توسط محققان مختلف انجام شده است. آنالیز شیمیایی اسانس در روش Microextraction نشان داده که ۸،۱-سینئول (۲۲/۸٪)، کریزانتنون (۱۸/۱٦٪)، آلفا-پینن (۸/۳۳٪) و مسیتیلن (۷/٤۱٪) بخش عمده اسانس را تشکیل می‌دهند (Hashemi *et al*., 2007).

وربنول (۲۱/۵٪)، کامفور (۲۱/۰٪)، ۸،۱-سینئول (۸/۳٪) و ترانس وربنول از اجزای اصلی اسانس این گونه (استان سمنان، ایران) گزارش شده‌اند (Sefidkon *et al*., 2002). در مطالعه دیگری کامفور (٤۵/۵٪) و ۸،۱-سینئول (۱٤/۳٪) به‌عنوان اجزای اصلی اسانس معرفی شده‌اند (Mohammadpour *et al*., 2002). لینالول (٤٤/۱٪)، ژرانیل استات (۱۰/۷٪)، α-سیترال (۹/۷٪) و Z-سیترال (۷/۷٪) از اجزای اصلی اسانس درمنه کوهی استان خراسان می‌باشند (Farzaneh *et al*., 2006). از اندام هوایی گیاه درمنه کوهی، ٦ مشتق اکسیژنه ژرانیولی جدا شده است (Rustaiyan *et al*., 1987).

برخی از اثرهای فارماکولوژیکی گیاه درمنه کوهی به خوبی شناخته شده است. اسانس و عصاره درمنه کوهی، دارای اثر ضد انگلی در مقابل تریکوموناس واژینالیس (*Trichomonas vaginalis*) می‌باشد (آزادبخت و همکاران، ۱۳۸۲؛ ضیایی هزارجریبی و همکاران، ۱۳۸۵). عصاره متانولی آن به پروماستیگوتهای لیشمانیا ماژور (*Leishmania major*) آسیبهای متابولیک وارد می‌نماید که این آسیبها برگشت‌ناپذیر هستند (Sharif *et al*., 2006). اسانس به‌طور معنی‌داری دارای اثر دورکنندگی حشرات بوده و با افزایش غلظت، این اثر افزایش می‌یابد (شاکرمی و همکاران، ۱۳۸۲). عصاره درمنه کوهی در خرگوشهای آزمایشگاهی به‌طور معنی‌داری سطح تری‌گلیسرید (TG)، کلسترول تام (TC)، LDL-کلسترول را کاهش و سطح HDL-کلسترول را افزایش داده و سبب کاهش ضایعات آترواسکلروتیک در آئورت می‌شود. این عمل را احتمالاً، از طریق تأثیر عصاره بر لیپوپروتئینهای پلاسما، خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی آن، انجام می‌دهد (Asgari *et al*., 2008).

براساس بررسیهای انجام شده، هیچ مطالعه‌ای روی اثر ضد باکتریایی اسانس درمنه کوهی انجام نشده است. تنها در دو مطالعه، اثر ضد قارچی اسانس آن در مقابل قارچهای پاتوژن گیاهی مطالعه شده است. در مطالعه Farzaneh و همکاران (۲۰۰٦) اسانس در غلظت ٤۱/٤۰٦µl/ml رشد رایزوکتونیا سولانی (*Rhizoctonia solani*) را مهار می‌کند. شاکرمی و همکاران (۱۳۸۵) اثر ضد قارچی این اسانس را در مقابل فیتوپاتوژنهای

R. solani، *Gaeumannomyces graminis*، *Fusarium oxysporum* و Pythium *ultimum* بررسی نمودند و نشان دادند که اسانس از رشد همه قارچها بجز *R. solani* ممانعت می‌کند. بنابراین با توجه به اهمیت و ویژگیهای گیاه درمنه کوهی (*A. aucheri*)، ترکیب شیمیایی و اثر ضد میکروبی اسانس آن در مقابل میکروارگانیسمهای مختلف (باکتری، قارچ و مخمر) در شرایط آزمایشگاه (*in vitro*) مورد مطالعه و بررسی قرار گرفت.

مواد و روشها

جمع‌آوری گیاه و استخراج اسانس

اندام هوایی گیاه *A. aucheri* از رویشگاه طبیعی خود از حوالی کاشان (روستای نشلج) در مرحله بذردهی کامل جمع‌آوری شد. پس از تأیید و شناسایی گیاه توسط هرباریوم مرکزی شرکت داروسازی باریج اسانس، گیاه در سایه و دمای مناسب خشک شد. بعد گیاه آسیاب شده و به روش تقطیر با آب، اسانس آن استخراج گردید و توسط سولفات سدیم رطوبت‌زدایی شد.

