

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

Hassan Mohabatkar¹,
Mokhtar Nosrati²,
Mandana Behbahani¹,
Mohammad Reza Rahiminejad³

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. *Artemisia 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

بررسی قابلیت ضد باکتریایی و جهش‌زایی گونه‌های مختلف گیاه درمنه و اثر بخشی آن‌ها بر رشد و تکثیر لنفوسیت‌های 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 جهش‌زایی 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 رشد و تکثیر لنفوسیت‌های انسانی توسط آزمون ایمز و MTT مورد بررسی قرار گرفت.

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

استنتاج: نتایج نشان داد که هیچ کدام 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.

واژه‌های کلیدی: ضد باکتری، تعدیل‌گر ایمنی، جهش‌زایی، درمنه

مقدمه

دسترس بودن، ارزان بودن و اثرات جانبی کم‌تر نسبت به ترکیبات دارویی سنتزی بیش‌تر مورد توجه قرار گرفته‌اند (۱-۳). 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

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

E-mail: h.mohabatkar@ast.ui.ac.ir

مؤلف مسئول: حسن محبت کار - دانشگاه اصفهان: دانشگاه اصفهان، دانشکده علوم و فن آوری های نوین

۱. دانشیار، گروه زیست فناوری، دانشکده علوم و فناوری های نوین، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

۲. دانشجوی دکتری نانویوتکنولوژی، 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

لنفوسیت های انسانی اخیراً مورد توجه قرار گرفته و بر همین اساس گیاهان دارویی با قابلیت کاهش یا افزایش تکثیر این سلول ها معرفی شده است (۱۰، ۱۱). گیاهان دارویی علی رغم دارابودن خواص مطلوب دارویی تایید شده و دارا بودن ویژگی های مطلوب درمانی می توانند حاوی ترکیباتی باشند که دارای اثرات سمیت سلولی، جهش زایی، تراژون و سمیت مزمن طولانی مدت هستند. در این بین سمیت ژنتیکی به علت احتمال ایجاد سرطان و آسیب های جدی برگشت ناپذیر مهم تر است. لذا در کنار بررسی قابلیت های موثر دارویی گیاهان، مطالعه ایمنی آن ها نیز از اهمیت بالایی برخوردار است (۱۲).

جنس گیاهی درمنه یا یوشان با نام علمی *Artemisia* از خانواده چتریان و از مهم ترین جنس های تیره کاسنی از جمله گیاهان دارویی با پراکنش بالا و خواص متعدد دارویی تایید شده می باشند. این جنس گیاهی دارای حدود ۴۰۰ گونه مختلف در سرتاسر دنیا بوده که به صورت وسیع در آسیا، اروپا و آمریکای شمالی یافت می شوند. بر اساس مطالعات صورت گرفته، مشخص شده است که حدود ۳۴ گونه از جنس درمنه در ایران یافت می شود (۱۳). در طب سنتی خواص متعددی هم چون ضد تب، ضد کرم، تسکین دهنده و ضد عفونت های میکروبی برای گونه های مختلف درمنه ذکر شده است (۱۴). نتایج بررسی های مختلف نیز اثرات مطلوب درمانی این گیاهان را در درمان دیابت، مالاریا، هپاتیت، عفونت های قارچی، عفونت های باکتریایی و ویروسی تایید نموده است (۱۵). بررسی های فیتوشیمیایی مختلف به عمل آمده در خصوص شناسایی ترکیبات موجود در گیاهان جنس درمنه حضور انواع ترکیبات گیاهی از جمله فلاونوئیدها، استروئیدها، تریپنئیدها، ساپونین ها، تانن ها و روغن های فرار را تایید نموده است. در همین راستا مطالعات نشان داده اند که ترپن ها و فلاونوئیدها بیش ترین نقش را در ظهور اثرات مطلوب درمانی گیاهان این جنس خصوصاً در مورد اثرات ضد سرطانی و ضد میکروبی ایفا می کنند (۱۶، ۱۷). اگر چه

