ORIGINAL ARTICLE

Antibacterial and Mutagenicity Activity of Different Species of Artimisia spp. and their Effect on Proliferation of Human Lymphocytes

Hassan Mohabatkar[1],
Mokhtar Nosrati[2],
Mandana Behbahani[1],
Mohammad Reza Rahiminejad[3]

[1] Associate Professor, Department of Biotechnology, Faculty of Advanced Sciences and Technologies, University of Isfahan, Isfahan, Iran
[2] PhD Student in Nanobiotechnology, Faculty of Advanced Sciences and Technologies, University of Isfahan, Isfahan, Iran
[3] Professor, Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran

(Received April 18, 2016 ; Accepted July 14, 2016)

Abstract

Background and purpose: Currently medicinal plants as immunomodulator or antimicrobial agents have gained interests in pharmaceutical researches. The aim of this study was to evaluate antibacterial activity, mutagenicity and proliferator effect of different parts of seven species of *Artemisia* genus on human lymphocyte cells of methanolic extracts.

Materials and methods: In this experimental study the plant materials were collected, identified, air dried, and powdered. Then, the plant materials were extracted by methanol using maceration method. Antibacterial activity was determined by disk diffusion method. Also, mutagenic and proliferative activities of the extracts were evaluated by Ames test and MTT assay, respectively.

Results: None of the species showed mutagenic activity. The extracts from the flowers and roots in all tested species showed high antibacterial and proliferative activities. *Artimisia vulgaris* and *A. sieberi* had the most and least antibacterial activity, respectively. On the other hand, *A. khorasanica* and A. *deserti* showed the highest and lowest proliferative effects on human lymphocyte cells, respectively.

Conclusion: In this investigation none of the species showed mutagenic activity. We also observed significant antibacterial and proliferative activities in flower and root extracts.

Keywords: antibacterial, *Artemisia*, immunomodulator, mutagenicity

J Mazandaran Univ Med Sci 2016; 26 (142): 82-95 (Persian).

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-11-21]

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و ششم شماره ۱۴۲ آبان سال ۱۳۹۵ (۹۵-۸۲)

بررسی قابلیت ضد باکتریایی و جهش زایی گونه های مختلف گیاه درمنه و اثر بخشی آن ها بر رشد و تکثیر لنفوسیت های انسانی

حسن محبت کار[۱]
مختار نصرتی[۲]
ماندانا بهبهانی[۱]
محمد رضا رحیمی نژاد[۳]

چکیده

سابقه و هدف: در سال‌های اخیر ترکیبات گیاهی با قابلیت تعدیل پاسخ ایمنی و اثرات ضد میکروبی بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند. هدف از مطالعه حاضر بررسی اثرات ضد باکتریایی عصاره متانولی حاصل از بخش‌های مختلف هفت گونه گیاه درمنه، قابلیت جهش زایی و نیز توان تحریک‌کنندگی تکثیر لنفوسیت‌های انسانی بوده است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی نمونه‌های گیاهی پس از جمع‌آوری و شستشو، خشک شده و سپس آسیاب شده و عصاره متانولی آن‌ها با استفاده از روش غوطه‌وری تهیه شد. جهت بررسی قابلیت ضد باکتریایی از روش انتشار دیسک استفاده گردید. پتانسیل جهش‌زایی عصاره‌ها و قابلیت تحریک رشدو تکثیر لنفوسیت‌های انسانی توسط آزمون ایمز و MTT موردبررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: هیچ کدام از گونه‌های درمنه مورد بررسی پتانسیل جهش‌زایی نداشتند. عصاره حاصل گل وریشه در تمامی گونه‌ها اثرات ضد باکتریایی و توان تحریک‌کنندگی تکثیر لنفوسیت‌ها را به میزان قابل توجهی داشتند. *Artimisia vulgaris* و *A.sieberi* به ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین قابلیت ضد باکتریایی ودو گونه *A.khorasanica* و *A.deserti* بیش‌ترین و کم‌ترین تاثیر را بر تکثیر لنفوسیت‌ها داشتند.

استنتاج: نتایج نشان داد که هیچ‌کدام از گونه‌های درمنه مورد بررسی جهش‌زا نبودند. گل و ریشه در این گیاهان قابلیت ضد باکتریایی و توان تحریک‌کنندگی تکثیر لنفوسیت‌های انسانی را دارا می‌باشند.

واژه های کلیدی: ضد باکتری، تعدیل گر ایمنی، جهش زایی، درمنه

مقدمه

گسترش روز افزون بیماری‌های عفونی و مقاومت‌های میکروبی موجب شده تا حجم وسیعی از پژوهش‌های صورت گرفته در سال‌های اخیر به جستجو و معرفی ترکیبات دارویی جدید با قابلیت ضد میکروبی و نیز ترکیباتی با توان تعدیل پاسخ‌های ایمنی معطوف شود. در این بین ترکیبات گیاهی به علت منشاء طبیعی، در دسترس بودن، ارزان بودن و اثرات جانبی کم‌تر نسبت به ترکیبات دارویی سنتزی بیش‌تر مورد توجه قرار گرفته‌اند(۳-۱). بر همین اساس تاکنون گیاهان دارویی مختلفی از لحاظ ویژگی‌های مطلوب درمانی مورد بررسی قرار گرفته است. بر اساس پژوهش‌های صورت گرفته در خصوص اثر بخشی گیاهان دارویی مختلف

مولف مسئول: حسن محبت کار– اصفهان: دانشگاه اصفهان، دانشکده علوم و فن آوری های نوین E-mail:h.mohabatkar@ast.ui.ac.ir
۱. دانشیار، گروه زیست فناوری، دانشکده علوم و فناوری های نوین، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران
۲. دانشجوی دکترای نانوبیوتکنولوژی، دانشکده علوم و فناوری های نوین، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران
۳. استاد، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران
تاریخ دریافت : ۱۳۹۵/۱/۳۰ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۳۹۵/۲/۷ تاریخ تصویب : ۱۳۹۵/۴/۲۴

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-11-21]

مشخص شده که درمان بیماری‌هایی هم چون سرطان، بیماری‌های عفونی، دیابت و اختلالات گوارشی به وسیله گیاهان دارویی امید بخش بوده است(۴). یکی از رهیافت‌های نوین در عرصه تحقیقات دارویی با هدف دستیابی به ترکیبات آنتی‌بیوتیکی جدید شناسایی و معرفی گیاهانی است که حاوی ترکیباتی با اثرات ضد میکروبی است. اگرچه بخش عظیمی از تحقیقات صورت گرفته در جستجوی گیاهانی با قابلیت ضد میکروبی است اما مشکلاتی هم چون سمیت سلولی احتمالی، میزان ناچیز مواد موثره ضد میکروبی، متابولیت‌های سمی، غیر فعال شدن و طیف اثر محدود موجب شده تا جستجوی گیاهانی که می‌توانند عملکرد سیستم ایمنی را تحت تاثیر قرار دهند، در سال‌های اخیر مورد توجه قرار بگیرد(۷-۵). لذا هدف مطلوب چنین تحقیقاتی شناسایی گیاهان دارویی حاوی مواد موثره با قابلیت دوگانه ضد میکروبی- تعدیل‌گر می‌باشد. به عبارت دیگر یکی از اهداف مطلوب پژوهش گران دستیابی به ترکیبات است که در عین دارا بودن ویژگی‌های ضد میکروبی قابلیت تعدیل پاسخ‌های سیستم ایمنی را داشته باشند(۸). گستردگی و پیچیدگی بالای سیستم ایمنی بررسی تاثیر ترکیبات مختلف را بر عملکرد آن دشوار نموده است. لذا در بررسی‌های مختلف صورت گرفته سعی می‌شود تاثیر عوامل مختلف براجزای اصلی که شامل سلول‌های ایمنی است، بررسی شود. سلول‌های لنفوسیت خون محیطی یکی از اهداف مورد مطالعه جهت تعیین اثر بخشی ترکیبات مختلف بر یکی از اجزای اصلی سیستم ایمنی اختصاصی است(۹). این سلول‌ها که به دو دسته لنفوسیت‌های T و B طبقه‌بندی می‌شوند از اجزای اصلی سیستم ایمنی خصوصاً در بیماری‌های عفونی به شمار می‌آیند. تغییر نرخ رشد و تکثیر این سلول‌ها در شرایط یکسان می‌تواند معیاری برای تصمیم‌گیری در خصوص تاثیر عوامل مختلف بر عملکرد سیستم ایمنی تلقی شود. بررسی اثربخشی گیاهان دارویی مختلف بر روند رشد و تکثیر لنفوسیت‌های انسانی اخیراً مورد توجه قرار گرفته و بر همین اساس گیاهان دارویی با قابلیت کاهش یا افزایش تکثیر این سلول‌ها معرفی شده است(۱۰، ۱۱). گیاهان دارویی علی‌رغم دارابودن خواص مطلوب دارویی تایید شده و دارا بودن ویژگی‌های مطلوب درمانی می‌توانند حاوی ترکیباتی باشند که دارای اثرات سمیت سلولی، جهش‌زایی، تراتوژن و سمیت مزمن طولانی مدت هستند. در این بین سمیت ژنتیکی به علت احتمال ایجاد سرطان و آسیب‌های جدی برگشت ناپذیر مهم‌تر است. لذا در کنار بررسی قابلیت‌های موثر دارویی گیاهان، مطالعه ایمنی آن‌ها نیز از اهمیت بالایی بر خوردار است(۱۲).