شناسایی ترکیبهای شیمیایی اسانس

به‌منظور شناسایی اجزای اصلی، اسانس به دستگاه گاز کروماتوگراف (GC) تزریق شد. جهت یافتن مناسبترین برنامه‌ریزی حرارتی ستون برای دستیابی به بهترین جداسازی، اسانس بدست آمده ابتدا به دستگاه گاز کروماتوگراف متصل به دتکتور FID تزریق شده که پس از جداسازی طیف‌ها جهت شناسایی پیک‌ها به نحو مطلوب از گاز کروماتوگراف مجهز به دتکتور جرمی (GC/MS) استفاده شد. دستگاه گاز کروماتوکراف سیستم HP 6890 مجهز به ستون HP-5MS به طول ٦٠ متر و قطر ۰/۳۲ میلی‌متر که ضخامت لایه فاز ساکن در آن ۰/۲۵ میکرومتر می‌باشد، بکار گرفته شد؛ که در آن از گاز هلیوم با درجه خلوص ۹۹/۹۹ به‌عنوان فاز متحرک استفاده شد. برنامه‌ریزی حرارتی ستون از ٤٠ درجه شروع شده و پس از ۱ دقیقه توقف در همان دما، بتدریج با سرعت ۳ درجه در دقیقه افزایش یافته تا به دمای ۲۳۰ درجه رسید. دمای دتکتور و محفظه تزریق به‌ترتیب ۲۵۰ و ۲۳۰ درجه بوده است. در سیستم GC/MS از همان دستگاه HP 6890 GC متصل به دتکتور طیف‌سنج جرمی MS 5973 با قدرت انرژی یونیزاسیون ۷۰ev و آنالیزور Quadrupole استفاده شد که سرعت گاز هلیوم در هر دو تزریق ۱ میلی‌لیتر در دقیقه بود. دمای حرارتی آون و محفظه تزریق مانند گاز کروماتوگراف برنامه‌ریزی شده بود. ترکیبهای اسانس، با مقایسه اندیس بازداری و تحلیل طیف جرمی با استانداردهای موجود شناسایی و گزارش شد.

سویه‌های میکروبی

میکروارگانیسمهای مورد مطالعه شامل کوکوسهای گرم مثبت: استافیلوکوکوس اورئوس (ATCC 25923)، استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس (ATCC 13518)، استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس (ATCC 12228)، استرپتوکوکوس پیوجنز (ATCC 19615)، استرپتوکوکوس پنومونیا (ATCC 49615)، استرپتوکوکوس آگالاکتیه (سوش بالینی)، استرپتوکوکوس فکالیس (ATCC 29212)، استرپتوکوکوس سنگوئیس (PTCC 1449)، استرپتوکوکوس سالیواریوس (PTCC 1448)، استرپتوکوکوس موتانس (PTCC 1601)، استرپتوکوکوس فسیوم (ATCC 25778) و باسیل‌های گرم مثبت اسپوردار: باسیلوس سرئوس (ATCC 1247)، باسیلوس سوبتیلیس

(ATCC 6051) و باسیل‌های گرم مثبت بدون اسپور: لیستریا مونوسیتوجنز (ATCC 7644) و باسیل‌های گرم منفی بدون اسپور اشرشیاکلی (ATCC 8739)، سالمونلا تیفی‌موریوم (ATCC 14028)، شیگلا دیسانتری (RI 366)، شیگلا فلکسنری (سویه بالینی)، کلبسیلا پنومونیه (ATCC 10031)، پروتئوس ولگاریس (RI 231)، انتروکوکوس آئروجینز (NCTC 10009)، پسودوموناس آئروجینوزا (ATCC 9027)، سراشیا مارسنس (ATCC 13880) و قارچهای آسپرژیلوس نایجر (ATCC 16404) و ایزوله بالینی آسپرژیلوس فلاووس و مخمر کاندیدا آلبیکانس (ATCC 10231) بودند. سویه‌های باکتریایی در دمای ۳۷°C به مدت یک شب روی محیط کشت مناسب (نوترینت آگار، بلاد آگار) کشت شدند. قارچها و مخمر روی سابورو دکستروز آگار در دمای ۳۰°C تلقیح شدند.

ارزیابی اثر ضد میکروبی اسانس درمنه کوهی

اثر ضد میکروبی اسانس درمنه کوهی با استفاده از روش انتشار در آگار (دیسک دیفیوژن) و رقت‌سازی در چاهک (میکروبراث دایلوشن) بررسی شد (NCCLS., 2006b).

در روش انتشار در آگار، دو تا سه کلنی از کشت شبانه باکتری در سرم فیزیولوژی استریل تلقیح شد. قارچها و مخمر مورد بررسی از کشت ۷۲ و ۲۴ ساعته روی محیط سابورو دکستروز آگار در محیط RPMI 1640 (سیگما) که با مورفولین پروپان سولفونیلیک اسید ۰/۱۶۵ مولار بافری شده، معلق شده و کدورت هر سوسپانسیون، با استاندارد نیم مک‌فارلند تنظیم شد (تعداد تقریبی باکتریها: CFU/ml $۱/۵\times۱۰^{۸}$؛ مخمر و قارچ: CFU/m ۱×۱۰^{۵}–$۱۰^{۶}$). با استفاده از سوآب استریل، از سوسپانسیونهای میکروبی تهیه شده در بالا، روی محیط مولر هینتون آگار (باکتریهای کم نیاز) و Todd Hewitt Agar غنی شده با ۰/۵٪ عصاره مخمر و ۰/۰۰۰۱٪ توئین ۲۰ (THA غنی شده) (استرپتوکوکوس‌ها) و سوسپانسیونهای قارچی و مخمر روی سابورو دکستروز آگار کشت گردید. دیسک‌های استریل (پادتن طب، تهران، ایران) با ۲/۵µl، ۵، ۷/۵ و ۱۵ اسانس رقیق شده در ۱۰µl دی‌متیل سولفوکساید روی محیط‌های کشت شده قرار می‌گیرند. از دیسک آنتی‌بیوتیک و دیسک حاوی دی‌متیل سولفوکساید به‌عنوان کنترل مثبت و منفی استفاده شد. کشت‌های باکتریایی در دمای ۳۷°C به مدت ۲۴ ساعت و کشت‌های قارچی در دمای ۳۰°C به مدت ۴۸ ساعت انکوبه شدند. قطر هاله عدم رشد بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری شد (NCCLS., 2006a؛ Nascimento *et al*., 2000).

