

بررسی و مقایسه اثر ضد میکروبی عصاره های متانولی چند گونه گیاه از جنس های *Stachys* و *Phlomis*

کتایون مرتضی سمنانی* (Ph.D.)⁺ مجید سعیدی** (Ph.D.)

محمد رضا مهدوی*** (D.M.T.) فاطمه رحیمی**** (Pharm.D.)

چکیده

سابقه و هدف: بررسی و جست و جو بر روی اثر ضد میکروبی عصاره های گیاهی و ترکیبات طبیعی نشان داده است که گیاهان منابع بالقوه ای از عوامل ضد عفونت را ارائه نموده اند که این امر معرفی ترکیبات جدیدی را به دنبال داشته است. درمان ضد باکتری از طریق مواد شیمیایی به موازات توسعه سریع خود، با بروز مقاومت های دارویی نیز همراه بوده است، بدین لحاظ لزوم بررسی بر روی عوامل ضد باکتریایی جدید جهت مقابله با سویه های مقاوم ضروری به نظر می رسد. با توجه به رویکرد مجدد به گیاهان دارویی، با در نظر داشتن اثرات ضد میکروبی مناسب گونه هایی از دو جنس استخیس (*Stachys*) و فلومیس (*Phlomis*)، در این مطالعه برخی از گیاهان رویش یافته در استان مازندران که تا به حال هیچ گونه گزارشی از آنها در مجلات معتبر علمی مشاهده نگردیده است، انتخاب شده و مورد بررسی قرار گرفتند.

مواد و روش ها: پس از جمع آوری گیاهان، تأیید نام علمی آنها، خشک نمودن در سایه و عصاره گیری به روش خیساندن توسط حلال متانول، عصاره ها تغلیظ و خشک گردیدند. بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره های حاصل با دو روش دیسک کاغذی و رقت های مکرر (serial dilution) بر روی میکروارگانیسم های استافیلوکوک طلائی، کلبسیلا پنومونیه، اشریشیا کولی، استرپتوکوک سانگوئیس، پسودومونا آئروژنوس، آسپرژیلوس نایجر، کاندیدا آلبیکانس و مقایسه با جنتامایسین و آمیکاسین و آموتریسین B و تعیین MIC (حداقل غلظت مهاری) انجام گرفت.

یافته ها: مقایسه اثر مهار کنندگی رشد عصاره متانولی سه گونه استخیس، نشان داد که بر روی باکتری های گرم مثبت اثر بهتری نسبت به گرم منفی ها دارد؛ به صورتی که استخیس بیزانتینا (*S. byzantina*) و استخیس لاوان دولی فولیا (*S. lavandulifolia*) بر میکروارگانیسم استرپتوکوک سانگوئیس، استخیس لاکسا (*S. laxa*) بر روی استافیلوکوک طلائی و استخیس اینفلاتا (*S. inflata*) بر هر دو باکتری گرم مثبت مورد نظر، موثر تر عمل کردند. سه گونه استخیس در هیچ غلظتی بر قارچ های مورد بررسی موثر نبودند. مقایسه اثر مهار کنندگی رشد سه گونه فلومیس موید این مطلب بود که عصاره متانولی گیاه فلومیس بروگی پری (*P. bruguieri*) اثر بهتری بر استافیلوکوک طلائی و استرپتوکوک سانگوئیس نشان می دهد، در حالی که فلومیس هر با - ونتی (*P. herba-venti*) بر کلبسیلا پنومونیه و استرپتوکوک سانگوئیس و فلومیس الیوی پری (*P. olivieri*) اثر بیش تری بر کلبسیلا پنومونیه دارند، سه گونه فلومیس در هیچ غلظتی بر قارچ های مورد بررسی موثر نبودند. مقایسه اثر ضد باکتری عصاره های هفت گیاه مورد مطالعه نشان می دهد که همگی تا حدی اثر مهار کنندگی رشد را بر استرپتوکوک سانگوئیس نشان می دهند.

استنتاج: با توجه به نتایج حاصل، گیاهان مذکور تا حدی دارای اثرات ضد باکتری بوده ولی فاقد اثر ضد قارچ می باشند.

واژه های کلیدی: اثر ضد میکروبی، *Stachys*، *Phlomis*

* این تحقیق طی شماره ۴۰-۸۲ در شورای پژوهشی دانشگاه ثبت شده و با حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی مازندران انجام شده است.

** متخصص شیمی دارویی، عضو هیأت علمی (دانشیار) دانشگاه علوم پزشکی مازندران ☒⁺ مولف مسئول: ساری - کیلومتر ۱۸ جاده خزر آباد، دانشکده داروسازی

E-mail: Semnani_k@yahoo.com

** متخصص داروسازی صنعتی، عضو هیأت علمی (دانشیار) دانشگاه علوم پزشکی مازندران

*** کارشناس ارشد علوم آزمایشگاهی، عضو هیأت علمی (مری) دانشگاه علوم پزشکی مازندران

**** دکتر داروساز، رزیدنت دانشگاه علوم پزشکی تهران

☒ تاریخ دریافت: ۸۴/۱۲/۳ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۸۵/۱۲/۲۴ تاریخ تصویب: ۸۶/۱/۲۲

