

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

کتابتون مرتضی سمنانی (Ph.D.)⁺ مجید سعیدی (Ph.D.)^{**}محمدرضا 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 طلایی، کلبسیلا پنومونیه، اشریشیاکولی، استرپتوکوک سانگوئیس، پseudomonas آئروژنوس، آسپرژیلوس نایجر، کاندیدا آلیکانس 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 طلایی 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 طلایی و استرپتوکوک سانگوئیس نشان می دهد، در حالی که فلومیس هربا- ونتی (*P. herba-venti*) بر کلبسیلا پنومونیه و استرپتوکوک سانگوئیس و فلومیس الیویری (*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 تاحدی 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 ✉ ⁺ **مؤلف 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 (مربی) 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 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 بهره‌برداری قرار گرفته است. این مواد شیمیایی بالقوه مفید را می‌توان نه تنها به عنوان دارو بلکه به عنوان الگوی 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 توجیه نماید.

در مطالعه‌ای که در سال ۱۹۹۹ در یونان بر روی اثرات ضد باکتری اسانس گیاهان استخیس کادینا (*S. cadina*) و استخیس کریسانتا (*S. chrysanthra*) صورت پذیرفت، نشان داده شد که این اسانس‌ها اثرات ضد باکتری مناسبی بر روی باکتری‌های گرم مثبت استافیلوکوک طلایی 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 (*euboeica*)، اسپینولوزا (*spinulosa*)، رکنا (*recta*)، جرمانیکا (*germanica*)، کرتیکا (*cretica*)، اسکاردیکا (*scardica*)، آلوپکوروس (*alopeucuros*)، 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 فروتنی 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

مقاوم پسودومونا آنروژنوس (۷) و استافیلوکوک طلایی (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 هیچ گونه 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 و ۱۵۵) و فلومیس (هربا- ونتی، بروگی‌یری، الیوی‌یری) (شماره هرباریومی به ترتیب عبارتند از: ۱۱۵، ۱۱۸ و ۱۱۹)، تأیید نام علمی در مرکز تحقیقات منابع طبیعی استان مازندران و گروه فارماکوگنوزی 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 میکرو ارگانیسم‌های استافیلوکوک طلایی، استرپتوکوک سانگوئیس، اشیشیا کلی، کلبسیلا پنومونیا، پسودومونا آنروژینوزا، کاندیدا آلبیکنس، آسپرژیلوس نایجر، (تهیه شده از مرکز پژوهش‌های علمی صنعتی ایران) و مقایسه با جنتامایسین و آمیکاسین و آمفوتریسین و تعیین MIC (حداقل غلظت مهار) 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

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 میکروارگانیسم مربوطه، دیسک‌ها در جای مشخص شده قرار گرفت و تاثیر آن بر رشد میکرو ارگانیسم بررسی و قطر هاله عدم رشد، تعیین گردید. در روش رقت‌های مکرر نیز رشد یا عدم رشد میکرو ارگانیسم 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- ونتی، 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 مهار بر روی باکتری استرپتوکوک سانگوئیس و کم‌ترین اثر بر روی پسودومونا آنروژینوزا دیده شد. این عملکرد مهار رشد بر روی میکروارگانیسم‌های استافیلوکوک طلایی، استرپتوکوک سانگوئیس، اشیشیا کلی، پسودومونا آنروژنوس و کلبسیلا پنومونیه؛ نسبت به جنتامایسین به ترتیب حدوداً: ۱/۷۸، ۳/۱۲، ۱/۲، ۶۴/۲۹