در روش رقت‌سازی در چاهک، حداقل غلظت مهارکننده رشد (MIC) و حداقل غلظت کشنده رشد (MBC) اسانس بر میکروارگانیسمهای مختلف تعیین شد. همچنین اسانس در دی متیل سولفوکساید ۱۰٪ رقیق شد؛ به نحوی که غلظت اسانس ۰/۰۱۲۵–۸µl/ml باشد. از RPMI 1640 (قارچها و مخمر) (Marchetti *et al*., 2000)، مولر هینتون براث (باکتریهای کم نیاز) (NCCLS., 2006a) و THB غنی شده (استرپتوکوک‌ها) به‌عنوان محیط براث استفاده شد (Carson *et al*., 1996). ۱۰۰ میکرولیتر از هر رقت به هر چاهک از پلیت ۹۶تایی افزوده شد. غلظت سوسپانسیون میکروبی رقیق شده به نحوی است که تعداد باکتریها به CFU/ml $۱۰^{۵}$–$۱۰^{۶}$ و تعداد قارچها و مخمر به $۱۰^{۴}$–$۱۰^{۵}$ برسد. ۱۰۰ میکرولیتر از هر ارگانیسم به هر سری رقت افزوده شده و پلیت‌های

باکتریایی و مخمری در دمای ۳۷°C به مدت ۲۴ ساعت و پلیت‌های قارچی در دمای ۳۰°C به مدت ۴۸ ساعت انکوبه شدند. حداقل غلظت مهارکنندگی رشد (MIC) (اولین چاهکی که در آن رشدی مشاهده نمی‌شود) و حداقل غلظت کشندگی رشد (MBC) (یعنی اولین چاهکی که روی محیط جامد رشد نمی‌کند) تعیین گردید.

نتایج

ترکیب شیمیایی اسانس

آنالیز شیمیایی اسانس درمنه کوهی منجر به شناسایی ۵۴ جزء مختلف شد که در مجموع ۹۸٪ از کل اسانس را تشکیل می‌دهند. ژرانیل استات (۱۷/۲٪)، آلفا-سیترال (۱۷/۱٪)، لینالول (۱۲/۷٪)، ژرانیول (۱۰/۷٪) و Z-سیترال (۱۰/۵٪) از اجزای اصلی اسانس می‌باشند. بتا-توجون (۱/۵٪)، کامفور (۳/۲٪)، ۸،۱-سینئول (۱/۲٪)، آلفا-توجون (۰/۴٪) از نظر درصد ترکیبهای بعدی را تشکیل می‌دهد (جدول ۱).

فعالیت ضد میکروبی اسانس

در روش انتشار در آگار، متوسط میانگین قطر هاله عدم رشد (means±SD) اسانس بر باکتریهای گرم مثبت (بر حسب میلی‌متر) در غلظت ۷/۵µl، ۲۲/۴۶±۰/۷۱ میلی‌متر و وانکومایسین ۸۴٪±۲۰/۷ میلی‌متر است. میانگین قطر هاله عدم رشد اسانس بر استرپتوکوکوس موتانس (۱۷/۳±۰/۴)، استرپتوکوکوس فاسیوم (۱۷/۵±۰/۷) می‌باشد. در میان باکتریهای گرم مثبت، استرپتوکوکوس پنومونیا (۱۳/۰±۴۱/۵)، استافیلوکوکوس اورئوس (۱۴/۵±۳۷/۵)، استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس (۱۱/۵±۳۲/۰)، باسیلوس سرئوس (۱۱/۵±۳۲/۰) و استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس (۷/۰-۲۹/۰) نسبت به اسانس درمنه کوهی حساس‌ترند. در مقابل، استرپتوکوکوس موتانس (۱۷/۳-۷)، استرپتوکوکوس فکالیس (۱۷/۵-۷) و استرپتوکوکوس فاسیوم (۱۷/۵-۷) مقاوم‌ترند (جدول ۲).

متوسط میانگین قطر هاله عدم رشد اسانس درمنه کوهی بر باکتریهای گرم منفی از باکتریهای گرم مثبت (۱۶/۶±۰/۹۳ در مقابل ۲۸/۶±۰/۴۵ میلی‌متر در غلظت ۱۵µl/disc) کمتر است (جدول ۲ و ۳). پسودوموناس آئروجینوزا (۷/۰±۰/۰)، سالمونلا تیفی‌موریوم (۹/۵±۰/۷) و اشیرشیاکلی (۱۰/۵±۰/۷) نسبت به سایر باکتریهای گرم منفی مقاوم‌ترند. در مقابل، شیگلا دیسانتری (۲۳/۵±۳/۵)، شیگلا فلکسنری (۲۳/۵±۰/۷)، آنتروباکتر آئروجینوز (۲۰/۰±۰/۰) و کلبسیلا پنومونیه (۲۰/۰±۰/۰) نسبت به اسانس حساس‌ترند (جدول ۳). در میان باکتریهای گرم منفی MIC، MBC کلبسیلا پنومونیه از سایرین کمتر است.