مقدمه

بی‌شک توسل به گیاهان دارویی، کهن‌ترین رهیافت بشر برای درمان بیماری‌ها بوده است و در خلال توسعه تمامی تمدن‌های بشری همواره ارتباطی تنگاتنگ و نزدیک میان آدمی و گیاه وجود داشته است. با این حال هنوز بیش‌تر گونه‌های گیاهی بررسی نشده و ناشناخته مانده‌اند و هنوز زمان زیادی مانده است تا منابع جدید و با ارزش گیاهی کشف شوند. به این ترتیب گیاهان را می‌توان به عنوان منبعی از مواد شیمیایی بالقوه مفید دانست که تنها بخشی از آن مورد بهره برداری قرار گرفته است. این مواد شیمیایی بالقوه مفید را می‌توان نه تنها به عنوان دارو بلکه به عنوان الگویی بی‌نظیر به صورت نقطه شروعی برای ساخت آنالوگ‌های دارویی به کار برد و همچنین به عنوان ابزاری جالب به منظور فهم و درک بیش‌تر و بهتر پدیده‌های زیست‌شناختی به کمک گرفت. با توجه به مقاومت دارویی و عوارض جانبی داروهای آنتی‌باکتریال شیمیایی رویکرد تحقیقات علمی به منابع طبیعی در چند دهه اخیر بسیار فراوان می‌باشد؛ از جمله در تحقیقات متعددی اثرات ضد میکروبی گیاهان مختلف خانواده نعناع به اثبات رسیده است که برخی از آنها به علت وجود ترپنوئیدها می‌باشد. مطالعات انجام شده بر روی گونه‌های مختلف جنس استخیس (*Stachys*) حاکی از اثرات آنتی‌باکتریال آن‌ها می‌باشد (۱-۳). مطالعات انجام شده به شکل مشابهی بیانگر این اثرات در برخی از گونه‌های جنس فلومیس (*Phlomis*) بود (۴-۸). ترپنوئیدهای موجود در اسانس تعدادی از گیاهان جنس استخیس (*Stachys*) و فلومیس (*Phlomis*) رویش یافته در ایران قبلاً شناسایی شده است (۹-۱۱) که خود می‌تواند اثرات ضد میکروبی احتمالی گیاهان مورد استفاده در این دو جنس را توجه نماید.

در مطالعه‌ای که در سال ۱۹۹۹ در یونان بر روی اثرات ضد باکتری اسانس گیاهان استخیس کادینا (*S. cadina*) و استخیس کریسانتا (*S. chrysantha*) صورت پذیرفت، نشان داده شد که این اسانس‌ها اثرات ضد باکتری مناسبی بر روی باکتری‌های گرم مثبت استافیلوکوک طلائی و استرپتوکوک اپیدرمیس و گرم منفی اشیشیاکلی، کلبسیلاپنومونیه و پseudomonas آئروژینوزا از خود نشان می‌دهند (۱). در مطالعه دیگری در یونان اثرات ضد باکتری مناسبی از اسانس ۸ گونه گیاه جنس استخیس [یوبویی کا (*euboica*)، اسپینولوزا (*spinulosa*)، رکنا (*recta*)، جرمانیکا (*germanica*)، کرتیکا (*cretica*)، اسکاردیکا (*scardica*)، آلوپکوروس (*alopeucros*)، منتی‌فولیا (*menthifolia*)] مشاهده شد، اثرات ضد قارچی این اسانس‌ها به مراتب کمتر از اثرات ضد باکتری آنها بود (۲). در سال ۲۰۰۱ نیز مطالعه‌ای بر روی اثرات ضد باکتری گیاهان استخیس پومیلیا (*S. pumilia*) و استاچیس آنووا (*S. annua*) رویش یافته در ترکیه صورت پذیرفته است (۳).

در سال ۲۰۰۰ میلادی گزارشی از اثرات ضد میکروبی مناسب عصاره اتانولی و اسانس گیاه فلومیس فروتی کوزا (*P. fruticosa*) به چاپ رسیده است (۴). همچنین در همین سال اثرات ضد باکتری و قارچ مناسب گیاه فلومیس لاناتا (*P. lanata*) از یونان گزارش گردیده است (۵). در سال ۲۰۰۱ نیز مطالعه‌ای بر روی یک فنیل اتانوئید جدا شده از قسمت‌های هوایی گیاه فلومیس سامیا (*P. samia*) انجام گرفت و نشان داده شد که دارای اثرات مناسب ضد میکروبی بر روی باکتری‌های گرم مثبت و منفی می‌باشد (۶). در تحقیقات دیگری نیز اثرات ضد میکروبی عصاره متانولی گیاه فلومیس براکی دون (*P. brachydon*) بر روی سوش‌های

این روش از غلظت‌های ۱۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر استفاده شد. بدین منظور محلول مناسب تهیه و پس از قرار دادن حجم مشخصی از آن بر روی هر دیسک، در کنار شعله دیسک‌ها خشک گردید. پس از تهیه محیط‌های کشت آغشته به میکروارگانسیم مربوطه، دیسک‌ها در جای مشخص شده قرار گرفت و تاثیر آن بر رشد میکروارگانسیم بررسی و قطر هاله عدم رشد، تعیین گردید. در روش رقت‌های مکرر نیز رشد یا عدم رشد میکروارگانسیم در محیط مایع جهت تعیین MIC به کار رفت، در این روش از غلظت‌های ۱۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و ۱، ۱۰، ۲۵ و ۴۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر استفاده شد. از جنتامایسین و آمیکاسین و آمفوتریسین B به‌عنوان شاهد مثبت استفاده گردید.

یافته‌ها

نتایج حاصل از اثر مهار رشد عصاره متانولی گیاهان استخیس (لاکسا، اینفلاتا، بی زانتینا، لاوان دولی فولیا) و فلومیس (الیوی‌یری، هربا-وتی، بروگی‌یری) بر باکتری‌ها و قارچ‌های مورد مطالعه در جداول شماره ۱ تا ۳ مشاهده می‌گردد. همان‌گونه که در جدول شماره ۱ مشاهده می‌گردد، در هر چهار گونه از جنس استخیس (*Stachys*) مورد مطالعه هیچ اثری بر روی مهار رشد دو قارچ مورد مطالعه مشاهده نگردید. در خصوص عصاره گیاه استخیس بیزانتینا (*S. byzantina*) بیشترین عملکرد مهارتی بر روی باکتری استرپتوکوک سانگوئیس و کم‌ترین اثر بر روی پسودومونا آئروژینوزا دیده شد. این عملکرد مهارتی بر روی میکروارگانسیم‌های استافیلوکوک طلائی، استرپتوکوک سانگوئیس، اشیریشیا کلی، پسودومونا آئروژینوس و کلبسیلا پنومونیه؛ نسبت به جنتامایسین به ترتیب حدوداً: ۱/۷۸، ۳/۱۲، ۱/۲، ۶۴/۲۹، ۱/۲

مقاوم پسودومونا آئروژینوس (۷) و استافیلوکوک طلائی (۸) نشان داده شد.