جنس گیاهی درمنه یا یوشان با نام علمی Artemisia از خانواده چتریان و از مهم‌ترین جنس‌های تیره کاسنی از جمله گیاهان دارویی با پراکنش بالا و خواص متعدد دارویی تایید شده می‌باشند. این جنس گیاهی دارای حدود ۴۰۰ گونه مختلف در سرتاسر دنیا بوده که به صورت وسیع در آسیا، اروپا و آمریکای شمالی یافت می‌شوند. بر اساس مطالعات صورت گرفته، مشخص شده است که حدود ۳۴ گونه از جنس درمنه در ایران یافت می‌شود(۱۳). در طب سنتی خواص متعددی هم‌چون ضد تب، ضد کرم، تسکین‌دهنده و ضد عفونت‌های میکروبی برای گونه‌های مختلف درمنه ذکر شده است(۱۴). نتایج بررسی‌های مختلف نیز اثرات مطلوب درمانی این گیاهان را در درمان دیابت، مالاریا، هپاتیت، عفونت‌های قارچی، عفونت‌های باکتریایی و ویروسی تایید نموده است(۱۵). بررسی‌های فیتوشیمیایی مختلف به عمل آمده در خصوص شناسایی ترکیبات موجود در گیاهان جنس درمنه حضور انواع ترکیبات گیاهی از جمله فلاوونوئیدها، استروئیدها، ترپنوئیدها، ساپونین‌ها، تانن‌ها و روغن‌های فرار را تایید نموده است. در همین راستا مطالعات نشان داده‌اند که ترپن‌ها و فلاوونوئیدها بیش‌ترین نقش را در ظهور اثرات مطلوب درمانی گیاهان این جنس خصوصاً در مورد اثرات ضد سرطانی و ضد میکروبی ایفا می‌کنند(۱۷،۱۶). اگرچه

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-11-21]

ممکن است قابلیت ضد باکتریایی گونه‌های مختلف درمنه مورد بررسی قرار گرفته باشد اما تاکنون مطالعه‌ای در خصوص پتانسیل سمیت به ویژه جهش‌زایی هم زمان با قابلیت افزایش عملکرد سیستم ایمنی و دارا بودن قابلیت ضد میکروبی این گیاهان صورت نگرفته بود و پژوهش حاضر اولین مطالعه انجام شده در این زمینه است. هدف از مطالعه حاضر بررسی اثرات ضد باکتریایی عصاره متانولی حاصل از بخش‌های مختلف شامل گل، برگ، ساقه و ریشه ده گونه گیاه درمنه شامل *A.vulgaris*، *A.spicigera*، *A.sieberi*، *A.ocheri*، *A.absinthium*، *A.scoparia*، *A.dracunculus*، *A.fragrans*، *A.khorasanica*، *A.deserti*، قابلیت جهش‌زایی و نیز توان تحریک‌کنندگی تکثیر لنفوسیت‌های انسانی بوده است.

مواد و روش ها

مطالعه حاضر از نوع تجربی بوده است.

جمع آوری نمونه‌ها و تعیین گونه

نمونه‌های گیاهی مورد نظر درتیر و مرداد ۱۳۹۴در دو مرحله قبل و بعد از گل دهی از سه شهر اصفهان، ارومیه و مشهد جمع آوری و در بخش گیاه شناسی دانشکده زیست شناسی دانشگاه اصفهان مورد تایید قرار گرفت و نام علمی هریک از گونه‌ها تعیین شد.

تهیه عصاره متانولی

نمونه‌های گیاهی تایید شده پس از شستشو به چهار بخش گل، برگ، ساقه و ریشه تقسیم و در سایه خشک شدند. نمونه‌های خشک شده سپس آسیاب شده و ۱۰ گرم از پودر حاصل از بخش‌های مختلف به صورت جداگانه در ۱۵۰ میلی لیتر متانول غوطه ور شدند. سپس محلول‌های حاصل به مدت ۷۲ ساعت روی شیکر با دور ۱۶۰ rpm و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. پس از مدت مذکور عصاره‌های حاصل با استفاده از کاغذ صافی و در سه بار متوالی صاف شده و جهت تغلیظ به دستگاه روتاری (stroglass, Italy) در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. در نهایت جهت حذف کامل حلال از عصاره‌های تغلیظ شده، تمامی عصاره‌ها با استفاده از دستگاه فریزدرایر خشک شده و تا زمان انجام آزمایش به ظروف شیشه‌ای مخصوص در دمای ۴ درجه سانتی گرادمنتقل شدند. به منظور تهیه غلظت‌های مختلف از عصاره‌های مذکور میزان ۵ میلی‌گرم از عصاره‌ها به دقت توزین شد و در حداقل مقدار DMSO (Dimethyl sulfoxide) حل گردید و از این محلول به عنوان محلول مادر استفاده شد. سپس محلول مذکور با استفاده از بافر فسفات استریل به غلظت‌های ۱۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر رقیق شد(۹).

محیط کشت و سویه‌های مورد مطالعه

در مطالعه حاضر خواص ضد باکتریایی عصاره‌ها برسودوموناس آئروژینوزا (PTCC 1430)، اشریشیاکولای (PTCC 1338)، سودوموناس پوتیدا (PTCC 1694)، انتروکوکوس فکالیس (PTCC 1394)، استرپتوکوکوس پایوژنز (PTCC 1447) و باسیلوس سابتیلیس (PTCC1023) مورد بررسی قرار گرفت. به این منظور آمپول لیوفیلیزه سویه‌های مذکور در شرایط استریل و زیر لامینار فلو باز شده و به محیط مایع مولر هینتون، منتقل و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرماگذاری شدند. پس از مدت مذکور از کشت مایع تمامی سویه‌ها، کشت چمنی روی محیط جامد مولر هینتون تهیه شد و از این کشت‌ها به عنوان منبع سویه‌های مورد مطالعه استفاده گردید.