مشخص شده که درمان بیماری هایی هم چون سرطان، بیماری های عفونی، دیابت و اختلالات گوارشی به وسیله گیاهان دارویی امید بخش بوده است (۴). یکی از رهیافت های نوین در عرصه تحقیقات دارویی با هدف دستیابی به ترکیبات آنتی بیوتیکی جدید شناسایی و معرفی گیاهانی است که حاوی ترکیباتی با اثرات ضد میکروبی است. اگر چه 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، متابولیت های سمی، غیر فعال شدن و طیف اثر محدود موجب شده تا جستجوی گیاهانی که می توانند عملکرد سیستم ایمنی را تحت تاثیر قرار دهند، در سال های اخیر مورد توجه قرار بگیرد (۷-۵). لذا هدف مطلوب چنین تحقیقاتی شناسایی گیاهان دارویی حاوی مواد موثره با قابلیت دوگانه ضد میکروبی - تعدیل گر می باشد. به عبارت دیگر یکی از اهداف مطلوب پژوهش گران دستیابی به ترکیبات است که در عین دارا بودن ویژگی های ضد میکروبی قابلیت تعدیل پاسخ های سیستم ایمنی را داشته باشند (۸). گسترده گی و پیچیدگی بالای سیستم ایمنی بررسی تاثیر ترکیبات مختلف را بر عملکرد آن دشوار نموده است. لذا در بررسی های مختلف صورت گرفته سعی می شود تاثیر عوامل مختلف براجزای اصلی که شامل سلول های ایمنی است، بررسی شود. سلول های 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 سلول ها که به دو دسته لنفوسیت های T و B طبقه بندی می شوند از اجزای اصلی سیستم ایمنی خصوصاً در بیماری های عفونی به شمار می آیند. تغییر نرخ رشد و تکثیر این سلول ها در شرایط یکسان می تواند معیاری برای تصمیم گیری در خصوص تاثیر عوامل مختلف بر عملکرد سیستم ایمنی تلقی شود. بررسی اثربخشی گیاهان دارویی مختلف بر روند رشد و تکثیر

کاغذ صافی و در سه بار متوالی صاف شده و جهت تغلیظ به دستگاه روتاری (stroglass, Italy) در دمای ۴۵ درجه سانتی گراد 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 گراد منتقل شدند. به منظور تهیه غلظت‌های مختلف از عصاره‌های مذکور میزان ۵ میلی گرم 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 میلی لیتر رقیق شد (۹).

محیط کشت و سویه‌های مورد مطالعه

در مطالعه حاضر خواص ضد باکتریایی عصاره‌ها بر سودوموناس آئروژینوزا (PTCC 1430)، اشریشیا کولای (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 سانتی گراد 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

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 لئوسیت‌های انسانی بوده است.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر از نوع تجربی بوده است.

جمع‌آوری نمونه‌ها و تعیین گونه

نمونه‌های گیاهی مورد نظر در تیر و مرداد ۱۳۹۴ در دو مرحله قبل و بعد از گل دهی از سه شهر اصفهان، ارومیه و مشهد جمع‌آوری و در بخش گیاه‌شناسی دانشکده زیست‌شناسی دانشگاه اصفهان مورد تایید قرار گرفت و نام علمی هر یک 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 غوطه‌ور شدند. سپس محلول‌های حاصل به مدت ۷۲ ساعت روی شیکر با دور ۱۶۰ rpm و در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد قرار گرفتند. پس از مدت مذکور عصاره‌های حاصل با استفاده از

استریل، پلیت‌هایی که 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 از خون 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 میلی‌لیتر لنفودکس منتقل و به مدت ۲۰ دقیقه در سانتریفیوژ با دور ۱۸۰۰۰g سانتریفیوژ شدند. پس از سانتریفیوژ خون به سه لایه تقسیم می‌شود که لایه سفید رنگ حاوی لنفوسیت‌ها می‌باشند. لایه مذکور در شرایط استریل و با استفاده از پیست پاستور جدا شد و به محیط کشت RPMI منتقل شدند. محیط مذکور حاوی ۱۰ درصد سرم گاوی، ۱۰۰ واحد بر میلی‌لیتر پنی‌سیلین، ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر استرپتومايسين، ۲ میکرومول گلوتامین و ۱ میکرومول پیرووات می‌باشد. سلول‌های کشت داده شده به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور ۵ درصد CO₂ 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 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تترازولیوم بروماید فیلتر شده انجام شد. اساس این روش احیای کریستال‌های زرد رنگ تترازولیوم و تبدیل آن‌ها به کریستال‌های آبی رنگ