مخمر کاندیدا آلبیکانس از آسپرژیلوس‌ها نسبت به اسانس حساس‌تر است. در همه غلظتهای اسانس درمنه کوهی، آسپرژیلوس نایجر (۹/۵-۴۱) از آسپرژیلوس فلاووس (۷/۵±۳۰/۵) حساس‌تر است (جدول ۴). اثر ضد قارچی اسانس درمنه کوهی از اثر ضد باکتریایی آن بیشتر است. حداقل غلظت کشندگی رشد (MBC) باسیلوس سوبتیلیس و آسپرژیلوس نایجر چند برابر حداقل غلظت مهارکنندگی رشد آنهاست. اسانس درمنه کوهی بر روی باسیلوس سوبتیلیس و آسپرژیلوس نایجر اثر مهاری دارد (جدول ۲ و ۴). براساس نتایج قطر هاله عدم رشد و حداقل غلظتهای رشد باکتریهای گرم منفی از باکتریهای گرم مثبت نسبت به اسانس حساس‌ترند.

جدول ١- ترکیبهای شیمیایی و مقادیر آنها در اسانس گیاه درمنه ترکی (*A. aucheri*)

ترکیب	شاخص بازداری	میزان ترکیب (٪)
1-octene	٧٧١	جزئی
santolina triene	٨٩٦	٠/١
α-pinene	٩٢٥	٠/٧
camphene	٩٤٢	٠/٧
α-phellandrene	٩٦٦	٠/٢
β-pinene	٩٧١	٠/٢
6-methyl-5-hepten-2-one	٩٧٦	١/٠
myrcene	٩٨١	١/١
yomogi alcohol	٩٨٧	٠/١
β-phellandrene	٩٩٧	جزئی
herboxid second isomer	٩٩٩	٠/٢
α-terpinene	١٠١٠	٠/١
p-cymene	١٠١٦	١/٦
limonene	١٠٢١	٠/٢
1,8-cineole	١٠٢٥	٢/١
γ-terpinene	١٠٥١	٠/٥
trans linalool oxide	١٠٦٦	٠/٤
terpinolene	١٠٨٥	٠/٦
linalool	١٠٩١	١٢/٧
α-thujone	١١٠٠	١/٥
β-thujone	١١١٠	٠/٤
citral	١١١٥	٠/٢
1-terpineol	١١٣٣	٠/٣
camphor	١١٣٩	٣/٢
lavandulol	١١٦٢	١/٤
borneol	١١٦٥	٢/٥
terpinen-4-ol	١١٧٢	١/٤
p-cymen-8-ol	١١٧٩	٠/٤
β-fenchyl alcohol	١١٨٥	٠/٧
estragole	١١٨٨	٠/٢
β-citronellol	١٢٢٢	٠/٩
Z-citral	١٢٣٢	١٠/٥
geraniol	١٢٤٨	١٠/٧
α-citral	١٢٦٥	١٧/١
lavandulyl acetate	١٢٧٢	٠/٤
bornyl acetate	١٢٧٦	١/٤
cis-2,6-dimethyl-2,6-octadiene	١٣٣٠	٠/٣

ادامه جدول ۱- ترکیبهای شیمیایی و مقادیر آنها در اسانس گیاه درمنه ترکی (*A. aucheri*)

ترکیب	شاخص بازداری	میزان ترکیب (٪)
3,7-dimethyl-2,6-octadien-1-ol	۱۳۴۳	۰/۴
geranyl acetate	۱۳۶۸	۱۷/۲
methyl eugenol	۱۳۸۷	۰/۲
cis-jasmone	۱۳۸۹	۰/۴
E-caryophyllene	۱۴۱۷	۰/۴
geranyl propionate	۱۴۵۵	۰/۲
α-curcumene	۱۴۶۹	۰/۵
zingiberene	۱۴۸۱	۰/۱
β-selinene	۱۴۸۳	۰/۲
cis-davanone	۱۵۷۱	۰/۳
spathulenol	۱۵۷۵	۰/۲
caryophyllene oxide	۱۵۸۱	۰/۳
valencene	۱۶۲۰	۰/۲
methyl jasmonate	۱۶۳۲	۰/۲
5-(t-butyl)-4-methoxy-1,2-dihydroxybenzene	۱۶۶۱	۰/۲
β-bisabolol	۱۶۶۹	۰/۲
α-bisabolol	۱۶۷۵	۰/۵

جزئی = کمتر از ۰/۰۵٪

جدول ۲- بررسی اثر ضد میکروبی اسانس درمنه کوهی (*A. aucheri*) بر باکتریهای گرم مثبت