انجام آزمون‌های بررسی خواص ضد باکتریایی

جهت بررسی خواص ضد باکتریایی عصاره‌های مورد بررسی از آزمون انتشار دیسک استفاده گردید. به این منظور از تمامی سویه‌های مورد بررسی

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-11-21]

سوسپانسیونی معادل با رقت نیم مک فارلند حاوی $1/5\times10^8$ CFU/ml تهیه شد. سپس سوسپانسیون‌های باکتریایی مذکور با استفاده از سواپ استریل بر سطح محیط کشت مولر هینتون آگار پخش شد. در ادامه به دیسک‌های کاغذی مخصوص آزمون آنتی بیوگرام ۲۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف عصاره‌های گیاهی افزوده شد و روی سطح محیط کشت قرار گرفتند و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرماگذاری شدند. پس از مدت مذکور هاله‌های عدم رشد اطراف دیسک‌های کاغذی با استفاده از کولیس اندازه گیری شد. در مطالعه حاضر از دیسک‌های استاندارد پنی سیلین و آمپی سیلین به عنوان کنترل مثبت و از DMSO به عنوان کنترل منفی استفاده گردید. به منظور محاسبه حداقل غلظت مهارکننده‌گی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) مربوط به عصاره‌ها از روش ریز رقت سازی در میکروپلیت استفاده شد. به هرکدام از چاهک‌های میکروپلیت ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت مولرهینتون، ۵۰ میکرولیتر از عصاره‌های مورد مطالعه در محدوده غلظتی ۲۵ تا ۳۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و ۵۰ میکرولیتراز سوسپانسیون‌های رقیق شده باکتریایی معادل ۰/۵ مک فارلند افزوده شد. ۵۰ میکرولیتر از محلول آنتی‌بیوتیک‌های آمپی سیلین و پنی سیلین در محدوده غلظتی ۱۰ تا ۳۰۰۰ و ۵۰ میکرولیتر DMSO به همراه ۵۰ میکرولیتر سوسپانسیون باکتریایی به ترتیب به عنوان کنترل مثبت و منفی استفاده گردید. پس از آماده سازی میکروپلیت به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرماگذاری شد. پس از مدت مذکور جذب تمامی چاهک‌ها در ۶۲۰ نانومتر با استفاده از دستگاه الایزا خوان اندازه‌گیری شد. اولین چاهکی که حاوی عصاره گیاهی بوده و جذبی در ۶۲۰ نانومتر نداشتند، به عنوان MIC در نظرگرفته شد. به منظور تعیین MBC نیز ۵۰ میکرولیتر ازمحتوی چاهک‌هایی که رشدی در آن‌ها صورت نگرفته بود به محیط مولر هینتون آگار منتقل شد و پس از پخش به وسیله سواپ استریل، پلیت‌هایی‌که حاوی کم‌ترین غلظت از عصاره‌های مورد بررسی بودند و اثری از رشد باکتری در آن‌ها مشاهده نشد، به عنوان MBC در نظر گرفته شد(۱۸).

استخراج، نگهداری و کشت سلول‌های لنفوسی

جهت بررسی اثر بخشی عصاره‌های مورد مطالعه بر رشد و تکثیر سلول‌های لنفوسیت خون محیطی ابتدا سلول‌های مذکور ازخون ۳ نفر اهداکننده سالم که سابقه مصرف داروهای اثرگذار بر سیستم ایمنی از جمله آنتی‌بیوتیک‌ها را در یک هفته قبل از نمونه‌گیری نداشتند، جداسازی شد. به این منظور ۱۰ میلی‌لیتر خون از اهداکنندگان دریافت و به لوله‌های حاوی هپارین منتقل شد. خون‌های جمع‌آوری شده سپس به فالکون‌های استریل ۱۵ میلی‌لیتری حاوی ۶ میلی لیتر لنفودکس منتقل و به مدت ۲۰ دقیقه در سانتریفیوژ با دور g۱۸۰۰۰ سانتریفیوژ شدند. پس از سانتریفیوژ خون به سه لایه تقسیم می شود که لایه سفید رنگ حاوی لنفوسیت‌ها می‌باشند. لایه مذکور در شرایط استریل و با استفاده از پیپت پاستور جدا شد و به محیط کشت RPMI منتقل شدند. محیط مذکور حاوی ۱۰ درصد سرم گاوی، ۱۰۰ واحد بر میلی‌لیتر پنی‌سیلین، ۱۰۰ میلی گرم بر میلی‌لیتر استرپتومایسین، ۲ میکرومول گلوتامین و ۱ میکرومول پیرووات می‌باشد. سلول‌های کشت داده شده به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور ۵ درصد CO_2 گرماگذاری شدند(۹).

بررسی رشد و تکثیر سلول‌های لنفوسیت با استفاده از آزمون MTT(Methyl thiazolyl tetrazolium assay)

جهت مطالعه اثر عصاره‌های مورد بررسی بر رشد و تکثیر سلول‌های لنفوسیت از آزمون MTT استفاده شد. در مطالعه حاضر آزمون مذکور با استفاده از محلول ۵ میلی گرم بر میلی‌لیتر تترازولیوم بروماید فیلتر شده انجام شد. اساس این روش احیای کریستال‌های زرد رنگ تترازولیوم و تبدیل آن‌ها به کریستال‌های آبی رنگ

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-11-21]

نـامحلول فورمـازان بـه وسـیله آنـزیم سوکسـینات دهیدروژنازمیتوکندریایی می‌باشد. لذا شدت رنگ آبی ایجاد شده ارتباط مستقیمی با تعداد سلول‌های زنده موجود در چاهک‌های رشد دارد. به منظور انجام این آزمون ۲۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف عصاره‌های گیاهی به همراه ۱۸۰ میکرولیتر از سوسپانسیون سلولی به هر کدام از چاهک‌های میکروپلیت ۹۶ خانه اضافه شد و به مدت ۷۲ ساعت گرماگذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انجام شد. پس از مدت مذکور ۲۰ میکرولیتر از محلول MTT به هر کدام از چاهک‌ها افزوده شد و گرماگذاری به مدت ۴ ساعت دیگر ادامه داده شد. پس از مدت مذکور جهت حل نمودن کریستال‌های فورمازان تشکیل شده از ۱۰ میکرولیتر محلول HCL ۰/۰۴ در ۲ پروپانول به همراه تریتون X100 استفاده گردید. در پایان جذب هر کدام از چاهک‌ها در ۴۹۲ نانومتر با استفاده از دستگاه الایزاخوان اندازه‌گیری شد. در مطالعه حاضر از DMSO به عنوان کنترل منفی استفاده شد و هر کدام از غلظت‌های عصاره‌های مورد مطالعه در سه تکرار مورد بررسی قرار گرفت. در نهایت میزان تکثیر لنفوسیت‌ها با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد(۱۹):

فرمول۱: درصد بقا =۱۰۰× جذب حاصل از هر نمونه / جذب کنترل منفی

بررسی میزان جهش زایی عصاره های گیاهی

به منظور بررسی قابلیت جهش زایی عصاره‌ها در غلظت‌های مختلف از آزمون ایمز استفاده شد. در این آزمون از سویه‌های مختلف سالمونلا استفاده می‌شود. این باکتری‌ها دارای جهش‌های مختلفی در اپرون مربوط به سنتز هیستیدین بوده لذا قابلیت رشد در عدم حضور این اسید آمینه را ندارند. اما در صورت قرارگیری این باکتری ها در معرض یک ماده جهش‌زا ممکن است جهش ایجاد شده به حالت عادی بازگشته و باکتری توان سنتز هیستیدین را مجدداً به دست آورد. در این مطالعه از سالمونلا تیفی موریوم TA98 استفاده گردید. جهت بررسی میزان جهش‌زایی از روش شمارش تعداد کلنی‌های برگشتی و مقایسه شاخص Qm استفاده شد. در این بخش عصاره گل و ریشه هر هفت گونه مورد بررسی که دارای قابلیت ضد باکتریایی و تاثیر بر رشد و تکثیر لنفوسیت‌ها بودند را دردو غلظت ۲۵۰ و ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر که به ترتیب بیش‌ترین قابلیت تحریک‌کنندگی رشد و خاصیت ضد باکتریایی مشاهده شد، مورد بررسی قرار گرفت. به این منظور دیسک‌های کاغذی غوطه ور در غلظت‌های مختلف عصاره‌ها در محیط کشت حداقل حاوی کشت یکنواخت سالمونلا تیفی موریوم TA98 قرار گرفته و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد گرماگذاری انجام شد. پس از مدت مذکور تعداد کلنی‌های برگشتی که معیاری از میزان جهش‌زای ماده مورد آزمون است، شمارش شد . سپس برای هرکدام از غلظت‌ها شاخص Qm تعریف شد. شاخص ذکر شده تعیین‌کننده میزان جهش‌زایی نمونه‌های مورد مطالعه است. به‌طوری که Qm پایین‌تر از ۱/۶ نشان‌دهنده عدم جهش‌زایی، Qmدر محدوده ۱/۷ تا ۱/۹ نشان دهنده احتمال جهش‌زا بودن ماده مورد مطالعه و Qm در حدود ۲ و بالاتر جهش‌زا بودن ماده مورد مطالعه رانشان می‌دهد. در این بررسی از ۱۰۰ میکرولیتر محلول ۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر سدیم آزید به عنوان کنترل مثبت و غلظت‌های ۱ تا ۳ درصد DMSO به عنوان کنترل منفی استفاده گردید. برای هر غلظت از عصاره‌های مختلف سه بار تکرار صورت گرفت. در نهایت تعداد کلنی‌های رشد کرده روی محیط حداقل که ناشی از بازیابی توان سنتز هیستیدین است با کلنی‌های رشد کرده در مجاورت کنترل مثبت و منفی مقایسه و از فرمول زیر برای تعیین شاخص Qm استفاده شد(۱۹).