سوسپانسیونی معادل با رقت نیم مک فارلند حاوی $10^8 \times 1/5$ CFU/ml تهیه شد. سپس سوسپانسیون‌های باکتریایی مذکور با استفاده از سواب استریل بر سطح محیط کشت مولر هینتون آگار پخش شد. در ادامه به دیسک‌های کاغذی مخصوص آزمون آنتی‌بیوگرام 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 اندازه‌گیری شد. در مطالعه حاضر از دیسک‌های استاندارد پنی‌سیلین و آمپی‌سیلین 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 مولر هینتون، ۵۰ میکرولیتر از عصاره‌های مورد مطالعه در محدوده غلظتی ۲۵ تا ۳۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و ۵۰ میکرولیتر از سوسپانسیون‌های رقیق شده باکتریایی معادل ۰/۵ مک فارلند افزوده شد. ۵۰ میکرولیتر از محلول آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین و پنی‌سیلین 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 الیزا خوان اندازه‌گیری شد. اولین چاهکی که حاوی عصاره گیاهی بوده و جذبی در ۶۲۰ نانومتر نداشتند، به عنوان MIC در نظر گرفته شد. به منظور تعیین MBC نیز ۵۰ میکرولیتر از محتوی چاهک‌هایی که رشدی در آن‌ها صورت نگرفته بود به محیط مولر هینتون آگار منتقل شد و پس از پخش به وسیله سواب

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 لئفوسیت‌ها بودند را در دو 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 غوطه‌ور 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 سانتی‌گراد گرماگذاری انجام شد. پس از مدت مذکور تعداد کلنی‌های برگشتی که معیاری از میزان جهش‌زای ماده مورد آزمون است، شمارش شد. سپس برای هر کدام از غلظت‌ها شاخص Qm تعریف شد. شاخص ذکر شده تعیین‌کننده میزان جهش‌زایی نمونه‌های مورد مطالعه است. به طوری که Qm پایین‌تر از ۱/۶ نشان‌دهنده عدم جهش‌زایی، Qm در محدوده ۱/۷ تا ۱/۹ نشان‌دهنده احتمال جهش‌زا بودن ماده مورد مطالعه و Qm در حدود ۲ و بالاتر جهش‌زا بودن ماده مورد مطالعه را نشان 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).

فرمول ۲:

$$\text{شاخص کمی جهش‌زایی (Qm)} = \frac{\text{تعداد کلنی برگشتی ناشی از نمونه مورد بررسی}}{\text{تعداد کلنی ناشی از کنترل منفی}}$$

نامحلول فورمازان به وسیله آنزیم سوکسینات دهیدروژناز میتوکندریایی 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 الایزخوان 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 لئفوسیت‌ها با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد (۱۹):

$$\text{فرمول ۱: درصد بقا} = 100 \times \frac{\text{جذب حاصل از هر نمونه}}{\text{جذب کنترل منفی}}$$

بررسی میزان جهش‌زایی عصاره‌های گیاهی

به منظور بررسی قابلیت جهش‌زایی 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 باکتری‌ها 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

بیش تر از ریشه است. علاوه بر این نتایج نشان داد که *A. vulgaris* بیش ترین قابلیت ضد باکتریایی را داشته و پس از آن گونه های *A. khorasanica*، *A. absinthium*، *A. sieberi*، *A. aucheri*، *A. fragrans*، *A. deserti* قرار دارند. نتایج حاصل از تعیین MIC و MBC عصاره های مورد آزمون و کنترل مثبت (پنی سیلین) به ترتیب در جدول شماره ۲ و ۳ نشان داده شده است.

نتایج این بخش کاملاً منطبق بر داده های حاصل از بررسی با روش انتشار دیسک بود. به عبارت دیگر نتایج حاصل از این بخش نشان داد که عصاره های 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 چشم گیری را نشان دادند. علاوه بر آن نتایج نشان داد که MIC برای عصاره گل گونه های مورد بررسی در محدوده ۷۵۰ تا ۳۰۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر و برای ریشه در محدوده ۱۰۰۰ تا ۳۰۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر قرار دارد. میزان MBC برای عصاره مذکور به ترتیب در محدوده ۱۵۰۰ تا ۳۰۰۰ و > ۲۰۰۰ تا > ۳۰۰۰ تعیین شد. نتایج هم چنین نشان داد که باسیلوس سابتیلیس و سودوموناس آئروژنوزا به ترتیب حساس ترین و مقاوم ترین سویه ها نسبت به عصاره های مورد بررسی بودند.