با توجه به اثرات ضد میکروبی مناسب گونه‌هایی از دو جنس استخیس و فلومیس (۸-۱) در این مطالعه برخی از گیاهان رویش یافته در استان مازندران (۱۲) که تا به حال هیچ‌گونه مطالعه ضد میکروبی بر روی آن‌ها صورت نپذیرفته است، انتخاب شده و مورد بررسی قرار گرفتند.

مواد و روش‌ها

پس از جمع‌آوری گیاهان استخیس (لاوان دولی فولیا، لاکسا، اینفلاتا، بی زانتینا) (شماره هرباریومی به ترتیب عبارتند از: ۱۵۲، ۱۵۱، ۱۵۴، ۱۵۵) و فلومیس (هربا-وتی، بروگی‌یری، الیوی‌یری) (شماره هرباریومی به ترتیب عبارتند از: ۱۱۵، ۱۱۸ و ۱۱۹)، تأیید نام علمی در مرکز تحقیقات منابع طبیعی استان مازندران و گروه فارماکولوژی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام گرفت. خشک نمودن نمونه‌ها در سایه صورت پذیرفت. عصاره‌گیری به روش خیساندن توسط حلال متانول، سپس تغلیظ عصاره‌ها و خشک نمودن آن‌ها انجام شد. بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره‌های حاصل با دو روش دیسک کاغذی و رقت‌های مکرر (*serial dilution*) بر روی میکروارگانسیم‌های استافیلوکوک طلائی، استرپتوکوک سانگوئیس، اشیریشیا کلی، کلبسیلا پنومونیا، پسودومونا آئروژینوزا، کاندیدا آلبیکنس، اسپرژیلوس نایجر، (تهیه شده از مرکز پژوهش‌های علمی صنعتی ایران) و مقایسه با جنتامایسین و آمیکاسین و تعیین MIC (حداقل غلظت مهارتی) انجام گرفت (۱۳، ۱۴). در روش دیسک کاغذی، میزان هاله عدم رشد از طریق اندازه‌گیری قطر هاله مطالعه شد و بر این اساس در مقایسه با شاهد منفی (حلال)، MIC تعیین می‌گردد، در

استافیلوکوک طلایی، استرپتوکوک سانگوانیس، اشیشیا کلی، پseudomonas آئروژینوزا و کلبسیلا پنومونیه؛ نسبت به جنتامایسین به ترتیب حدوداً: ۱/۵۹، ۲/۵۶، ۲/۲۵، ۲/۰۵ و ۲/۰۹ درصد و نسبت به آمیکاسین حدوداً ۰/۲۴، ۰/۲۱، ۰/۱۵، ۰/۲۷ و ۰/۲۲ درصد می باشد.

و ۲/۶۱ درصد و نسبت به آمیکاسین حدوداً: ۰/۲۶، ۰/۲۵، ۰/۲۱، ۰/۱۴ و ۰/۲۸ درصد می باشد.

درخصوص عصاره گیاه استخیس اینفلاتا (*S.inflata*) بیشترین عملکرد مهاری بر روی باکتری pseudomonas آئروژینوزا و کمترین اثر بر روی اشیشیا کلی دیده شد. این عملکرد مهار رشد بر روی میکروارگانیسمهای

جدول شماره ۱: نتایج حاصل از اثر مهار رشد عصاره متانولی گونه های مختلف استخیس (*Stachys*) بر میکروارگانیسمهای مورد مطالعه