	قطر هاله عدم رشد (میلی‌متر)					حداقل غلظت رشد	
	ونکومایسین	اسانس درمنه کوهی (µl)				اسانس درمنه کوهی (µl/ml)	
	۳۰µg	۲/۵	۵	۷/۵	۱۵	MIC	MBC
استافیلوکوکوس اورئوس	۲۶/۸±۱/۹	۱۴/۵±۰/۷	۲۳/۸±۰/۴	۳۰/۰±۰/۰	۳۷/۵±۰/۷	۰/۵	۰/۵
استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس	۱۷/۸±۰/۴	۱۱/۵±۲/۱	۲۳/۰±۱/۴	۲۹/۵±۰/۷	۳۲/۰±۰/۰	۰/۵	۱
استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس	۲۰/۰±۰/۸	۷/۰±۰/۰	۱۱/۲±۰/۴	۱۷/۸±۰/۴	۲۹/۰±۰/۰	۰/۵	۱
باسیلوس سرئوس	۱۹/۵±۰/۸	۱۱/۵±۲/۱	۲۳/۰±۱/۴	۲۹/۵±۰/۷	۳۲/۰±۰/۰	۰/۵	۱
باسیلوس سوبتیلیس	۲۲/۲±۱/۰	۱۱/۰±۰/۰	۱۹/۰±۱/۴	۲۹/۰±۱/۴	۳۰/۰±۰/۰	۲	>۱۶
استرپتوکوکوس فکالیس	۱۵/۰±۲/۰	۷/۰±۰/۰	۹/۰±۰/۰	۱۳/۵±۰/۷	۱۷/۵±۰/۷	۲	۲
استرپتوکوکوس فاسیوم	۱۹/۵±۱/۰	۷/۰±۰/۰	۹/۰±۰/۰	۱۳/۵±۰/۷	۱۷/۵±۰/۷	۱	۲
استرپتوکوکوس آگالاکتیه	۲۰/۲±۰/۴	۱۱/۰±۰/۰	۱۷/۰±۰/۰	۱۸/۵±۰/۷	۲۲/۸±۰/۴	۲	۲
استرپتوکوکوس پنومونیا	۱۸/۵±۰/۵	۱۳/۰±۰/۰	۳۰/۵±۰/۷	۳۸/۳±۰/۴	۴۱/۵±۰/۷	۱	۲
استرپتوکوکوس سنجوئیس	۱۹/۰±۱/۲	۷/۰±۰/۰	۱۰/۵±۰/۷	۱۶/۰±۱/۴	۲۰/۳±۰/۴	۲	۴
استرپتوکوکوس‌سالیواریوس	۲۰/۰±۰/۸	۹/۰±۱/۴	۱۵/۵±۳/۵	۲۱/۰±۱/۴	۲۷/۰±۱/۴	۱	۱
استرپتوکوکوس موتانس	۲۹/۷±۰/۶	۷/۰±۰/۰	۸/۸±۰/۴	۱۳/۰±۰/۰	۱۷/۳±۰/۴	۲	۴
Means±SD	۲۰/۷±۰/۸۴	۹/۹۵±۰/۵۷	۱۶/۵±۰/۸۶	۲۲/۴۶±۰/۷۱	۲۸/۶±۰/۴۵		

جدول ۳- بررسی اثر ضد میکروبی اسانس درمنه کوهی (*A. aucheri*) بر باکتریهای گرم منفی

	قطر هاله عدم رشد (میلی متر)					حداقل غلظت رشد (µl/ml)	
	جنتامایسین	اسانس درمنه کوهی (میکرو لیتر)				اسانس درمنه کوهی	
	۱۰µg/disc	۲/۵	۵	۷/۵	۱۵	MIC	MBC
اشیریشیاکلی	۲۱/٤±۰/۵	۷/۰±۰/۰	۸/۰±۰/۰	۸/۵±۰/۷	۱۰/۵±۰/۷	۱٦	۱٦
سالمونلا تیفی موریوم	۲۱/۰±۱/۲	۷/۰±۰/۰	۷/۰±۰/۰	۷/۰±۰/۰	۹/۵±۰/۷	۱٦	۱٦
شیگلا فلکسنری	۱۷/۸±۱/۰	۱٤/۰±۰/۰	۱۸/۰±۰/۰	۲۰/۳±۰/٤	۲۳/۵±۰/۷	۲	٤
کلبسیلا پنومونیه	۱۸/۷±۱/۰	۱٤/۰±۰/۰	۱٦/۸±۰/٤	۱۹/۰±۰/۰	۲۰/۰±۰/۰	۱	۲
پروتئوس ولگاریس	۲۱/۰±۰/٦	۷/۵±۰/۷	۱۲/۵±۰/۷	۱۵/۰±۲/۸	۱۹/۰±۱/٤	۱٦	۱٦
انتروباکتر آئروجنز	۲٤/۲±۱/۳	۷/۰±۰/۰	۹/۰±۰/۰	۱۸/۵±۰/۷	۲۰/۰±۱/٤	۱٦	>۱٦
پسودوموناس آئروجینوزا	۲٤/۳±۲/٦	۷/۰±۰/۰	۷/۰±۰/۰	۷/۰±۰/۰	۷/۰±۰/۰	>۳۲	>۳۲
سراشیا مارسنز	۲۳/٦±۱/۲	۸/۸±۰/٤	۱۱/۰±۰/۰	۱٤/۸±۰/٤	۱٦/۰±۰/۰	۲	٤
شیگلا دیسانتری	۱۹/۰±۰/۰	۱۲/۰±۰/۰	۱۳/۰±۰/۰	۱۳/۵±۰/۷	۲۳/۵±۳/۵	۲	۲
Means±SD	۲۱/۲±۲/٤	۹/٤±۰/۱۳	۱۱/٤±۰/۱	۱۳/۸±۰/٦۳	۱٦/٦±۰/۹۳		