به منظور محاسبه میانگین داده و میزان خطای معیار میانگین و هم چنین بررسی وجود اختلاف معنی دار بین داده های مربوط به عصاره های حاصل از بخش های مختلف با هم و نیز مقایسه اثر بخشی گونه های مختلف با هم از آزمون آنالیز واریانس و دانکن در سطح معنی داری $p < 0.05$ استفاده شد.

یافته ها

نتایج مربوط به اندازه گیری هاله های عدم رشد مربوط به عصاره های حاصل از هفت گونه درمنه مورد بررسی و آنتی بیوتیک های استاندارد در جدول شماره ۱ ذکر شده است.

نتایج نشان داد که قابلیت ضد باکتریایی عصاره گونه های گیاهی مورد بررسی در غلظت های مورد مطالعه از الگوی مشابه پیروی می کند. بر این اساس مشخص شد که عصاره های مربوط به برگ، ساقه و بذر در هیچ کدام از گونه های 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. بررسی های مقایسه ای نشان داد که قابلیت ضد باکتریایی گل در تمامی گونه ها

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

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

نتایج ذکر شده فقط مربوط به غلظت ها و بخش هایی است که اثرات ضد باکتریایی قابل اندازه گیری داشتند.

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

MBC	MIC	سویه های مورد بررسی	پنی سیلین
۱۵۰۰	۷۵۰	سودوموناس آنروژنوزا	
۵۰۰	۲۵۰	باسیلوس ساتیلیس	
۱۰۰۰	۵۰۰	اشرشیا کولای	
۱۵۰۰	۵۰۰	سودوموناس پوتیدا	
۷۵۰	۲۵۰	انتروکوکوس فکالیس	
۱۵۰۰	۷۵۰	استریتوکوکوس پایورنتر	

اثر بخشی عصاره‌ها بر رشد و تکثیر سلول‌های لئفوسیت

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 چشم‌گیری در رشد و تکثیر سلول‌های لئفوسیت 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 لئفوسیت‌ها 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 لئفوسیت‌ها داشت. اما در مقابل گونه *A.absinthium* علی‌رغم خواص ضد باکتریایی قوی، کم‌ترین تاثیر را بر رشد و تکثیر لئفوسیت‌ها داشت.

بررسی قابلیت جهش‌زایی 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 هیچ‌کدام 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

جدول شماره ۲: نتایج حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی عصاره بخش‌های مختلف هفت گونه درمنه*