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

و ۲/۶۱ درصد و نسبت به آمیکاسین حدودا: 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 pseudomona آئروژینوزا و کمترین اثر بر روی اشیریشیا 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	
	۱۰۰۰	-	-	۱۳/۴±۰/۵	۱۰/۲±۰/۷	۱۴/۵±۰/۵	۱۵/۰±۰/۷	۱۳/۴±۰/۴	
<i>S. inflata</i>	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	
	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	
<i>S.lavandulifolia</i>	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	-	
	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	
<i>S. laxa</i>	۱۰	-	-	-	-	-	-	-	
	۵۰	-	-	-	-	-	-	-	
	۱۰۰	-	-	-	-	-	۸/۶±۰/۳	-	
	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	
Gentamycin	۵۰	-	-	۲۸/۰±۰/۱	۳۱/۰±۰/۳	۳۱/۶±۱/۲	۲۴/۰±۰/۱	۳۷/۳±۱/۲	
Amikacin	۳	-	-	۱۸/۰±۰/۱	۱۵/۸±۰/۳	۲۳/۸±۰/۹	۱۹/۹±۰/۳	۱۶/۷±۰/۴	
Amphotericin B	۱۰۰	۲۲/۷±۰/۲	۲۲/۳±۱/۳	-	-	-	-	-	

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 (µg/ml)	نمونه
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 +)		
-	-	-	-	-	۱۳/۸±۰/۴	۱۰/۱±۰/۵	۱۰	<i>P. bruguieri</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)

میکروارگانیسم	<i>Stachys byzantina</i>	<i>Stachys inflata</i>	<i>Stachys laxa</i>	<i>Stachys lavandulifolia</i>	<i>Phlomis herba-venti</i>	<i>Phlomis bruguieri</i>	<i>Phlomis olivieri</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	۱۰	۱۰	۱۰	۴۰	۱۰	۱۰	۲۵
<i>Streptococcus sanguis</i>	۱۰	۱۰	۲۵	۱۰	۲۵	۱	۱۰
<i>Escherichia coli</i>	۲۵	۴۰	-	۲۵	۲۵	۲۵	۱۰
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	۴۰	۴۰	۴۰	۲۵	۲۵	۲۵	۱۰
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	۴۰	۴۰	۴۰	۲۵	۴۰	۲۵	۲۵
<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 استیخس 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 می باشد.

در خصوص عصاره گیاه فلومیس الیوی *(P. olivieri)* بیشترین عملکرد مهار بر روی باکتری کلبسیلا پنومونیه و کمترین اثر بر روی پسودومونا آئروژینوزا دیده شد. این عملکرد مهار رشد بر روی میکروارگانیزمهای استافیلوکوک طلایی، 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 می باشد.

بحث

در این تحقیق اثرات ضد میکروبی عصاره متانولی گیاهان دو جنس استخیس (*Stachys*) و فلومیس (*Phlomis*) از خانواده نعناع که از مناطق مختلف جمع آوری 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 عصاره گیری 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 لاواندولی فولیا بر میکروارگانیزم استرپتوکوک سانگوئیس، لاکسا بر روی استافیلوکوک طلایی 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 مهار کنندگی رشد سه گونه فلومیس موید این مطلب

بر روی میکروارگانیزمهای استافیلوکوک طلایی، 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 می باشد.

در خصوص عصاره گیاه استخیس لاکسا (*S. laxa*) بیشترین عملکرد مهار بر روی باکتری استافیلوکوک طلایی و کمترین اثر بر روی اشیشیا کلی دیده شد. این عملکرد مهار رشد بر روی میکروارگانیزمهای استافیلوکوک طلایی، استرپتوکوک سانگوئیس، اشیشیا کلی، پسودومونا آئروژینوزا و کلبسیلا پنومونیه؛ نسبت به جنتامایسین به ترتیب حدودا: ۱/۹۰، ۲/۷۷، ۰/۲۰۳ و ۲/۱۸ درصد و نسبت به آمیکاسین حدودا: ۰/۲۹، ۰/۲۳، ۰/۲۷ و ۰/۲۳ درصد می باشد.