جدول ٤- بررسی اثر ضد میکروبی اسانس درمنه کوهی (*A. aucheri*) بر قارچها و مخمر

	قطر هاله عدم رشد (میلی‌متر)					حداقل غلظت رشد (µl/ml)	
	آمفوتریسین B	اسانس درمنه کوهی (میکرولیتر)				اسانس درمنه کوهی	
	۱۰۰U/disc	۲/۵	۵	۷/۵	۱۵	MIC	MBC
آسپرژیلوس نایجر	٦/۸±۱/۵	۹/۵±۰/۷	۱۸/۵±۰/۷	۳٦/۰±۰/۰	٤۱/۰±۱/٤	۰/۵	٤
آسپرژیلوس فلاووس	۷/۵±۱/۷	۷/۰±۰/۰	۱۱/۰±۰/۰	۱٦/۳±۰/٤	۳۰/۵±۰/۷	۱	۲
کاندیدا آلبیکانس	۱۳/۸±۱/۰	۲۲/۵±۰/۷	۳۱/۵±۲/۱	۳۸/۰±۰/۰	٤۵/۰±۱/٤	۰/۵	۰/۵
Means±SD	۹/٤±۱/٤	۱۳/۰±۰/٤۷	۲۰/۳±۰/۳۵	۳۰/۱±۰/۱۳	۳۸/۸±۱/۲		

بحث

نگاهی اجمالی به نتایج بدست آمده در این مطالعه، نشان می‌دهد که ترکیب شیمیایی اسانس استخراج شده از اندام هوایی گیاه درمنه کوهی منطقه کاشان، از نظر اجزای اسانس با اسانس اندام هوایی این گیاه از سایر مناطق کشور تفاوتهایی دارد. ترکیب شیمیایی این اسانس با ترکیب شیمیایی اسانس استان خراسان مشابه می‌باشد (Farzaneh *et al*., 2006)، ولی با ترکیب شیمیایی اسانس حاصل از اندام هوایی اسانس درمنه کوهی استان سمنان متفاوت می‌باشد (Sefidkon *et al*., 2002).

وربنول (verbenole) (۲۱/۵٪)، کامفر (۲۱/۰٪) و ۸،۱- سینئول (۸/۳٪) از اجزای اصلی اسانس درمنه کوهی (استان سمنان، ایران) می‌باشد (Sefidkon *et al*, 2002). در اسانس گیاه درمنه کوهی منطقه غرب کاشان ۲/۱٪ ۸،۱- سینئول و ۳/۲٪ کامفر شناسایی شد. وربنول در این اسانس یافت نشد. بنابراین ترکیب شیمیایی اسانس درمنه

کوهی بر حسب نوع واریته، مرحله رشد یا زمان جمع‌آوری گیاه و شرایط آب و هوایی رویش متفاوت می‌باشد.

اسانس درمنه ترکی از اجزای مختلفی تشکیل شده که هر یک از این اجزاء دارای اثرهای ضد میکروبی مختلفی می‌باشند، به‌عنوان مثال ژرانیول دارای اثر ضد باکتریایی (Jirovetz *et al*., 2007) به‌ویژه در مقابل سالمونلا تیفی‌موریوم (Kim *et al*., 2006) و دارای اثر ضد قارچی می‌باشد (Subramanyam *et al*., 1997). ژرانیل استات یک ترکیب آلی طبیعی از گروه مونوترپنها و دارای فعالیت ضد قارچی ضعیفی می‌باشد (Nakahara *et al*., 2003). لینالول دارای اثر ضد مایتی (mite) (Perrucci & Cioni, 1996)، ضد باکتریایی (Subramanyam *et al*., 1997)، ضد قارچ (Nakahara *et al*., 2003) و ضد کک (Hink *et al*., 1988) می‌باشد. آلفا-بیزابولول دارای فعالیت ضد باکتریایی و ضد قارچی است (Mitova *et al*., 2003). بنابراین اثر ضد میکروبی اسانس درمنه کوهی به هر یک از اجزای اصلی اسانس یا هر یک از اجزای فرعی یا سینرژیسم یا آنتاگونیست بین آنها مربوط می‌شود. اسانس مخلوطی از اجزای شیمیایی مختلف است؛ به همین دلیل مشکل است که اثر ضد میکروبی اسانس به یک یا چند جزء خاص نسبت داده شود. نشان داده شده که اثر ضد میکروبی کل اسانس از اثر ضد میکروبی تک تک اجزای آن بیشتر است. طبیعت و سهم هر یک از اجزاء می‌تواند روی اثر ضد میکروبی آن تأثیر بگذارد. شاید حضور ژرانیول و لینالول در اسانس منجر به افزایش خاصیت ضد قارچی اسانس بشود. ترکیبهای لیپوفیلی، تمایل بیشتری به غشاهای سلولی دارند. برخلاف طبیعت لیپوفیلی ترکیبها، حلالیت کم این ترکیبها در محیط‌های آبی، مانع رسیدن ترکیبهای مونوترپنی به غشاهای سلولی می‌شود. اثر ضد میکروبی اسانس درمنه کوهی بر باکتریهای گرم منفی در مقایسه با باکتریهای گرم مثبت کمتر است که احتمالاً به دلیل لیپوپلی‌ساکاریدهای دیواره سلولی باکتریهای گرم منفی است (Nikaido & Vaara, 1985). مطالعه فوق نشان می‌دهد که اسانس درمنه کوهی، یک منبع بسیار قوی از ترکیبهای فعال بیولوژیکی می‌باشد که به‌عنوان یک منبع مفید از عوامل ضد باکتریایی و ضد قارچی جدید می‌تواند بکار گرفته شود (Dupont *et al*., 1996).