ردیف	نام گونه	سویه های مورد مطالعه	بخش‌های گیاهی			
			ریشه		گل	
MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	
۱	<i>A.vulgaris</i>	سودوموناس آنروژنوزا	۲۵۰۰	۱۵۰۰	۲۰۰۰	۱۰۰۰
		باسیلوس ساتیلیس	۱۰۰۰	۵۰۰	۱۵۰۰	۱۰۰۰
		اشرشیا کولای	۲۰۰۰	۱۰۰۰	۲۵۰۰	۱۵۰۰
		سودوموناس پوتیدا	۳۰۰۰	۱۵۰۰	۲۰۰۰	۱۰۰۰
		انتروکوکوس فکالیس	۲۰۰۰	۷۵۰	۲۰۰۰	۷۵۰
استریتوکوکوس پایورنتر	۱۰۰۰	۵۰۰	۲۵۰۰	۱۵۰۰		
۲	<i>A.absinthium</i>	سودوموناس آنروژنوزا	۲۵۰۰	۱۵۰۰	۳۰۰۰	۲۰۰۰
		باسیلوس ساتیلیس	۱۵۰۰	۷۵۰	۲۰۰۰	۱۰۰۰
		اشرشیا کولای	۲۵۰۰	۱۵۰۰	۳۰۰۰	۲۵۰۰
		سودوموناس پوتیدا	۳۰۰۰	۲۰۰۰	۲۵۰۰	۱۲۵۰
		انتروکوکوس فکالیس	۲۰۰۰	۱۰۰۰	۳۰۰۰	۱۲۵۰
استریتوکوکوس پایورنتر	۲۰۰۰	۷۵۰	۲۰۰۰	۱۰۰۰		
۳	<i>A.khorasanica</i>	سودوموناس آنروژنوزا	۳۰۰۰	۲۰۰۰	۳۰۰۰	۲۵۰۰
		باسیلوس ساتیلیس	۲۰۰۰	۱۰۰۰	۳۰۰۰	۱۵۰۰
		اشرشیا کولای	۳۰۰۰	۲۰۰۰	۳۰۰۰	۲۰۰۰
		سودوموناس پوتیدا	۲۵۰۰	۱۲۵۰	۳۰۰۰	۲۵۰۰
		انتروکوکوس فکالیس	۲۵۰۰	۱۲۵۰	۲۵۰۰	۱۲۵۰
استریتوکوکوس پایورنتر	۳۰۰۰	۱۵۰۰	۳۰۰۰	۱۵۰۰		
۴	<i>A.fragrans</i>	سودوموناس آنروژنوزا	۳۰۰۰	۳۰۰۰	۳۰۰۰	۳۰۰۰
		باسیلوس ساتیلیس	۲۰۰۰	۱۰۰۰	۲۵۰۰	۱۵۰۰
		اشرشیا کولای	۳۰۰۰	۲۰۰۰	۳۰۰۰	۲۵۰۰
		سودوموناس پوتیدا	۳۰۰۰	۳۰۰۰	۳۰۰۰	۳۰۰۰
		انتروکوکوس فکالیس	۳۰۰۰	۲۰۰۰	۳۰۰۰	۲۰۰۰
استریتوکوکوس پایورنتر	۲۵۰۰	۱۰۰۰	۳۰۰۰	۲۰۰۰		
۵	<i>A.deserti</i>	سودوموناس آنروژنوزا	۳۰۰۰	۳۰۰۰	۳۰۰۰	۲۰۰۰
		باسیلوس ساتیلیس	۳۰۰۰	۲۰۰۰	۳۰۰۰	۲۰۰۰
		اشرشیا کولای	۳۰۰۰	۳۰۰۰	۳۰۰۰	۲۰۰۰
		سودوموناس پوتیدا	۳۰۰۰	۳۰۰۰	۳۰۰۰	۲۰۰۰
		انتروکوکوس فکالیس	۳۰۰۰	۲۰۰۰	۳۰۰۰	۲۰۰۰
استریتوکوکوس پایورنتر	۳۰۰۰	۲۰۰۰	۳۰۰۰	۲۰۰۰		
۶	<i>A.aucheri</i>	سودوموناس آنروژنوزا	۳۰۰۰	۳۰۰۰	۳۰۰۰	۳۰۰۰
		باسیلوس ساتیلیس	۳۰۰۰	۲۰۰۰	۳۰۰۰	۲۵۰۰
		اشرشیا کولای	۳۰۰۰	۳۰۰۰	۳۰۰۰	۳۰۰۰
		سودوموناس پوتیدا	۳۰۰۰	۲۵۰۰	۳۰۰۰	۳۰۰۰
		انتروکوکوس فکالیس	۳۰۰۰	۳۰۰۰	۳۰۰۰	۲۵۰۰
استریتوکوکوس پایورنتر	۳۰۰۰	۲۵۰۰	۳۰۰۰	۳۰۰۰		
۷	<i>A.sieberi</i>	سودوموناس آنروژنوزا	۳۰۰۰	۲۰۰۰	۳۰۰۰	۳۰۰۰
		باسیلوس ساتیلیس	۳۰۰۰	۲۰۰۰	۳۰۰۰	۲۰۰۰
		اشرشیا کولای	۳۰۰۰	۳۰۰۰	۳۰۰۰	۳۰۰۰
		سودوموناس پوتیدا	۳۰۰۰	۳۰۰۰	۳۰۰۰	۳۰۰۰
		انتروکوکوس فکالیس	۳۰۰۰	۳۰۰۰	۳۰۰۰	۳۰۰۰
استریتوکوکوس پایورنتر	۳۰۰۰	۳۰۰۰	۳۰۰۰	۳۰۰۰		