فرمول۲:

شاخص کمی جهش‌زایی(Qm) = تعداد کلنی برگشتی ناشی از نمونه مورد بررسی / تعداد کلنی ناشی از کنترل منفی

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-11-21]

به منظور محاسبه میانگین داده و میزان خطای معیار میانگین و هم‌چنین بررسی وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌های مربوط به عصاره‌های حاصل از بخش‌های مختلف با هم و نیز مقایسه اثر بخشی گونه‌های مختلف با هم از آزمون آنالیز واریانس و دانکن در سطح معنی‌داری $p < ۰/۰۵$ استفاده شد.

یافته ها

نتایج مربوط به اندازه‌گیری هاله‌های عدم رشد مربوط به عصاره‌های حاصل از هفت گونه درمنه مورد بررسی و آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد در جدول شماره ۱ ذکر شده است.

نتایج نشان داد که قابلیت ضدباکتریایی عصاره گونه‌های گیاهی مورد بررسی در غلظت‌های مورد مطالعه از الگویی مشابه پیروی می‌کند. بر این اساس مشخص شد که عصاره‌های مربوط به برگ، ساقه و بذر در هیچ کدام از گونه‌های مورد بررسی در محدوده غلظتی مورد مطالعه اثرات ضد باکتریایی ندارند. اما در مقابل مشخص شد که گل و ریشه این گیاهان در تمامی ۷ گونه مورد بررسی در روندی وابسته به غلظت دارای قابلیت ضد باکتریایی قابل توجهی هستند. بررسی‌های مقایسه‌ای نشان داد که قابلیت ضد باکتریایی گل در تمامی گونه‌ها بیش‌تر از ریشه است. علاوه بر این نتایج نشان داد که *A.vulgaris* بیش ترین قابلیت ضد باکتریایی را داشته و پس از آن گونه‌های *A.absinthium*، *A.khorasanica*، *A.deserti*، *A.fragrans*، *A.aucheri* و *A.sieberi* قرار دارند. نتایج حاصل از تعیین MIC و MBC عصاره‌های مورد آزمون و کنترل مثبت (پنی سیلین) به ترتیب در جدول شماره ۲ و۳ نشان داده شده است.

نتایج این بخش کاملاً منطبق بر داده‌های حاصل از بررسی با روش انتشار دیسک بود. به عبارت دیگر نتایج حاصل از این بخش نشان داد که عصاره‌های مربوط به برگ، ساقه و بذر در محدوده غلظتی مورد بررسی قابلیت ضد باکتریایی نداشته اما در مقابل عصاره مربوط به گل و ریشه اثرات ضد باکتریایی چشم‌گیری را نشان دادند. علاوه بر آن نتایج نشان داد که MIC برای عصاره گل گونه‌های مورد بررسی در محدوده ۷۵۰ تا ۳۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و برای ریشه در محدوده ۱۰۰۰ تا ۳۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر قراردارد. میزان MBC برای عصاره مذکور به ترتیب در محدوده ۱۵۰۰ تا ۳۰۰۰ < و ۲۰۰۰ تا ۳۰۰۰< تعیین شد. نتایج هم‌چنین نشان داد که باسیلوس سابتیلیس و سودوموناس آئروژنوزا به ترتیب حساس‌ترین و مقاوم‌ترین سویه‌ها نسبت به عصاره‌های مورد بررسی بودند.

جدول شماره ۱: نتایج حاصل از بررسی خواص ضد باکتریایی گونه‌های مختلف درمنه با روش انتشار دیسک

ردیف	گونه گیاهی	غلظت (میکروگرم بر میلی لیتر)	میانگین قطر هاله عدم رشد (میلی متر) (انحراف معیار±میانگین)											
			سودوموناس ائروژنوزا		باسیلوس سابتیلیس		اشریشیا کولای		سودوموناس پوتیدا		انتروکوکوس فکالیس		استرپتوکوکوس پایوژنز	
			گل	ریشه	گل	ریشه	گل	ریشه	گل	ریشه	گل	ریشه	گل	ریشه
۱	*A.vulgaris*	۲۵۰	–	–	۶±۰/۲۵	–	–	–	۵±۰/۳۰	۵±۰/۴۰	–	–	–	–
		۵۰۰	–	–	۷±۰/۴۰	۹±۰/۲۰	–	–	۶±۰/۵۵	۷±۰/۳۰	–	–	–	–
		۱۰۰۰	۷±۰/۳۶	–	۹±۰/۳۰	۱۰±۰/۱۷	۷±۰/۳۶	۶±۰/۵۰	۷±۰/۴۲	۸±۰/۲۰	۸±۰/۴۲	۷±۰/۴۲	۷±۰/۳۵	۶±۰/۶۰
		۲۰۰۰	۹±۰/۵۰	۷±۰/۲۴	۱۱±۱	۱۱±۰/۲۵	۹±۰/۵۰	۸±۰/۳۶	۸±۰/۵۰	۸±۰/۴۵	۹±۰/۲۰	۸±۰/۵۰	۸±۰/۵۰	۶±۰/۴۲
۲	*A.absinthium*	۵۰۰	–	–	۶±۰/۴۰	۵±۰/۷۰	۵±۰/۳۰	–	–	–	۶±۰/۴۰	–	۶±۰/۲۰	–
		۱۰۰۰	۵±۰/۴۰	–	۷±۰/۱۰	۶±۰/۲۰	۶±۰/۲۰	۵±۰/۴۰	۶±۰/۳۰	۶±۰/۲	۷±۰/۳۰	۵±۰/۴۰	۷±۰/۳۰	۶±۰/۵۰
		۲۰۰۰	۷±۰/۲۰	۶±۰/۶۰	۹±۰/۲	۸±۰/۳	۷±۰/۱۰	۶±۰/۳۰	۸±۰/۵۰	۷±۰/۳۰	۸±۰/۱۰	۶±۰/۲۰	۸±۰/۱۰	۷±۰/۳۰
۳	*A.khorasanica*	۵۰۰	–	-	۶±۰/۱۰	۵±۰/۳۰	–	–	–	–	–	–	–	–
		۱۰۰۰	۵±۰/۳۰	–	۷±۰/۲۰	۶±۰/۲۰	–	–	۶±۰/۲۰	۵±۰/۳۰	۶±۰/۲۰	۶±۰/۵۰	–	–
		۲۰۰۰	۶±۰/۴۰	۵±۰/۲۰	۹±۰/۷۰	۸±۰/۳۰	۶±۰/۲۰	۵±۰/۱۰	۸±۰/۴۰	۶±۰/۱۰	۸±۰/۴۰	۷±۰/۲۰	۷±۰/۲۰	۵±۰/۳۰
۴	*A.fragrans*	۲۰۰۰	۵±۰/۳۰	–	۵±۰/۲۰	۵±۰/۴۰	۶±۰/۳۰	–	–	۵±۰/۴۰	۵±۰/۲۰	–	۶±۰/۱۰	۵±۰/۲۰
۵	*A. deserti*	۲۰۰۰	–	–	۶±۰/۳۰	۵±۰/۲۰	۵±۰/۴۰	–	–	–	۶±۰/۱۰	۵±۰/۳۰	۵±۰/۲۰	۵±۰/۴۰
۶	*A.aucheri*	۲۰۰۰	-	-	۶±۴۰	۶±۰/۲	۵±۰/۳۰	۵±۰/۱۰	۶±۰/۳۰	–	۷±۰/۲	۵±۰/۱۰	۶±۰/۳	۵±۰/۲
۷	*A.sieberi*	۲۰۰۰	-	-	۶±۰/۴۰	۵±۰/۴۰	۵±۰/۲۰	–	–	–	۵±۰/۳۰	۵±۰/۱۰	۶±۰/۵۰	–