درخصوص عصاره گیاه فلومیس بروگی *(P. bruguieri)* بیشترین عملکرد مهار بر روی باکتری استرپتوکوک سانگوئیس و کمترین اثر بر روی اشیشیا کلی دیده شد. این عملکرد مهار رشد بر روی میکروارگانیزمهای استافیلوکوک طلایی، 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 می باشد.

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

بود که عصاره متانولی گیاه بروگی یری اثر بهتری بر استافیلوکوک طلایی و استرپتوکوک سانگوئیس نشان می‌دهد، در حالی که فلوامیس هریا- ونتی بر کلبسیلا پنومونیه و استرپتوکوک سانگوئیس و فلوامیس الیوی یری اثر بیش‌تری بر کلبسیلا پنومونیه دارند، با ذکر این مطلب که در هیچ غلظتی بر قارچ‌های مورد بررسی موثر نبودند. مقایسه اثر ضدباکتری عصاره‌های هفت گیاه مورد مطالعه نشان می‌دهد که همگی تا حدی اثر مهارکنندگی رشد را بر استرپتوکوک سانگوئیس نشان می‌دهند، در خصوص اثر بر استافیلوکوک طلایی گونه‌های استخیس (بیزانتینا، لاکسا، انفلاتا) و فلوامیس بروگی یری اثر مهار رشد بیش‌تری نشان دادند، از نظر اثر مهار رشد بر اش‌ریشیاکولی، عصاره متانولی گونه بیزانتینا اثر بیش‌تری نسبت به سایر گونه نشان داد در حالی که سایر گونه‌ها تا حدی این اثر را نشان دادند، در خصوص اثر بر کلبسیلا پنومونیه گونه‌های فلوامیس بهتر عمل کردند، فلوامیس الیوی یری و در رتبه بعد هریا ونتی اثر مهار رشد بیش‌تری نسبت به سایر گونه‌ها 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 گونه‌های استخیس دیده شد. از نظر اثر بر مهار رشد دوقارچ آسپرژیلوس نایجر و کاندیدا آلبیکانس عصاره متانولی گیاهان مورد بررسی بی‌اثر بودند.

بررسی انجام شده بر روی ترکیبات اسانس گیاه فلوامیس هریا- ونتی نشان داد اصلی‌ترین مواد موجود در برگ (۹/۴ درصد) آلفا- پینن، (۱۲/۹ درصد) هگزادکانوئیک اسید و (۳۳/۹ درصد) ژرماکرن دی می‌باشد. اصلی‌ترین مواد شناسایی شده در اسانس گل شامل (۳۳/۱ درصد) هگزادکانوئیک اسید، (۹/۴ درصد) ارتوگزیرلن (xylene)، (۱۱/۷ درصد) متاگزیرلن، (۱۶/۲ درصد) ۶، ۱۰، ۱۴- تری متیل- ۲- پنتادکانون، (۶/۷ درصد) دی جرماکرن و (۶/۷ درصد) متیل تترادکان می‌باشد (۹).

بررسی انجام شده بر روی ترکیبات اسانس گیاه فلوامیس بروگی یری نشان داد اصلی‌ترین 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 می‌باشد (۱۰).

بررسی انجام شده بر روی ترکیبات اسانس گیاه استخیس- بیزانتینا نشان داد اصلی‌ترین مواد موجود (۶/۴ درصد) ان- تری کوزان، (۹/۹ درصد) ۶، ۱۰، ۱۴- تری متیل- ۲- پنتادکان و پی‌پی‌تری تون (۶/۴ درصد) در گیاه استخیس اینفلاتا اصلی‌ترین 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 اصلی‌ترین مواد شامل (۹/۳ درصد) ۴- هیدروکسی- ۴- متیل- ۲- پنتانول، (۵/۲ درصد) هگزادکانوئیک اسید و (۷/۹ درصد) آلفا- پینن و در گیاه استخیس لاکسا اصلی‌ترین مواد شامل (۱۲/۳ درصد) ۷- پی- آلفا- سلینن، (۱۷/۱ درصد) ۴- هیدروکسی- ۴- متیل- ۲- پنتانول، (۵/۹ درصد) دی‌ارماکرن، (۶/۲ درصد) آلفا- پینن، (۶/۷ درصد) بتا- کاربوفیلن، (۸/۳ درصد) بی‌سیکلوجرماکرن می‌باشد (۱۱).