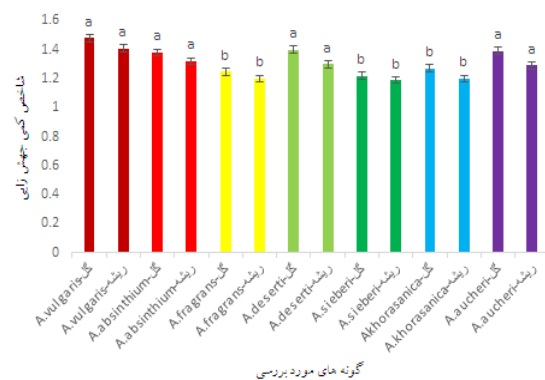
* تمامی غلظت‌ها بر حسب میکروگرم بر میلی‌لیتر می‌باشد. به علت عدم مشاهده قابلیت ضد باکتریایی از عصاره برگ، ساقه و بذر اطلاعات مربوط به این بخش‌ها ذکر نشده است.

بحث

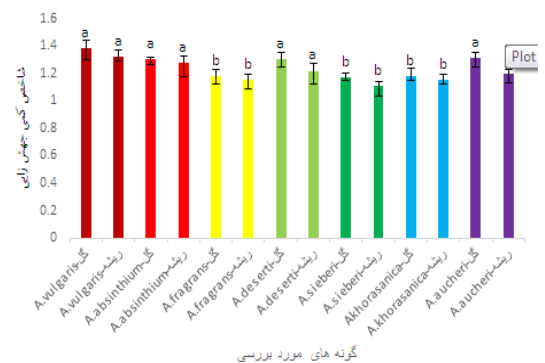
نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که گونه‌های مختلف جنس درمنه می‌توانند در غلظت‌های پایین علی‌رغم فقدان پتانسیل جهش زاپی قابلیت ضد باکتریایی بالایی داشته و نیز می‌توانند موجب افزایش رشد و تکثیر سلول‌های لنفوسیت شوند. معضل مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی و نقص‌های ایمنی موجب شده تا جستجو و معرفی ترکیبات طبیعی 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 می‌تواند 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 بیش تر مورد توجه بوده است.

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 بیش ترین و کم ترین تعداد کلنی‌های برگشتی به ترتیب مربوط به عصاره‌های حاصل از *A. sieberi* و *A. vulgaris* 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 زاپی 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.



نمودار شماره ۲: نتایج مربوط به پتانسیل جهش زاپی 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.

تجمع ترکیبات موثره می تواند منجر به اثر بخشی متفاوت قسمت های مختلف این گیاهان شود (۲۶،۲۵).

Weathers و همکاران نشان دادند که میزان آرتیمیزین که یکی از ترکیبات اصلی گونه های مختلف درمنه است، در بخش های هوایی بیش تر بوده و این امر موجب افزایش قابلیت ضد میکروبی و ضد سرطانی بخش های هوایی شده است (۲۷). در مطالعه ای مشابه مشخص شد که آلفا فلاندرن ترکیب غالب موجود در گونه *A. absinthium* می باشد.

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

همان طور که اشاره شد یکی از حوزه های مورد توجه در پژوهش های دارویی طی سال های اخیر معرفی ترکیبات طبیعی با قابلیت اثر گذاری بر فعالیت های سیستم ایمنی خصوصاً تکثیر سلول های ایمنی است. بر این اساس تاکنون اثر گذاری گونه های مختلف دارویی بر رشد و تکثیر لنفوسیت ها مورد بررسی قرار گرفته است. در همین راستا تاکنون طی بررسی های محدودی اثر بخشی گونه های مختلف درمنه بر عملکرد سیستم ایمنی به ویژه تکثیر سلول های لنفوسیت را مورد ارزیابی قرار داده اند.

Chen و همکاران نشان دادند که پلی ساکاریدهای جداسازی شده از *A. annua* دارای قابلیت تعدیل پاسخ های ایمنی بوده و می تواند موجب افزایش رشد و تکثیر سلول های لنفوسیت T شود (۳۰).

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

در همین راستا طی پژوهشی قابلیت چشم گیر ضد باکتریایی از عصاره هگزانی و متانولی *A. nilagirica* بر اشیریشیا کولای، پروتئوس ولگاریس، انتروباکتر آئروژنز و سالمونلا تایفی گزارش شده است (۲۲). هم چنین Msaada و همکاران نشان دادند که اسانس *A. absinthium* که در مطالعه حاضر نیز قابلیت ضد باکتریایی چشم گیری 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 برسینیا انتروکولیتیکا داشته اما اثر ضد باکتریایی بر اشیریشیا 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 اشیریشیا کولای توسط عصاره گیاه مذکور مشاهده نشد.