نمونه		غلظت (µg/ml)						
		قطر هاله عدم رشد (میلی متر)						
		باکتری						
		قارچ						
		<i>A.niger</i>	<i>C.albicans</i>	<i>K.pneumoniae</i> (G -)	<i>P.aeruginosa</i> (G -)	<i>E.coli</i> (G -)	<i>S.sanguis</i> (G +)	<i>S.aureus</i> (G +)
<i>S. byzantina</i>	۱۰	-	-	-	-	-	-	-
	۵۰	-	-	-	-	-	۸/۷±۰/۲	-
	۱۰۰	-	-	-	-	۸/۵±۰/۲	۱۰/±۰/۱۴	۸/۴±۰/۲
	۲۵۰	-	-	۸/۸±۰/۳	-	۹/۵±۰/۵	۱۱/۷±۰/۵	۹/۶±۰/۵
	۵۰۰	-	-	۱۰/۱±۰/۲	-	۱۱/۱±۰/۳	۱۲/۷±۰/۵	۱۰/۹±۰/۳
	۷۵۰	-	-	۱۱/۳±۰/۵	۸/۸±۰/۳	۱۳/۳±۰/۵	۱۳/۸±۰/۵	۱۲/۲±۰/۵
<i>S. inflata</i>	۱۰۰۰	-	-	۱۳/۴±۰/۵	۱۰/۲±۰/۷	۱۴/۵±۰/۵	۱۵/۰±۰/۷	۱۳/۴±۰/۴
	۱۰	-	-	-	-	-	-	-
	۵۰	-	-	-	-	-	-	-
	۱۰۰	-	-	-	-	-	-	-
	۲۵۰	-	-	۸/۷±۰/۲	۹/۰	-	۸/۶±۰/۴	۸/۳±۰/۲
	۵۰۰	-	-	۹/۵±۰/۳	۱۰/۲	۸/۸±۰/۲	۹/۸±۰/۳	۹/۴±۰/۴
<i>S.lavandulifolia</i>	۷۵۰	-	-	۱۰/۷±۰/۳	۱۱/۳	۹/۶±۰/۳	۱۱/۲±۰/۳	۱۰/۸±۰/۲
	۱۰۰۰	-	-	۱۱/۷±۰/۳	۱۲/۷	۱۰/۷±۰/۳	۱۲/۴±۰/۳	۱۱/۹±۰/۵
	۱۰	-	-	-	-	-	-	-
	۵۰	-	-	-	-	-	۸/۶±۰/۲	-
	۱۰۰	-	-	۸/۵±۰/۲	-	-	۹/۵±۰/۴	-
	۲۵۰	-	-	۹/۳±۰/۴	۸/۶±۰/۲	۸/۵±۰/۲	۱۰/۹±۰/۲	-
<i>S. laxa</i>	۵۰۰	-	-	۱۰/۹±۰/۴	۹/۷±۰/۳	۹/۵±۰/۴	۱۱/۷±۰/۴	۸/۶±۰/۲
	۷۵۰	-	-	۱۱/۸±۰/۲	۱۰/۹±۰/۳	۱۰/۶±۰/۳	۱۳/۵±۰/۴	۹/۵±۰/۴
	۱۰۰۰	-	-	۱۲/۹±۰/۴	۱۲/۴±۰/۴	۱۲/۱±۰/۴	۱۵/۳±۰/۵	۱۱/۶±۰/۴
	۱۰	-	-	-	-	-	-	-
	۵۰	-	-	-	-	-	-	-
	۱۰۰	-	-	-	-	-	۸/۶±۰/۳	-
Gentamycin	۲۵۰	-	-	-	۸/۵±۰/۲	-	۸/۶±۰/۲	۱۰/۰±۰/۳
	۵۰۰	-	-	۸/۵±۰/۳	۹/۸±۰/۳	-	۱۰/۰±۰/۳	۱۱/۵±۰/۴
	۷۵۰	-	-	۱۰/۱±۰/۲	۱۱/۶±۰/۴	-	۱۱/۳±۰/۵	۱۳/۲±۰/۵
	۱۰۰۰	-	-	۱۲/۲±۰/۶	۱۲/۶±۰/۴	-	۱۳/۴±۰/۶	۱۴/۲±۰/۵
	۵۰	-	-	۲۸/۰±۰/۱	۳۱/۰±۰/۳	۳۱/۶±۱/۲	۲۴/۰±۰/۱	۳۷/۳±۱/۲
	۳	-	-	۱۸/۰±۰/۱	۱۵/۸±۰/۳	۲۳/۸±۰/۹	۱۹/۹±۰/۳	۱۶/۷±۰/۴
Amikacin	۱۰۰	۲۲/۸±۰/۲	۲۲/۳±۱/۳	-	-	-	-	-
	۱۰۰	-	-	-	-	-	-	-
Amphotericin B	۱۰۰	-	-	-	-	-	-	-

جدول شماره ۲: نتایج حاصل از اثر مهار رشد عصاره متانولی گونه های مختلف فلومیس (Phlomis) بر میکروارگانیسم های مورد مطالعه

قطر هاله عدم رشد (میلی متر)							غلظت	نمونه
قارچ		باکتری					(µg/ml)	
<i>A. niger</i>	<i>C. albicans</i>	<i>K.pneumoniae</i> (G -)	<i>P. aeruginosa</i> (G -)	<i>E. coli</i> (G -)	<i>S. sanguis</i> (G +)	<i>S. aureus</i> (G +)		
-	-	-	-	-	۱۳/۸±۰/۴	۱۰/۱±۰/۵	۱۰	<i>P. bruguierei</i>
-	-	-	-	-	۱۴/۲±۰/۶	۱۱/±۰/۲۳	۵۰	
-	-	۹/۸±۰/۴	-	-	۱۵/۰±۰/۳	۱۲/۱±۰/۴	۱۰۰	
-	-	۱۲/۲±۰/۴	-	-	۱۶/۰±۰/۲	۱۳/۴±۰/۴	۲۵۰	
-	-	۱۳/۱±۰/۴	۹/۹±۰/۴	۹/۲±۰/۲	۱۶/۸±۰/۳	۱۴/۸±۰/۵	۵۰۰	
-	-	۱۳/۹±۰/۲	۱۰/۹±۰/۴	۹/۹±۰/۲	۱۷/۷±۰/۳	۱۵/۶±۰/۴	۷۵۰	
-	-	۱۴/۶±۰/۳	۱۲/۳±۰/۴	۱۱/۱±۰/۳	۱۸/۶±۰/۳	۱۶/۷±۰/۴	۱۰۰۰	
-	-	-	-	-	-	-	۱۰	<i>P. herba-venti</i>
-	-	۸/۷±۰/۴	-	-	-	-	۵۰	
-	-	۱۰/۵±۰/۷	-	-	۸/۳±۰/۱	-	۱۰۰	
-	-	۱۱/۸±۰/۲	-	۸/۴±۰/۲	۹/۳±۰/۳	۸/۷±۰/۴	۲۵۰	
-	-	۱۳/۲±۰/۴	۸/۵±۰/۲	۹/۲±۰/۳	۱۰/۶±۰/۴	۹/۹±۰/۳	۵۰۰	
-	-	۱۳/۹±۰/۲	۹/۳±۰/۳	۱۰/۲±۰/۲	۱۱/۸±۰/۳	۱۱/۱±۰/۳	۷۵۰	
-	-	۱۴/۶±۰/۳	۱۰/۹±۰/۱	۱۱/۲±۰/۲	۱۳/۳±۰/۳	۱۲/۲±۰/۳	۱۰۰۰	
-	-	۸/۹±۰/۲	-	-	-	-	۱۰	<i>P. olivieri</i>
-	-	۹/۸±۰/۳	-	-	-	-	۵۰	
-	-	۱۰/۹±۰/۶	-	-	-	-	۱۰۰	
-	-	۱۲/۳±۰/۴	-	۹/۰±۰/۲	-	۸/۹±۰/۲	۲۵۰	
-	-	۱۳/۳±۰/۴	۸/۹±۰/۳	۱۰/۴±۰/۳	۸/۹±۰/۳	۱۰/۳±۰/۳	۵۰۰	
-	-	۱۴/۳±۰/۴	۹/۸±۰/۳	۱۱/۵±۰/۴	۱۰/۶±۰/۶	۱۱/۵±۰/۳	۷۵۰	
-	-	۱۵/۹±۰/۳	۱۱/۵±۰/۴	۱۳/۶±۰/۵	۱۲/۰±۰/۵	۱۳/۱±۰/۲	۱۰۰۰	
-	-	۲۸/۰±۰/۱	۳۱/۰±۰/۳	۳۱/۶±۱/۲	۲۴/۰±۰/۱	۳۷/۳±۱/۲	۵۰	Gentamycin
-	-	۱۸/۰±۰/۱	۱۵/۸±۰/۳	۲۳/۸±۰/۹	۱۹/۹±۰/۳	۱۶/۷±۰/۴	۳	Amikacin
۲۲/۷±۰/۲	۲۲/۳±۱/۳	-	-	-	-	-	۱۰۰	Amphotericin B