نتایج ذکر شده فقط مربوط به غلظت‌ها و بخش‌هایی است که اثرات ضد باکتریایی قابل اندازه‌گیری داشتند.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-11-21]

جدول شماره ۲: نتایج حداقل غلظت مهار کنندگی و حداقل غلظت کشندگی عصاره بخش های مختلف هفت گونه درمنه*

ردیف	نام گونه	سویه های مورد مطالعه	بخش‌های گیاهی			
			ریشه		گل	
			MIC	MBC	MIC	MBC
۱	*A.vulgaris*	*سودوموناس آئروژنوزا*	۱۰۰۰	۲۰۰۰	۱۵۰۰	۲۵۰۰
		باسیلوس ساتیلیس	۱۰۰۰	۱۵۰۰	۵۰۰	۱۰۰۰
		اشریشیا کولای	۱۵۰۰	۲۵۰۰	۱۰۰۰	۲۰۰۰
		سودوموناس پوتیدا	۱۰۰۰	۲۰۰۰	۱۵۰۰	۳۰۰۰
		انتروکوکوس فکالیس	۷۵۰	۲۰۰۰	۷۵۰	۲۰۰۰
		استرپتوکوکوس پایوژنز	۱۵۰۰	۲۵۰۰	۵۰۰	۱۰۰۰
۲	*A.absinthium*	*سودوموناس آئروژنوزا*	۲۰۰۰	۳۰۰۰	۱۵۰۰	۲۵۰۰
		باسیلوس ساتیلیس	۱۰۰۰	۲۰۰۰	۷۵۰	۱۵۰۰
		اشریشیا کولای	۲۵۰۰	۳۰۰۰<	۱۵۰۰	۲۵۰۰
		سودوموناس پوتیدا	۱۲۵۰	۲۵۰۰	۲۰۰۰	۳۰۰۰<
		انتروکوکوس فکالیس	۱۲۵۰	۳۰۰۰	۱۰۰۰	۲۰۰۰
		استرپتوکوکوس پایوژنز	۱۰۰۰	۲۰۰۰	۷۵۰	۲۰۰۰
۳	*A.khorasanica*	*سودوموناس آئروژنوزا*	۲۵۰۰	۳۰۰۰<	۲۰۰۰	۳۰۰۰
		باسیلوس ساتیلیس	۱۵۰۰	۳۰۰۰	۱۰۰۰	۲۰۰۰
		اشریشیا کولای	۲۰۰۰	۳۰۰۰<	۲۰۰۰	۳۰۰۰<
		سودوموناس پوتیدا	۲۵۰۰	۳۰۰۰<	۱۲۵۰	۲۵۰۰
		انتروکوکوس فکالیس	۱۲۵۰	۲۵۰۰	۱۲۵۰	۲۵۰۰
		استرپتوکوکوس پایوژنز	۱۵۰۰	۳۰۰۰	۱۵۰۰	۳۰۰۰
۴	*A.fragrans*	*سودوموناس آئروژنوزا*	۳۰۰۰	۳۰۰۰<	۳۰۰۰	۳۰۰۰<
		باسیلوس ساتیلیس	۱۵۰۰	۲۵۰۰	۱۰۰۰	۲۰۰۰
		اشریشیا کولای	۲۵۰۰	۳۰۰۰<	۲۰۰۰	۳۰۰۰
		سودوموناس پوتیدا	۳۰۰۰	۳۰۰۰<	۳۰۰۰<	۳۰۰۰<
		انتروکوکوس فکالیس	۲۰۰۰	۳۰۰۰	۲۰۰۰	۳۰۰۰<
		استرپتوکوکوس پایوژنز	۲۰۰۰	۳۰۰۰<	۱۰۰۰	۲۵۰۰
۵	*A.deserti*	*سودوموناس آئروژنوزا*	۲۰۰۰<	۳۰۰۰<	۳۰۰۰<	۳۰۰۰<
		باسیلوس ساتیلیس	۲۰۰۰<	۳۰۰۰<	۲۰۰۰	۳۰۰۰
		اشریشیا کولای	۲۰۰۰<	۳۰۰۰<	۳۰۰۰	۳۰۰۰<
		سودوموناس پوتیدا	۲۰۰۰<	۳۰۰۰<	۳۰۰۰	۳۰۰۰<
		انتروکوکوس فکالیس	۲۰۰۰<	۳۰۰۰<	۲۰۰۰<	۳۰۰۰<
		استرپتوکوکوس پایوژنز	۲۰۰۰<	۳۰۰۰<	۲۰۰۰<	۳۰۰۰<
۶	*A.aucheri*	*سودوموناس آئروژنوزا*	۳۰۰۰	۳۰۰۰<	۳۰۰۰	۳۰۰۰<
		باسیلوس ساتیلیس	۲۵۰۰	۳۰۰۰<	۲۰۰۰	۳۰۰۰<
		اشریشیا کولای	۳۰۰۰	۳۰۰۰<	۳۰۰۰	۳۰۰۰<
		سودوموناس پوتیدا	۳۰۰۰	۳۰۰۰<	۲۵۰۰	۳۰۰۰<
		انتروکوکوس فکالیس	۲۵۰۰	۳۰۰۰<	۳۰۰۰	۳۰۰۰<
		استرپتوکوکوس پایوژنز	۳۰۰۰	۳۰۰۰<	۲۵۰۰	۳۰۰۰<
۷	*A.sieberi*	*سودوموناس آئروژنوزا*	۳۰۰۰<	۳۰۰۰<	۲۰۰۰	۳۰۰۰<
		باسیلوس ساتیلیس	۲۰۰۰	۳۰۰۰<	۲۰۰۰	۳۰۰۰<
		اشریشیا کولای	۳۰۰۰	۳۰۰۰<	۳۰۰۰	۳۰۰۰<
		سودوموناس پوتیدا	۳۰۰۰	۳۰۰۰<	۳۰۰۰	۳۰۰۰<
		انتروکوکوس فکالیس	۳۰۰۰	۳۰۰۰<	۳۰۰۰	۳۰۰۰<
		استرپتوکوکوس پایوژنز	۳۰۰۰	۳۰۰۰<	۳۰۰۰	۳۰۰۰<

* تمامی غلظت ها بر حسب میکروگرم بر میلی لیتر می باشد. به علت عدم مشاهده قابلیت ضد باکتریایی از عصاره برگ، ساقه و بذر اطلاعات مربوط به این بخش ها ذکر نشده است.