در سالهای اخیر، مقاومت در پاتوژنهای انسانی افزایش یافته است (Ahmad & Beg, 2002). مقاومت به چند دارو در باکتریهایی نظیر پسودوموناس آئروجینوزا، اشیریشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس مشاهده شده است و سبب مقاومت این باکتریها نسبت به انواع آنتی‌بیوتیکها نظیر بتالاکتامها، ماکرولیدها، تتراسایکلین، فلوروکینولونها و کلرامفنیکل می‌شود. علاوه بر آن، عوارض جانبی بعضی از داروهای شیمیایی برای انسان بسیاری از محققان را بر آن داشته تا بدنبال کشف ترکیبهای طبیعی مؤثرتر باشند.

با توجه به اثربخش بودن اسانس درمنه کوهی بر قارچها و باکتریهای گرم مثبت، لازم است مطالعات بیشتری پیرامون اثربخشی این اسانس بر سویه‌های بالینی میکروبی انجام شود و توانایی این ترکیب در مدل حیوانی ارزیابی گردد.

سپاسگزاری

نویسندگان این مقاله از جناب آقای مهندس حسین حجازی مدیر عامل محترم شرکت داروسازی باریج

اسانس که همواره پشتیبان تحقیقات بوده‌اند قدردانی می‌نمایند.

منابع مورد استفاده

- آزادبخت، م.، ضیایی هزارجریبی، ه.، عبداللهی، ف. و شعبانخانی، ب.، ۱۳۸۲. بررسی تأثیر اسانس گیاه درمنه کوهی، آویشن شیرازی و مورد بر تریکوموناس واژینالیس. فصلنامه گیاهان دارویی، ۸(۳): ۴۰-۳۵.
- زرگری، ع.، ۱۳۶۸. گیاهان دارویی. جلد سوم، مؤسسه چاپ و انتشارات دانشگاه تهران، ۹۲۶ صفحه.
- شاکرمی، ج.، کمالی، ک.، محرمی‌پور، س. و مشکوه‌السادات، م.ه.، ۱۳۸۲. سمیت تنفسی و دورکنندگی اسانس درمنه کوهی (*Artemisa aucheri*) روی چهار گونه آفت انباری. آفات و بیماریهای گیاهی، ۷۱(۲): ۷۵-۶۱.
- شاکرمی، ج.، بازگیر، ع. و فیضیان، م.، ۱۳۸۵. بررسی مقدماتی اثر مهارکنندگی اسانس پنج گونه گیاه بر رشد میسیلیومی چهار گونه قارچ بیماری‌زای گیاهی در شرایط آزمایشگاهی. علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، ۱۰(۳): ۵۰۳-۴۹۷.
- ضیایی هزارجریبی، ه.، آزادبخت، م.، عبداللهی، ف. و شعبانخانی، ب.، ۱۳۸۵. تأثیر عصاره متانولی گیاهان درمنه کوهی، آویشن شیرازی و مورد روی تریکوموناس واژینالیس در محیط کشت. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی گرگان، ۸(۱):۳۸-۳۴.
- مظفریان، و.، ۱۳۷۵. فرهنگ نامهای گیاهان ایران. فرهنگ معاصر، تهران، ۶۷۱ صفحه.
- Ahmad, I.Z. and Beg, A., 2002. Antimicrobial and phytochemical studies on 45 Indian medicinal plants against multi drug resistant human pathogens. Journal of Ethnopharmacology, 74: 113-123.
- Asgary, S., Jafari Dinani, N., Madani, H. and Mahzouni, P., 2008. Ethanolic extract of *Artemisia aucheri* induces regression of aorta wall fatty streaks in hypercholestromic rabbits. Pharmazie, 63: 394-397.
- Carson, C., Hammer, K. and Riley, T., 1996. In vitro activity of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* against *Streptococcus* ssp. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 37: 1177-1178.
- Dupont, B.F., Dromer, F. and Improvisi, L., 1996. The problem of resistance to azoles in *Candida* sp. Journal of Medical Microbiology, 6(2): 12-19.
- Farzaneh, M., Ahmadzadeh, M., Hadian, J. and Tehrani, A.S., 2006. Chemical composition and antifungal activity of essential oils of three species of *Artemisia* on some soil borne phytopathogens. Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences, 71(3): 1327-1333.
- Hashemi, P., Abolghasemi, M., Fakhari, A., Ebrahimi, S. and Ahmadi, S., 2007. Hydrodistillation-solvent microextraction and GC-MS identification of volatile components of *Artemisia aucheri*. Chromatographia, 66: 283-286.
- Hink, W., Liberati, T. and Collart, M.G., 1988. Toxicity of linalool to life stages of cat flea, *Ctenocephalides felis* and its efficacy in carpet and on animals. Journal of Medical Entomology, 25(1): 1-4.
- Kim, J.M., Marsh, M.R., Cornell, J.A., Preston, I.I.I. and Wei, C.I., 2006. Antibacterial activity of carvacrol, citral and geraniol against *Salmonella typhimurium* in culture medium and fish cubes. Journal of Food Sciences, 60(6): 1364-1368.
- Jirovetz, L., Buchbauer, G., Schmid, E., Stoyanova, A.S., Denkova, Z., Nikolova, R. and Geissle, M., 2007. Purity, Antimicrobial activities and olfactoric evaluations of geraniol/nerol and various of derivatives. Journal of Essential Oil Research, 19(3): 288-299.
- Marchetti, O., Moreillon, P., Glauser, M., Bille, J. and Sanglard, D., 2000. Potent synergism of the combination of fluconazole and cyclosporine in *Candida albicans*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 44: 2373-2381.
- Mitova, M., Taskova, R., Popov, S., Burger, R.G., Krings, U. and Handjieva, N., 2003. GC/MS analysis of some bioactive constituents from *Carthamus lanatus* L. Z. Naturforsch, 58c: 697-703.
- Mohammadpoor, S.K., Yari, M., Rustaiyan, A. and Masoudi, S., 2002. Chemical constituents of the essential oil of *Artemisia aucheri* Boiss. a species endemic to Iran. Journal of Essential Oil Research, 14(2): 122-123.
- Nakahara, K., Alzorekey, N.S., Yoshihashi, T., Nguyen, H.T.T. and Trakoontivakorn, G., 2003.