اگرچه قابلیت ضد باکتریایی بالایی از اسانس و عصاره گونه های مختلف درمنه گزارش شده اما در بررسی حاضر قابلیت ضد باکتریایی گونه ها 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 می تواند به دلیل تفاوت در سویه های باکتریایی مورد مطالعه، نوع عصاره مورد بررسی و نیز گونه های درمنه مورد مطالعه باشد. مطالعات پیشین نشان داده اند که ترکیبات مختلف گیاهی به ویژه ترکیبات فنلی نقش مهمی را در ایجاد قابلیت ضد میکروبی گیاهان مختلف از جمله گونه های مختلف درمنه ایفا می کنند. بررسی های فیتوشیمیایی انجام شده در این خصوص منجر به معرفی انواع مختلفی از ترکیبات گیاهی از گونه های جنس درمنه شده است. ترکیبات غالب و مشترک گزارش شده از گونه های مختلف درمنه شامل آرتیمیزین، فلاندرن، کوئرستین، ایزورهامنتین، سیمن، بتا میرسن، سایینن، پینن و منتان است که بسته به گونه گیاهی و محل رویش درصد آن ها و بخش تجمع یافته متفاوت خواهد شد. این تفاوت در

Baccharis dracunculifolia را نشان داده اند (۳۴). اما در مقابل برخی از بررسی های 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 آسیب های کروموزومی در آزمون مریستم های پیاز می شود (۳۵). علی رغم بررسی های متعدد صورت گرفته در خصوص اثرات مطلوب دارویی گونه های مختلف درمنه تا کنون بررسی در خصوص ایمنی و مطالعه پتانسیل جهش زایی این گیاهان صورت نگرفته است و مطالعه حاضر اولین بررسی انجام شده در این زمینه بوده است.

در پایان می توان نتیجه گیری کرد که هفت گونه درمنه مورد بررسی در این مطالعه قابلیت جهش زایی نداشت و گل و ریشه این گیاهان به صورت هم زمان دارای قابلیت ضد باکتریایی و اثر گذاری بر رشد و تکثیر سلول های لنفوسیت است. بنابراین با افزایش عملکرد سیستم ایمنی در کنار قابلیت ضد باکتریایی مستقیم می تواند به عنوان گزینه ای مناسب جهت استفاده در بیماری های عفونی و نقص های ایمنی مورد استفاده قرار بگیرند.

سپاسگزاری

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

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

قابلیت سرکوب عملکرد سیستم ایمنی و یا کاهش میزان تکثیر سلول های ایمنی می باشد.

مطالعه نادری و همکاران نشان داد که دی هیدروآرتیمیزین مشتق شده از *A.annua* می تواند با مهار آنزیم کلسینورین موجب سرکوب فعالیت لنفوسیت های T شود (۳۲). بررسی انجام شده توسط Wang و همکاران نیز قابلیت مهار کنندگی و جلوگیری از تکثیر لنفوسیت ها توسط عصاره آبی *A.vestita* را تایید نموده است (۳۳). اگرچه قابلیت اثر گذاری گونه های 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 بخش های 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، جهش زایی و تراوتوزن داشته باشند لذا بررسی ایمنی گیاهان دارویی بسیار مهم و حائز اهمیت می باشد. بر این اساس تاکنون بررسی های مختلفی در خصوص ایمنی استفاده از گیاهان دارویی مختلف انجام شده که در برخی عدم جهش زایی و در برخی نیز القای جهش زایی و آسیب های کروموزومی تایید شده است. در این راستا بررسی انجام شده توسط نصرتی و همکاران حاکی از ایمنی و عدم جهش زایی گونه های مختلف جنس جاشیر بوده است (۱۹،۱۸).

در پژوهشی مشابه نیز رزننده و همکاران عدم جهش زایی و ایمنی گیاه دارویی

- 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,

- 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, Boriboontarakul B, Niumsakul S, Chavalittumrong P. In vitro effects of Thai medicinal plants on human lymphocyte activity. *Songklanakarinn 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 dracunculoides* 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

- 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 Annu* 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, Hajiaghvae 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.

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.