جدول شماره ۳: نتایج حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی پنی سیلین بر ۶ سویه باکتریایی مورد مطالعه

	سویه های مورد بررسی	MIC	MBC
پنی سیلین	*سودوموناس آئروژنوزا*	۷۵۰	۱۵۰۰
	باسیلوس ساتیلیس	۲۵۰	۵۰۰
	اشریشیا کولای	۵۰۰	۱۰۰۰
	سودوموناس پوتیدا	۵۰۰	۱۵۰۰
	انتروکوکوس فکالیس	۲۵۰	۷۵۰
	استرپتوکوکوس پایوژنز	۷۵۰	۱۵۰۰

اثر بخشی عصاره‌ها بر رشد و تکثیر سلول‌های لنفوسیت

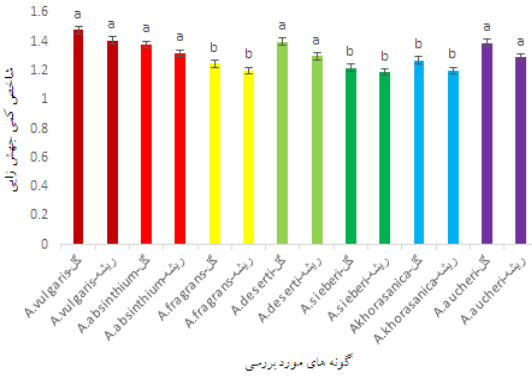
نتایج حاصل از این بخش نشان داد که بر خلاف خواص ضد باکتریایی به جز بذر عصاره سایر بخش‌های ۷ گونه مورد بررسی به ویژه در محدوده غلظتی ۵۰ تا ۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر موجب افزایش چشم گیری در رشد و تکثیر سلول‌های لنفوسیت در روندی وابسته به غلظت می‌شوند. نتایج هم‌چنین نشان داد که همانند خواص ضد باکتریایی گل و ریشه به ترتیب بیش‌ترین تاثیر را بر رشد و تکثیر لنفوسیت‌ها داشتند. علاوه بر این نتایج نشان داد که در غلظت‌های بالاتر از ۲۵۰ در تمامی گونه‌های مورد بررسی آثار سمی عصاره‌ها ظاهر می‌شود. بررسی مقایسه‌ای گونه‌های مختلف نیز نشان داد که گونه A.khorasanica که دارای خواص ضد باکتری قابل توجهی نیز بود، بیش‌ترین تاثیر را بر رشد و تکثیر لنفوسیت‌ها داشت. اما در مقابل گونه A.absinthium علی رغم خواص ضد باکتریایی قوی، کم‌ترین تاثیر را بر رشد و تکثیر لنفوسیت‌ها داشت.

بررسی قابلیت جهش زایی عصاره‌های گیاهی

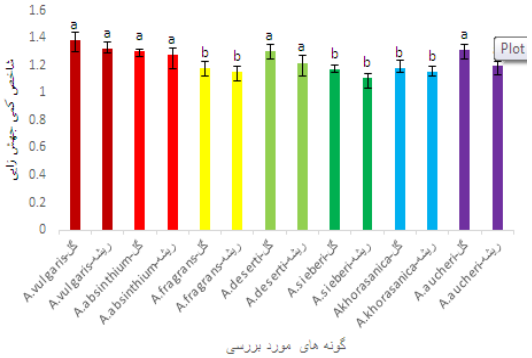
نتایج مربوط به بررسی قابلیت جهش‌زایی عصاره گل و ریشه در دو غلظت ۲۵۰ و ۲۵۰۰ در نمودارهای شماره ۱ و ۲ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که هیچ کدام از عصاره‌های مورد بررسی قابلیت جهش‌زایی ندارند. محاسبه شاخص جهش‌زایی برای عصاره‌های مورد آزمون نیز برای تمامی عصاره‌ها کم‌تر از ۱/۶ محاسبه شد. بررسی تعداد کلنی‌های برگشتی ناشی از نمونه‌ها نشان داد که تعداد کلنی‌های برگشتی رابطه مستقیمی با افزایش غلظت دارد. به طوری که

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-11-21]

تعداد کلنی‌های برگشتی در غلظت ۲۵۰۰ بیش تر از ۲۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر بود. اگرچه هیچ کدام از عصاره‌های مورد بررسی جهش زا نبودند، بررسی مقایسه ای نشان داد که بیش‌ترین و کم ترین تعداد کلنی‌های برگشتی به ترتیب مربوط به عصاره‌های حاصل از *A.vulgaris* و *A.sieberi* بود. علاوه بر این نتیجه بررسی مقایسه ای نشان داد که در تمامی گونه های مورد بررسی تعداد کلنی‌های برگشتی ناشی از گل بیش تر از ریشه می‌باشد.



نمودار شماره ۱: نتایج مربوط به پتانسیل جهش زایی عصاره گل و ریشه هفت گونه درمنه در غلظت ۲۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر. مقادیر ذکر شده میانگین‌های سه تکرار است. حروف یکسان بیان گر عدم اختلاف معنی دار با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد است.



نمودارشماره ۲ :نتایج مربوط به پتانسیل جهش زایی عصاره گل و ریشه هفت گونه درمنه در غلظت ۲۵۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر. مقادیر ذکر شده میانگین‌های سه تکرار است. حروف یکسان بیان گر عدم اختلاف معنی دار با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد است.

بحث

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که گونه‌های مختلف جنس درمنه می توانند در غلظت‌های پایین علی‌رغم فقدان پتانسیل جهش زایی قابلیت ضد باکتریایی بالایی داشته و نیز می‌توانند موجب افزایش رشد و تکثیر سلول‌های لنفوسیت شوند. معضل مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی و نقص‌های ایمنی موجب شده تا جستجو و معرفی ترکیبات طبیعی خصوصاً ترکیبات گیاهی با اثرات ضد میکروبی و نیز تعدیل‌گرهای پاسخ‌های ایمنی بسیار مورد توجه قرار بگیرد.

در همین راستا بررسی انجام شده توسط نصرتی و همکاران نشان داد که عصاره متانولی گونه‌های مختلف جنس جاشیر می‌توانند علی‌رغم خواص ضد باکتریایی موجب افزایش چشم‌گیری در تکثیر سلول‌های لنفوسیت شوند(۱۸). در پژوهش مشابه دیگری تاثیر ارقام مختلف انگور بر رشد تکثیر سلول‌های لنفوسیت مورد بررسی قرار گرفت و مشخص شد که عصاره این گیاهان نیز می‌توانند موجب افزایش رشد و تکثیر لنفوسیت‌های انسانی شوند(۲۰). اگرچه بررسی‌های مختلفی اثرات ضد میکروبی و تاثیر بر رشد و تکثیر لنفوسیت‌ها را بررسی نموده اما تعداد پژوهش‌هایی که این دو قابلیت را هم زمان مورد بررسی قرار داده باشند، بسیار محدود است. رحیمی و همکاران نشان دادند که عصاره گیاه دارویی *Echinacea purpurea* هم دارای قابلیت ضد میکروبی بالایی است و هم می‌تواند موجب بهبود عملکرد سیستم ایمنی شود(۲۱). جنس گیاهی درمنه شامل گیاهان دارویی بسیاری است که اثر بخشی بسیاری از آن‌ها در بررسی‌های آزمایشگاهی مورد تایید قرار گرفته است. بررسی‌های متعدد انجام شده در مورد گونه‌های این جنس خواص ضد باکتریایی، ضد ویروسی، ضد سرطانی، ضد قارچی و ضد دیابتی این گیاهان را تایید نموده است(۱۵). اگرچه خواص متعدد دارویی از گونه‌های مختلف درمنه گزارش شده اما بررسی خواص ضد باکتریایی این گیاهان بیش‌تر مورد توجه بوده است.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-11-21]

در همین راستا طی پژوهشی قابلیت چشم‌گیر ضد باکتریایی از عصاره هگزانی و متانولی *A.nilagirica* بر اشریشیاکولای، پروتئوس ولگاریس، انتروباکتر آئروژنز و سالمونلا تایفی گزارش شده است(۲۲). هم‌چنین Msaada و همکاران نشان دادند که اسانس *A.absinthium* که در مطالعه حاضر نیز قابلیت ضد باکتریایی چشم‌گیری داشت، دارای اثرات ضد باکتریایی بالایی است(۲۳). بررسی قابلیت ضد باکتریایی عصاره متانولی *A.sieberi* توسط طایفه و همکاران نشان داد که عصاره گیاه مذکور قابلیت ضد باکتریایی بالایی بر یرسینیا انتروکولیتیکا داشته اما اثر ضد باکتریایی بر اشریشیا کولای ندارد(۲۴). نتایج حاصل از مطالعه مذکور(۲۴) منطبق با نتایج حاصل از مطالعه حاضر است زیرا در این بررسی نیز اثر ضد باکتریایی بر اشریشیا کولای توسط عصاره گیاه مذکور مشاهد نشد.