جدول شماره ۳: نتایج حاصل از تعیین MIC به روش رقت های مکرر (بر حسب میکروگرم بر میلی لیتر)

<i>Phlomis olivieri</i>	<i>Phlomis bruguierei</i>	<i>Phlomis herba-venti</i>	<i>Stachys lavandulifolia</i>	<i>Stachys laxa</i>	<i>Stachys inflata</i>	<i>Stachys byzantina</i>	میکروارگانیسم
۲۵	۱۰	۱۰	۴۰	۱۰	۱۰	۱۰	<i>Staphylococcus aureus</i>
۱۰	۱	۲۵	۱۰	۲۵	۱۰	۱۰	<i>Streptococcus sanguis</i>
۱۰	۲۵	۲۵	۲۵	-	۴۰	۲۵	<i>Escherichia coli</i>
۱۰	۲۵	۲۵	۲۵	۴۰	۴۰	۴۰	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
۲۵	۲۵	۴۰	۲۵	۴۰	۴۰	۴۰	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
-	-	-	-	-	-	-	<i>Candida albicans</i>
-	-	-	-	-	-	-	<i>Aspergillus niger</i>

باکتری استرپتوکوک سانگویی و کمترین اثر بر روی استافیلوکوک طلایی دیده شد. این عملکرد مهار رشد

درخصوص عصاره گیاه استخیس لاوان دولی فولیا (*S.lavandulifolia*) بیشترین عملکرد مهاری بر روی

ترتیب حدودا: ۱/۶۳، ۲/۷۷، ۱/۷۷، ۱/۷۶ و ۲/۶۱ درصد و نسبت به آمیکاسین حدودا: ۰/۲۵، ۰/۲۳، ۰/۱۶، ۰/۲۳ و ۰/۲۷ درصد می‌باشد.

در خصوص عصاره گیاه فلومیس الیوی یری (*P. olivieri*) بیش‌ترین عملکرد مهارى بر روی باکتری کلبسیلا پنومونیه و کم‌ترین اثر بر روی پسودومونا آئروژینوزا دیده شد. این عملکرد مهار رشد بر روی میکروارگانسیم‌های استافیلوکوک طلائی، استرپتوکوک سانگوئیس، اشیشیا کلی، پسودومونا آئروژینوزا و کلبسیلا پنومونیه؛ نسبت به جنتامایسین به ترتیب حدودا: ۱/۷۶، ۲/۵، ۲/۱۵، ۱/۸۵ و ۲/۸۴ درصد و نسبت به آمیکاسین حدودا: ۰/۲۷، ۰/۲۰، ۰/۱۹، ۰/۲۵ و ۰/۳۰ درصد می‌باشد.

بحث

در این تحقیق اثرات ضد میکروبی عصاره متانولی گیاهان دو جنس استخیس (*Stachys*) و فلومیس (*Phlomis*) از خانواده نعناع که از مناطق مختلف جمع‌آوری شده بود، مورد بررسی قرار گرفت. برای استخراج عصاره گیاهان روش‌های متعددی وجود دارد که روش پرکولاسیون (*percolation*) و خیساندن معمول‌تر هستند. در این تحقیق متانول به عنوان حلال جهت عصاره‌گیری به روش خیساندن مورد استفاده قرار گرفت. مقایسه اثر مهارکنندگی رشد عصاره متانولی سه گونه استخیس، نشان داد که بر روی باکتری‌های گرم مثبت اثر بهتری نسبت به گرم منفی‌ها دارد؛ به صورتی که بیژانتینا و لاوان‌دولی‌فولیا بر میکروارگانسیم استرپتوکوک سانگوئیس، لاکسا بر روی استافیلوکوک طلائی و اینفلاتا بر هر دو باکتری گرم مثبت موردنظر، موثرتر عمل کردند. با ذکر این مطلب که در هیچ غلظتی بر قارچ‌های مورد بررسی موثر نبودند. مقایسه اثر مهارکنندگی رشد سه گونه فلومیس موید این مطلب

بر روی میکروارگانسیم‌های استافیلوکوک طلائی، استرپتوکوک سانگوئیس، اشیشیا کلی، پسودومونا آئروژینوزا و کلبسیلا پنومونیه؛ نسبت به جنتامایسین به ترتیب حدودا: ۱/۵۵، ۳/۱۹، ۱/۹۱، ۱/۹۸، ۲/۳ درصد و نسبت به آمیکاسین حدودا: ۰/۲۴، ۰/۲۶، ۰/۱۷، ۰/۲۶ و ۰/۲۴ درصد می‌باشد.