بررسی‌های انجام شده در برزیل بیانگر اثر ضد میکروبی ترکیباتی همچون ۸ و ۱- سینئول، ژرانیال، دی‌جرماکرن، لیمونن، لیتالول و منتول در گونه‌های استخیس می‌باشد (۱۵).

بیشتر نتایج نشان داد اثرات ضد میکروبی عصاره‌های متانولی گیاهان مورد بررسی روی باکتری‌های گرم مثبت بیشتر از باکتری‌های گرم منفی می‌باشد و این اثرات در استخیس شاخص‌تر است. بیش‌ترین اثر ضد میکروبی عصاره‌ها مربوط به استرپتوکوک سانگوئیس می‌باشد، که همه عصاره‌ها در غلظت‌هایی توانستند رشد این میکروارگانیسم را تا حدی مهار کنند. اثر ضد میکروبی گیاهان مورد بررسی در جنس فلوامیس نسبت به گیاهان مورد بررسی دیگر

در جنس استخیس قابل توجه می‌باشد و هیچ کدام از این تعداد گیاه موردنظر اثر مهارى 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).

اسکالتزا (Skaltsa) و همکارانش (۲۰۰۳) در یونان، اسانس حاصل از ۸ گونه استخیس که به صورت وحشی در یونان می‌روید، را بر روی پ سودومونا آئروژینوزا، اشیشاکولی، باسیلوس ساب‌تی‌لیس، باسیلوس سرئوس، میکروکوکوس فلاووس، استافیلوکوک اپی‌درمیس و ۵ قارچ آسپرژیلوس نایجر، پنی سیلیوم اکروکلرون، اپی‌درموفیتون فلوکوزوم، کاندیدا آلیکانس و تریکوفیتون متاگروفتیز مورد آزمایش قرار دادند. اسانس‌های مورد آزمایش بر روی باکتری‌ها نسبت به قارچ‌ها اثرات بهتری داشتند. پ سودومونا 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 پیناردی‌بی‌بویس و استخیس آله‌ئوریتس بویس و هلدر بر روی باکتری‌های: اشیشاکولی، استافیلوکوک طلایی، کلبسیلا پنومونیه، پ سودومونا آئروژینوزا، پروتئوس ولگاریس، باسیلوس سرئوس، مایکوباکتریوم اسمگ‌ماتیز، لیستریا مونوسیتوزن‌ها 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

مواد موجود در اسانس شامل: آلفا-پینن، لیمونن، بتا-کاروفیلن، 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، اشیشاکولی، باسیلوس ساب‌تی‌لیس، کلبسیلا پنومونیه، میکروکوکوس لوتئوس و اثر ضد قارچی بر علیه آسپرژیلوس نایجر، آسپرژیلوس 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 ساب‌تی‌لیس و اثر ضد قارچ بر علیه آسپرژیلوس نایجر، آسپرژیلوس 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 اسکالتزا (Skaltsa) (۲۰۰۳)، گونه‌های استخیس مورد نظر در بررسی ما، بر باکتری‌ها اثر مهارى نشان دادند ولی این چنین اثری بر قارچ‌ها مشاهده نشد. همچنین پ سودومونا آئروژینوزا در بین باکتری‌ها بیش‌ترین مقاومت را نشان داد. درمقایسه با تحقیق دالگر (Dulger) (۲۰۰۵)، مشابه با آن اثرات ضد میکروبی بر اشیشاکولی، استافیلوکوک طلایی، کلبسیلا پنومونیه و پ سودومونا 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 (۱۹، ۱۴) در حالی که گونه‌های مورد

سپاسگزاری

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

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.