اگرچه قابلیت ضد باکتریایی بالایی از اسانس و عصاره گونه‌های مختلف درمنه گزارش شده اما در بررسی حاضر قابلیت ضد باکتریایی گونه‌ها مختلف در غلظت پایین مورد بررسی قرار گرفت و فقط در دو گونه *A.absinthium* و *A.vulgaris* اثرات ضد باکتریایی قابل توجه مشاهده شد که این می‌تواند به دلیل تفاوت در سویه‌های باکتریایی مورد مطالعه، نوع عصاره مورد بررسی و نیز گونه‌های درمنه مورد مطالعه باشد. مطالعات پیشین نشان داده‌اند که ترکیبات مختلف گیاهی به ویژه ترکیبات فنلی نقش مهمی را در ایجاد قابلیت ضد میکروبی گیاهان مختلف از جمله گونه‌های مختلف درمنه ایفا می‌کنند. بررسی‌های فیتو شیمیایی انجام شده در این خصوص منجربه معرفی انواع مختلفی از ترکیبات گیاهی از گونه‌های جنس درمنه شده است. ترکیبات غالب و مشترک گزارش شده از گونه‌های مختلف درمنه شامل آرتیمیزین، فلاندرن، کوئرستین، ایزورهامنتین، سیمن، بتا میرسن، سابینن، پینن و منتان است که بسته به گونه گیاهی و محل رویش درصد آن‌ها و بخش تجمع یافته متفاوت خواهد شد. این تفاوت در تجمع ترکیبات موثره می‌تواند منجر به اثر بخشی متفاوت قسمت‌های مختلف این گیاهان شود(۲۶،۲۵).

Weathers و همکاران نشان دادند که میزان آرتیمیزین که یکی از ترکیبات اصلی گونه‌های مختلف درمنه است، در بخش‌های هوایی بیش‌تر بوده و این امر موجب افزایش قابلیت ضد میکروبی و ضد سرطانی بخش‌های هوایی شده است(۲۷). در مطالعه‌ای مشابه مشخص شد که آلفا فلاندرن ترکیب غالب موجود در گونه *A.absinthium* می‌باشد.

در مطالعه حاضر و هم در مطالعات قبلی قابلیت ضد میکروبی بالایی از این گونه مشاهده شد لذا ترکیب مذکور می‌تواند دلیلی برای ایجاد خواص ضد میکروبی باشد(۲۸). نتیجه بررسی محمدی و همکاران نیز نشان داد که آرتمیزیا کتون ترکیب اصلی تشکیل‌دهنده اسانس برگ، ساقه و گل آذین درمنه بود که بیش‌ترین میزان آن در گل آذین گیاه وجود دارد(۲۹).

همان‌طور که اشاره شد یکی از حوزه‌های مورد توجه در پژوهش‌های دارویی طی سال‌های اخیر معرفی ترکیبات طبیعی با قابلیت اثرگذاری بر فعالیت‌های سیستم ایمنی خصوصاً تکثیر سلول‌های ایمنی است. بر این اساس تاکنون اثرگذاری گونه‌های مختلف دارویی بر رشد و تکثیر لنفوسیت‌ها مورد بررسی قرار گرفته است. در همین راستا تاکنون طی بررسی‌های محدودی اثر بخشی گونه‌های مختلف درمنه بر عملکرد سیستم ایمنی به ویژه تکثیر سلول‌های لنفوسیت را مورد ارزیابی قرار داده‌اند.

Chen و همکاران نشان دادند که پلی ساکاریدهای جداسازی شده از *A.annua* دارای قابلیت تعدیل پاسخ‌های ایمنی بوده و می‌تواند موجب افزایش رشد و تکثیر سلول‌های لنفوسیت T شود(۳۰).

در بررسی مشابه دیگر، شهنازی و همکاران تایید اثر بخشی عصاره *A.absinthium* را بر بلوغ و عملکرد سلول‌های دندریتیک سیستم ایمنی نشان دادند(۳۱). اما در مقابل برخی از مطالعات صورت گرفته حاکی از

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-11-21]

قابلیت سرکوب عملکرد سیستم ایمنی و یا کاهش میزان تکثیر سلول‌های ایمنی می‌باشد.

مطالعه نادری و همکاران نشان داد که دی هیدروآرتیمیزینین مشتق شده از *A.annua* می‌تواند با مهار آنزیم کلسینورین موجب سرکوب فعالیت لنفوسیت‌های T شود(۳۲). بررسی انجام شده توسط Wang و همکاران نیز قابلیت مهار کنندگی و جلوگیری از تکثیر لنفوسیت‌ها توسط عصاره آبی *A.vestita* را تایید نموده است(۳۳). اگرچه قابلیت اثرگذاری گونه‌های مختلف درمنه در مطالعات متعدد مورد بررسی قرار گرفته است اما در مطالعه حاضر هفت گونه درمنه به صورت هم زمان مورد بررسی قرار گرفته و اثر بخشی عصاره حاصل از بخش‌های مختلف نیز مورد بررسی قرار گرفت. گیاهان مختلف اگرچه ممکن است دارای قابلیت دارویی و موثر بالایی باشند اما ممکن است حاوی ترکیباتی باشند که قابلیت سمیت سلولی، جهش‌زایی و تراتوژن داشته باشند لذا بررسی ایمنی گیاهان دارویی بسیار مهم و حائز اهمیت می‌باشد. بر این اساس تاکنون بررسی‌های مختلفی در خصوص ایمنی استفاده از گیاهان دارویی مختلف انجام شده که دربرخی عدم جهش‌زایی و در برخی نیز القای جهش‌زایی و آسیب‌های کروموزومی تایید شده است. در این راستا بررسی انجام شده توسط نصرتی و همکاران حاکی از ایمنی و عدم جهش‌زایی گونه‌های مختلف جنس جاشیر بوده است(۱۹،۱۸).

در پژوهشی مشابه نیز رزنده و همکاران عدم جهش‌زایی و ایمنی گیاه دارویی Baccharis dracunculifolia را نشان داده‌اند(۳۴). اما در مقابل برخی از بررسی‌های انجام شده در این خصوص حاکی از قابلیت جهش زایی برخی از گیاهان است. مطالعه انجام شده توسط Eren و همکاران نشان داد که عصاره گیاه دارویی Limonium globuliferum موجب القای آسیب‌های کروموزومی در آزمون مریستم‌های پیاز می‌شود(۳۵). علی‌رغم بررسی‌های متعدد صورت گرفته در خصوص اثرات مطلوب دارویی گونه‌های مختلف درمنه تا کنون بررسی در خصوص ایمنی و مطالعه پتانسیل جهش‌زایی این گیاهان صورت نگرفته است و مطالعه حاضر اولین بررسی انجام شده در این زمینه بوده است.

در پایان می‌توان نتیجه‌گیری کرد که هفت گونه درمنه مورد بررسی در این مطالعه قابلیت جهش زایی نداشت وگل و ریشه این گیاهان به صورت هم‌زمان دارای قابلیت ضد باکتریایی و اثرگذاری بر رشد و تکثیر سلول‌های لنفوسیت است. بنابراین با افزایش عملکرد سیستم ایمنی درکنار قابلیت ضد باکتریایی مستقیم می‌توانند به عنوان گزینه‌ای مناسب جهت استفاده در بیماری‌های عفونی و نقص‌های ایمنی مورد استفاده قرار بگیرند.

سپاسگزاری

این پروژه در قالب طرح پژوهشی به شماره ۹۱/۸۲۷۷۹انجام شده و بودجه آن توسط معاونت پژوهشی دانشگاه اصفهان تامین شد. لذا بدین‌وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه سپاسگزاری می‌شود.