در خصوص عصاره گیاه استخیس لاکسا (*S. laxa*) بیش‌ترین عملکرد مهارى بر روی باکتری استافیلوکوک طلائی و کم‌ترین اثر بر روی اشیشیا کلی دیده شد. این عملکرد مهار رشد بر روی میکروارگانسیم‌های استافیلوکوک طلائی، استرپتوکوک سانگوئیس، اشیشیا کلی، پسودومونا آئروژینوزا و کلبسیلا پنومونیه؛ نسبت به جنتامایسین به ترتیب حدودا: ۱/۹۰، ۲/۷۷، ۰/۲۹ و ۲/۱۸ درصد و نسبت به آمیکاسین حدودا: ۰/۲۳، ۰/۲۷ و ۰/۲۳ درصد می‌باشد.

در خصوص عصاره گیاه فلومیس بروگی یری (*P. bruguieri*) بیش‌ترین عملکرد مهارى بر روی باکتری استرپتوکوک سانگوئیس و کم‌ترین اثر بر روی اشیشیا کلی دیده شد. این عملکرد مهار رشد بر روی میکروارگانسیم‌های استافیلوکوک طلائی، استرپتوکوک سانگوئیس، اشیشیا کلی، پسودومونا آئروژینوزا و کلبسیلا پنومونیه؛ نسبت به جنتامایسین به ترتیب حدودا: ۲/۲۴، ۳/۸۷، ۱/۷۶، ۱/۹۸ و ۲/۶۱ درصد و نسبت به آمیکاسین حدودا: ۰/۳۴، ۰/۳۲، ۰/۱۶، ۰/۲۶ و ۰/۲۷ درصد می‌باشد.

در خصوص عصاره گیاه فلومیس هربا- ونتی (*P. herba-venti*) بیش‌ترین عملکرد مهارى بر روی باکتری کلبسیلا پنومونیه و کم‌ترین اثر بر روی پسودومونا آئروژینوزا دیده شد. این عملکرد مهار رشد بر روی میکروارگانسیم‌های استافیلوکوک طلائی، استرپتوکوک سانگوئیس، اشیشیا کلی، پسودومونا آئروژینوزا و کلبسیلا پنومونیه؛ نسبت به جنتامایسین به

بررسی انجام شده بر روی ترکیبات اسانس گیاه فلومیس بروگی یری نشان داد اصلی ترین مواد موجود (۶/۸ درصد) آلفا- پینن، (۱۵ درصد) ۴- هیدروکسی- ۴- متیل- ۲- پنتانول، (۲۳/۶ درصد) دی جرماکرن، (۶/۷ درصد) بتا- کاربوفیلن می باشد (۱۰).

بررسی انجام شده بر روی ترکیبات اسانس گیاه استخیس- بیزانتینا نشان داد اصلی ترین مواد موجود (۶/۴ درصد) ان- تری کوزان، (۹/۹ درصد) ۶، ۱۰، ۱۴- تری متیل- ۲- پنتادکان و پی پری تون (۶/۴ درصد) در گیاه استخیس اینفلاتا اصلی ترین مواد شامل (۹/۱ درصد) هگزادکانوئیک اسید، (۵/۱ درصد) بیسیکلوجرماکرن و (۵/۸ درصد) آلفا- پینن، (۸/۰ درصد) جرماکرن D، در گیاه استخیس لاوان دولی فولیا اصلی ترین مواد شامل (۹/۳ درصد) ۴- هیدروکسی- ۴- متیل- ۲- پنتانول، (۵/۲) هگزادکانوئیک اسید و (۷/۹ درصد) آلفا- پینن و در گیاه استخیس لاکسا اصلی ترین مواد شامل (۱۲/۳ درصد) ۷- اپی- آلفا- سلینن، (۱۷/۱ درصد) ۴- هیدروکسی- ۴- متیل- ۲- پنتانول، (۵/۹ درصد) دی ارماکرن، (۶/۲ درصد) آلفا- پینن، (۶/۷ درصد) بتا- کاربوفیلن، (۸/۳ درصد) بیسیکلوجرماکرن می باشد (۱۱).

بررسی های انجام شده در برزیل بیانگر اثر ضد میکروبی ترکیباتی همچون ۸ و ۱- سینئول، ژرانئال، دی جرماکرن، لیمونن، لینالول و منتول در گونه های استخیس می باشد (۱۵).

بیشتر نتایج نشان داد اثرات ضد میکروبی عصاره های متانولی گیاهان مورد بررسی روی باکتری های گرم مثبت بیشتر از باکتری های گرم منفی می باشد و این اثرات در استخیس شاخص تر است. بیشترین اثر ضد میکروبی عصاره ها مربوط به استرپتوکوک سانگوئیس می باشد، که همه عصاره ها در غلظت هایی توانستند رشد این میکروارگانیسم را تا حدی مهار کنند. اثر ضد میکروبی گیاهان مورد بررسی در جنس فلومیس نسبت به گیاهان مورد بررسی دیگر