- Rustaiyan, A., Bamonieri, A., Raffatrad, M., Jakupovic, J. and Bohlmann, F., 1987. Eudesmane derivatives and highly oxygenated monoterpenes from Iranian *Artemisia* species. Phytochemistry, 26(8): 2307-2310.
- Sefidkon, F., Jalilli, A. and Mirhaji, T., 2002. Essential oil composition of three *Artemisia* sp. from Iran. Flavour and Fragrance Journal, 17(2): 150-152.
- Sharif, M., Ziaei, H., Azadbakht, M., Daryani, A., Ebadattalab, A. and Rostami, M., 2006. Effect of Methanolic extracts of *Artemisia aucheri* and *Camellia sinensis* on *Leishmania major* (*In vitro*). Turkish Journal of Medicine Science, 6: 365-369.
- Subramanyam, P.S., Bapaji, V.R. and Cole, M.C.R., 1997. Antibacterial and antifungal activity of aromatic constituents of essential oils. Microbios, 89(358): 39-46.

Chemical composition and antifungal activity of essential oil from *Cymbopogon nardus*. JARQ, 37(4): 249-252.
- Nascimento, G., Locatell, J., Freitas, C. and Silva, L., 2000. Antibacterial activity of plant extract and phytochemical on antibiotic resistant bacteria. Brazilian Journal of Microbioliology, 31: 347-351.
- Nikaido, H. and Vaara, M., 1985. Molecular basis of bacterial outer membrane permeability. Microbiological Reviews, 49: 1-23.
- NCCLS., 2006a. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved Standard M7-A7, 7th Edition, Wayne, Pennsylvania, 10p.
- NCCLS., 2006b. Performance standard antimicrobial disc susceptibility testing, sixteenth informational supplement M100-S16. Wayne, Pennsylvania, 11p.
- Perrucci, S. and Cioni, P., 1996. Biological activity of some essential oils and their constituents against mite (*Tryrophagus longior*) pests of stored foods. Atti convego internazionale: coltivazione emiglioramento de piante officinali, Trento, Italy, 2-3 giugno: 579-584.

Chemical composition and antimicrobial activity of *Artemisia aucheri* Boiss. essential oil

M. Mahboubi[1*] and Qazian Bidgoli[2]

1*- Corresponding author, Department of Microbiology, Barij Essence Pharmaceutical Company, Kashan, Iran
E-mail: mahboubi@barijessence.com
2- Department of Phytochemistry, Barij Essence Pharmaceutical Company, Kashan, Iran

Received: December 2008 Revised: March 2009 Accepted: May 2009

Abstract

Artemisia aucheri Boiss. is a shrub from Asteraceae family that spread all over Iran. In traditional medicine, *A. aucheri* is a plant with astringent properties, disinfectant, antimicrobial, antiparasit and antitoxicant activity. The aim of this study was to evaluate, the antimicrobial activity of aerial part essential oil of *A. aucheri* against a large number of microorganisms including gram positive, gram negative bacteria, filamentous fungi, and yeast by disc diffusion and micro broth dilution assays. Fifty four components were identified by GC and GC/MS in the essential oil of *A. aucheri,* representing 98% of total oil. The major components were geranyl acetate (17.2%), α-citral (17.1%), linalool (12.7%), geraniol (10.7%) and Z-citral (10.5%). The antimicrobial activity of *A. aucheri* oil was dose dependent. Aerial part essential oil showed the best antifungal activity and this effect is more than the antibacterial activity. Gram negative bacteria were less sensitive than gram positive bacteria. Means average of inhibition diameters of oil against gram positive bacteria and fungi were more than vancomycin and amphotricin B, respectively and this effect was smaller than gentamycin in gram negative bacteria.

Key words: *Artemisia aucheri* Boiss., antimicrobial activity, geranyl acetate, linalool.