References

1. Nagarathna PK, Reena K, Reddy S, Wesley J. Review on Immunomodulation and Immunomodulatory activity of some herbal plants. Int J Pharm Sci Rev Res 2013; 22(1): 223-230.
2. Manu KA, Kuttan G. Immunomodulatory activities of Punarnavine, an alkaloid from Boerhaavia diffusa. Immunopharmacol Immunotoxicol 2009; 31(3): 377-387.
3. Roshan N, Savitri P. Review on Chemical Constituents and Parts of Plants as Immunomodulators. Res J Pharm Biol Chem Sci 2013; 4(1): 76-90.
4. Kafash-Farkhad N, Asadi-Samani M,

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-11-21]

Rafieian-Kopaei M. A review on phytochemistry and pharmacological effects of Prangos ferulacea (L.) Lindl. Life Sci J 2013; 10(8s): 360-367.

5. Eze EA, Oruche NE, Onuora VC, Eze CN. Antibacterial screening of crude ethanolic leaf extracts of four medicinal plants. Journal of Asian Scientific Research 2013; 3(5): 431-439
6. Miri A, Rad JS, Alfatemi SM, Rad MS. A study of antibacterial potentiality of some plants extracts against multidrug resistant human pathogens. Ann Biol Res 2013; 4(8): 35-41.
7. Nascimento GG, Locatelli J, Freitas PC, Silva GL. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. Braz J Microbiol 2000; 31(4): 247-256.
8. Sharma AK, Kumar A, Yadav SK, Rahal A. Studies on antimicrobial and immunomodulatory effects of hot aqueous extract of Acacia nilotica L. leaves against common veterinary pathogens. Veterinary medicine international. 2014; 2014.
9. Nosrati M, Behbahani M. The effects of the Methanolic Extracts of Prangos Uloptera and Crossoptera on the Growth, Mutagenicity and Proliferation of Human Lymphocytes, Based on Ames Test. JBUMS 2015; 17(6): 64-73.
10. Sriwanthana B, Treesangsri W, Boriboontrakul B, Niumsakul S, Chavalittumrong P. In vitro effects of Thai medicinal plants on human lymphocyte activity. Songklanakarin J Sci 2007; 29(Supp1): 17-28.
11. Amirghofran Z, Hashemzadeh R, Javidnia K, Golmoghaddam H, Esmaeilbeig A. In vitro immunomodulatory effects of extracts from three plants of the Labiatae family and isolation of the active compound (s). J Immunotoxicol 2011; 8(4): 265-273.
12. Fernandes de Sá Ferreira IC, Ferrão Vargas VM. Mutagenicity of medicinal plant extracts in Salmonella/microsome assay. Phytother Res 1999; 13(5): 397-400.
13. Gordanian B, Behbahani M, Carapetian J, Fazilati M. Evaluation of Cytotoxicity of Sagebrush Plain Extract on Human Breast Cancer MCF7 Cells. Armaghane Danesh 2013; 18(3): 241-251 (Persian).
14. Ferreira JFS, Luthria D L, Sasaki T, Heyerick A. Flavonoids from *Artemisia annua* L. as Antioxidants and Their Potential Synergism with artemisinin against malaria and cancer. Molecules 2010; 15(5): 3135-3170.
15. Jafari M, Aleni A, Malekpur B. Investigation of some ecological properties of *Artemisia Sieberi* in hotbeds of Ardabil province. J Environmental Studies 2004; 32: 15-20 (Persian).
16. Lopes-Lutz D, Alviano DS, Alviano CS, Kolodziejczyk PP. Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of Artemisia essential oils. Phytochemistry 2008; 69(8): 1732-1738.
17. Dar JS, Rauf Tak I, A Ganai B, Dawood M. Phytochemical studies on the extract and essential oils of Artemisia dracunculus L. (Tarragon). Afr J Plant Sci 2014; 8(1): 72-75.
18. Nosrati M, Behbahani M. Antibacterial Activity of Methanol Extracts from Different Parts of Prangos crossoptera and their Synergistic Effect on Some Antibiotics. J Mazandaran Univ Med Sci. 2015; 25(129): 92-101 (Persian).
19. Nosrati M, Behbahani M. The Evaluation Effect of Methanol Extracts from Prangos Ferulacea and Prangos Acaulis on Human Lymphocytes Proliferation and Their

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-11-21]

Mutagenicity in Ames Test. Arak University of Medical Sciences Journal 2015; 18(4): 81-93 (Persian).

20. Saedi Z, Behbahan M. Evaluation of methanol extracts activity of seed, skin, leaf and juice from five Iranian grape cultivars on lymphocyte proliferation. Research in Medicine 2014; 37(4): 200-204 (Persian).
21. Rahimi S, Teymori Zadeh Z, Torshizi K, Omidbaigi R, Rokni H. Effect of the three herbal extracts on growth performance, immune system, blood factors and intestinal selected bacterial population in broiler chickens. JAST 2011; 13(4): 527-539 (Persian).
22. Ahameethunisa AR, Hopper W. Antibacterial activity of Artemisia nilagirica leaf extracts against clinical and phytopathogenic bacteria. BMC Complement Altern Med 2010: 29; 10: 6.
23. Msaada K, Salem N, Bachrouch O, Bousselmi S, Tammar S, Alfaify A, et al. Chemical composition and antioxidant and antimicrobial activities of wormwood (Artemisia absinthium L.) Essential oils and phenolics. Journal of Chemistry 2015; 2015: 1-12.
24. Tayefeh HE, Sefidkon F, Yousefi M, Teimouri M. Essential oil composition and antimicrobial activities of oil, alcoholic extract of Artemisia sieberi from Firoozkooh region. Iranian Journal of Biology 2012; 25(3): 445-455.
25. Tigno XT, de Guzman F, Flora AM, Theresa V. Phytochemical analysis and hemodynamic actions of Artemisia vulgaris L. Clin Hemorheol Microcirc 2000; 23(2-4): 167-175.
26. Jitin A, Suresh J, Deep A, Madhuri Pratyusha R. Phytochemical screening of aerial parts of Artemisia parviflora Roxb. A medicinal plant. Der Pharmacia Lettre 2011; 3(6): 116-124.
27. Weathers PJ, Arsenault PR, Covello PS, McMickle A, Teoh KH, Reed DW. Artemisinin production in Artemisia annua: studies in planta and results of a novel delivery method for treating malaria and other neglected diseases. Phytochem Rev 2011; 10(2): 173-183.
28. Lopes-Lutz D, Alviano DS, Alviano CS, Kolodziejczyk PP. Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of Artemisia essential oils. Phytochemistry 2008; 69(8): 1732-1738.
29. Mohammadi A, Sani TA, Ameri AA, Imani M, Golmakani E, Kamali H. Seasonal variation in the chemical composition, antioxidant activity, and total phenolic content of Artemisia absinthium essential oils. Pharmacognosy Res 2014; 7(4): 329-334.
30. Chen J, Chen J, Wang X, Liu C. Anti-tumour effects of polysaccharides isolated from Artemisia Annua L by inducing cell apoptosis and immunomodulatory anti-hepatoma effects of polysaccharides. Afr J Tradit Complement Altern Med 2013; 11(1): 15-22.
31. Shahnazi M, Azadmehr A, Hajiaghaee R, Mosalla S, Latifi R. Effects of Artemisia Absinthium L. Extract on the Maturation and Function of Dendritic Cells. Jundishapur J Nat Pharm Prod 2015; 10(2): e20163.
32. Naderi G, Moukhah R, Yousefi A.In Vitro Evaluation of Inhibitory Effect of Artemisinin and Dihydroartemisinin on Calcineurin Enzyme. Journal of Basic and Clinical Pathophysiology 2015; 3(2): 37-42 (Persian).
33. Wang JL, Li CS, Dun Z, Zhou HY. Immunosuppressive effect of Tibetan medicine, Artemisia vestita Wall Extract. Sichuan Da Xue Xue Bao Yi xue ban 2006; 37(6): 908-912.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-11-21]

34. Resende FA, Alves JM, Munari CC, Senedese JM, Sousa JP, Bastos JK, et al. Inhibition of doxorubicin-induced mutagenicity by Baccharis dracunculifolia. Mutat Res 2007; 634(1): 112-118.

35. Eren Y, Özata A. Determination of mutagenic and cytotoxic effects of Limonium globuliferum aqueous extracts by Allium, Ames, and MTT tests. Rev Bras Farmacogn 2014; 24(1): 51-59.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-11-21]