بود که عصاره متانولی گیاه بروگی یری اثر بهتری بر استافیلوکوک طلائی و استرپتوکوک سانگوئیس نشان می دهد، در حالی که فلومیس هریا- ونتی بر کلبسیلا پنومونیه و استرپتوکوک سانگوئیس و فلومیس الیوی یری اثر بیش تری بر کلبسیلا پنومونیه دارند، با ذکر این مطلب که در هیچ غلظتی بر قارچ های مورد بررسی موثر نبودند. مقایسه اثر ضدباکتری عصاره های هفت گیاه مورد مطالعه نشان می دهد که همگی تا حدی اثر مهارکنندگی رشد را بر استرپتوکوک سانگوئیس نشان می دهند، در خصوص اثر بر استافیلوکوک طلائی گونه های استخیس (بیزانتینا، لاکسا، انفلاتا) و فلومیس بروگی یری اثر مهار رشد بیش تری نشان دادند، از نظر اثر مهار رشد بر اشرفیشیاکولی، عصاره متانولی گونه بیزانتینا اثر بیش تری نسبت به سایر گونه نشان داد در حالی که سایر گونه ها تا حدی این اثر را نشان دادند، در خصوص اثر بر کلبسیلا پنومونیه گونه های فلومیس بهتر عمل کردند، فلومیس الیوی یری و در رتبه بعد هریاونتی اثر مهار رشد بیش تری نسبت به سایر گونه ها بر کلبسیلا پنومونیه از خود نشان دادند. از دیدگاه اثر بر پseudomona آئروژینوزا نیز نتایج مشابهی با اثر بر دو باکتری گرم منفی دیگر خصوصاً در گونه های استخیس دیده شد. از نظر اثر بر مهار رشد دوقارچ آسپرژیلوس نایجر و کاندیدا آلبیکانس عصاره متانولی گیاهان مورد بررسی بی اثر بودند.

بررسی انجام شده بر روی ترکیبات اسانس گیاه فلومیس هریا- ونتی نشان داد اصلی ترین مواد موجود در برگ (۹/۴ درصد) آلفا- پینن، (۱۲/۹ درصد) هگزادکانوئیک اسید و (۳۳/۹ درصد) ژرماکرن دی می باشد. اصلی ترین مواد شناسایی شده در اسانس گل شامل (۳۳/۱ درصد) هگزادکانوئیک اسید، (۹/۴ درصد) ارتوگزریلن (xylene)، (۱۱/۷ درصد) متاگزریلن، (۱۶/۲ درصد) ۶، ۱۰، ۱۴- تری متیل- ۲- پنتادکانول، (۶/۷ درصد) دی جرماکرن و (۶/۷ درصد) متیل تترادکان می باشد (۹).

مواد موجود در اسانس شامل: آلفا- پینن، لیمونن، بتا- کاروفیلین، لینالول، ترانس- بتا- فارنزن، جرماکرن D، (Z)- گاما- بیزابولن و سیس- بتا- اوسیمین که جزء ترکیبات اصلی این گیاهان بودند، می‌دانند (۱۸). رستیک (Ristic) (۲۰۰۰) در طی آزمایش‌هایی مشاهده کرد اسانس و عصاره اتانولی گونه‌هایی از جنس فلومیس فعالیت ضد باکتری و ضد قارچی از خود نشان داده‌اند، اسانس این گیاهان اثر ضد باکتری بر علیه استافیلوکوک طلایی، اشیشیاکولی، باسیلوس ساب تیلیس، کلبسیلا پنومونیه، میکورکوکوس لوتئوس و اثر ضد قارچی بر علیه اسپرژیلوس نایجر، اسپرژیلوس اوکراسئوس، کلادواسپوریوم کلادواسپوریوئیدها، فوساریوم تری سینکتوم و فوموپسیس هلیانت هی از خود نشان داده‌اند. عصاره اتانلی این گیاهان نیز اثر ضد باکتری علیه استافیلوکوک طلایی و باسیلوس ساب تیلیس و اثر ضد قارچ بر علیه اسپرژیلوس نایجر، اسپرژیلوس اوکراسئوس، کلادواسپوریوم کلادواسپوریوئیدها، فوساریوم تری سینکتوم و فوموپسیس هلیانت هی از خود نشان دادند (۴).

بررسی و مقایسه تحقیقات ذکر شده در بالا و نتایج به دست آمده از این تحقیق، نمایانگر آن است که مشابه با تحقیقات اسکالترا (Skaltsa) (۲۰۰۳)، گونه‌های استخیس مورد نظر در بررسی ما، بر باکتری‌ها اثر مهاری نشان دادند ولی این چنین اثری بر قارچ‌ها مشاهده نشد. همچنین پسودومونا آئروژینوزا در بین باکتری‌ها بیشترین مقاومت را نشان داد. درمقایسه با تحقیق دالگر (Dulger) (۲۰۰۵)، مشابه با آن اثرات ضد میکروبی بر اشیشیاکولی، استافیلوکوک طلایی، کلبسیلا پنومونیه و پسودومونا آئروژینوزا مشاهده شد (۱۷). در مورد جنس فلومیس، گونه‌های مورد بررسی در مطالعات آلی جیانیس (Aligiannis) (۲۰۰۴) در یونان و رستیک (Ristic) (۲۰۰۰) در ترکیه، اثرات ضد باکتری و ضد قارچی نشان دادند (۱۴، ۱۹) در حالی که گونه‌های مورد

در جنس استخیس قابل توجه می‌باشد و هیچ کدام از این تعداد گیاه موردنظر اثر مهاری بر رشد قارچ‌ها نشان ندادند. آنالیز شیمیایی عصاره گونه‌هایی از جنس استخیس و فلومیس حضور ترکیباتی با اثر ضد میکروبی شناخته شده مانند فلاونوئید گلایکوزیدها را نشان داد (۱۶).

اسکالترا (Skaltsa) و همکارانش (۲۰۰۳) در یونان، اسانس حاصل از ۸ گونه استخیس که به صورت وحشی در یونان می‌روید، را بر روی پسودومونا آئروژینوزا، اشیشیاکولی، باسیلوس ساب تیلیس، باسیلوس سرئوس، میکورکوکوس فلاووس، استافیلوکوک اپی درمیس و ۵ قارچ اسپرژیلوس نایجر، پنی سیلیوم اکروکلرون، اپی درموفیتون فلوکوزوم، کاندیدا آلیکانس و تریکوفیتون متاگروفیتز مورد آزمایش قرار دادند. اسانس‌های مورد آزمایش بر روی باکتری‌ها نسبت به قارچ‌ها اثرات بهتری داشتند. پسودومونا آئروژینوزا مقاوم‌ترین گونه بوده و هیچ کدام از اسانس‌ها فعالیتی بر علیه آن نشان ندادند و اسانس حاصل از استخیس اسکاردیکا بیشترین فعالیت را علیه قارچ و باکتری (هر دو) نشان داد (۲). در طی مطالعه دیگری در ترکیه که توسط دالگر (Dulger) و همکارانش (۲۰۰۵) انجام شد، عصاره متانولی حاصل از استخیس پیناردی-بوئیس و استخیس آله ثوریتس بوئیس و هلدر بر روی باکتری‌های: اشیشیاکولی، استافیلوکوک طلایی، کلبسیلا پنومونیه، پسودوموناز آئروژینوزا، پروتئوس ولگاریس، باسیلوس سرئوس، مایکوباکتریوم اسمگ ماتیز، لیستریا مونوسیتوزن ها مؤثر بود (۱۷).

در مطالعه‌ای توسط آلی جیانیس (Aligiannis) (۲۰۰۴) در یونان، اسانس‌های حاصل از فلومیس فروتی کوزا، فلومیس کرتیکا و فلومیس سامیا که در یونان می‌رویند، فعالیت ضد میکروبی قابل توجهی بر علیه ۲ باکتری گرم مثبت و ۴ باکتری گرم منفی و ۳ قارچ پاتوژن از خود نشان دادند که این اثرات را ناشی از

سپاسگزاری

بدین وسیله از حمایت مالی حوزه معاونت محترم پژوهشی دانشگاه تشکر می‌گردد.

بررسی در تحقیق ما که در مازندران رویش یافته بودند، اثرات ضد باکتری خصوصاً بر کلبسیلاپنومونیه مشاهده گردید و چنین اثری را بر قارچ‌ها شاهد نبودیم.

فهرست منابع

1. Skaltsa H, Lazari DM, Chinou IB, Loukis AE. Composition and antibacterial activity of the essential oils of *Stachys candida* and *S. chrysantha* from Southern Greece. *Planta Med.* 1999; 65 (3): 255-256.
2. Skaltsa HD, Demetoz C, Lazari, Sokovic M. Essential oil analysis and antimicrobial activity of eight *Stachys* species from Greece. *Phytochemistry.* 2003; 64 (3): 743-752.
3. Digrak M, Alma MH, Ilcim A. Antibacterial and antifungal activities of Turkish medicinal plants. *Pharm. Biol.* 2001; 39 (5): 346-350.
4. Ristic MD, Duleti S, Knezevi J, Marine PD. Antimicrobial activity of essential oils and ethanol extract of *Phlomis fruticosa* L. (Lamiaceae). *Phytother. Res.* 2000; 14(4): 267-271.
5. Harvala C, Couladis M, Tanimanidis A. Essential oil of *Phlomis lanata* growing in Greece: Chemical composition and antimicrobial activity. *Planta Med.* 2000; 66(7): 670-672.
6. Kyriakopolou I, Magiatis P, Skaltsounis AL, Aligiannis N. Samioside, a new phenylethanoid glycoside with free-radical scavenging and antimicrobial activities from *Phlomis samia*. *J. Nat. Prod.* 2001; 64 (8): 1095-1097.
7. Aburjai T, Darwish RM, Al-Khalil S. Screening of antibiotic resistant inhibitors from local plant materials against two different strains of *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Ethnopharmacol.* 2001; 76 (1): 39-44.
8. Darwish RM, Aburjai T, Al-Khalil S. Screening of antibiotic resistant inhibitors from local plant materials against two different strains of *Staphylococcus aureus*. *J. Ethnopharmacol.* 2002; 79 (3): 359-364.
9. Morteza-Semnani K, Azadbakht M, Goodarzi A. The essential oils composition of *Phlomis herba-venti* L. leaves and flowers. *Flavour Fragr. J.* 2004; 19 (1): 29-31.
10. Morteza-Semnani K, Saeedi M. The essential oil composition of *Phlomis bruguieri* Desf. from Iran. *Flavour Fragr. J.* 2005; 20 (3): 344-346.

11. Morteza-Semnani K, Akbarzadeh M, Changizi Sh. Essential oils composition of *Stachys byzantina*, *S. inflata*, *S. lavandulifolia* and *S. laxa* from Iran. *Flavour Fragr. J.* 2006; 21(2): 300-303.
12. Rechinger KH. Flora Iranica, Akademishene Drack-U Velagsan stalt, Graz. Austria, 1982, No. 150.
13. Morteza-Semnani K, Saeedi M, Mahdavi MR. Antibacterial studies on extracts of three species of *Glaucium* from Iran. *Pharm. Biol.* 2005; 43 (3): 234-236.
14. Ristic MD, Duletic- Lausevic S, Knezevic-Vukcevic J, Marin PD, Simic D, Vukojevic J. et al. Antimicrobial activity of essential oils and ethanol extract of *Phlomis fruticosa* L.(Lamiaceae). *Phytother. Res.* 2000; 14: 267-271.
15. Duarte MCT, Figueira GM, Sartoratto A, Rehder VLG, Delarmelina C. Anti-Candida activity of Brazilian medicinal plants. *J. Ethnopharmacol.* 2005; 97 (2): 305-311.
16. Harborn JB. Phytochemical Methods, 3rd ed, New york, Chapman & Hall, 1998; pp. 203-208.
17. Dulger B, Ugurlu E, Aki C, Suerdem TB, Camdeviren A, Tazeler G. Evaluation of Antimicrobial Activity of Some Endemic *Verbascum*, *Sideritis*, and *Stachys* Species from Turkey. *Pharm. Biol.* 2005; 43 (3): 270-274.
18. Aligiannis N, Kalpoutzakis E, Kyriakopoulou I, Mitaku S, Chinou IB. Essential oils of *Phlomis* species growing in Greece: chemical composition and antimicrobial activity. *Flavour Fragr. J.* 2004; 19 (4): 320-324.

Archive of SID