

Identification of the constituents of *Achillea santolina* essential oil and evaluation of the anti-microbial effects of its extract and essential oil

Ahmadi Z^{1*}, Sattari M², Tabaraee B³, Bigdeli M⁴

1- Pharmaceutical Sciences Branch, Islamic Azad University of Tehran, Tehran, Iran

2- Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

3- Faculty of Microbiology, Islamic Azad University of Karaj, Karaj, Iran

4- Agriculture Research Organization, Tehran, Iran

Received: 13 Jan 2010, Accepted: 5 May 2010

Abstract

Background: Some plant extracts, including species of *Santolina* have antibacterial effects and they can be used as antimicrobial agents in treatment of infections. Hence, the aim of this study was to evaluate the compounds of essential oil and the anti-microbial properties of its essential oil and extract.

Materials and Methods: In this experimental study, yarrow plant in late spring was collected from Sistan region in 2008. The compounds of the essential oil were analyzed by GC/MS. In this study, the minimum inhibitory concentration (MIC) and diameter of inhibition zone of growth for the standard strains of *Staphylococcus aureus*, *E.coli*, *P.aeruginosa*, and *Candida.albicans* were determined through disk diffusion and agar-well diffusion methods and dilution in the liquid medium, respectively.

Results: Camphor was the major compound of the essential oil. The standard strains of *Staphylococcus aureus* presented the greatest sensitivity to the stem extract and leaf extract in MIC > 0.573 and MBC > 1.146, respectively and to the flower extract in MBC > 1.663 and MIC > 0.831, respectively. In addition, it presented an intermediate sensitivity to standard strains *E.coli* with MBC > 2.293 and MIC > 1.146, respectively to the stem and leaf extract and MBC > 6.650 and MIC > 3.325 respectively to the flower extract. However, the standard strains of *Candida albicans* and *P.aeruginosa* did not show a significant sensitivity to the extracts. Also, the essential oil of this plant in comparison with the extracts did not have any significant antimicrobial effects.

Conclusion: The plant extracts, especially stem and leaf possess anti-bacterial effects. But further investigations are needed for determining its exact mechanism.

Keywords: *Achillea Santolina*, Anti-Microbial Activity, Essential Oil, Extract

*Corresponding author:

Address: Yasaman Alley, Yakhchal St., Shariati St., Tehran, Iran

Email: z.ahmadi59@gmail.com

شناسایی ترکیبات شیمیایی اسانس گیاه بومادران و ارزیابی اثرات ضد میکروبی عصاره و اسانس

زهرا احمدی¹، مرتضی ستاری²، بهمن تبرایی³، محسن بیگدلی⁴

1- دانشجوی دکتری داروسازی، واحد علوم دارویی، دانشگاه آزاد اسلامی تهران، تهران، ایران

2- دانشیار، دکترای باکتری شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

3- استادیار، دکترای بیوتکنولوژی، دانشکده میکروب شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی کرج، ایران

4- استادیار، دکترای کشاورزی، سازمان تحقیقات کشاورزی تهران، تهران، ایران

تاریخ دریافت 88/10/23، تاریخ پذیرش 89/2/15

چکیده

زمینه و هدف: از آنجایی که برخی از عصاره های گیاهی از جمله گونه *Santolina* دارای اثرات ضد باکتریایی هستند و از آنها می توان به عنوان عوامل ضد میکروبی در درمان عفونت ها استفاده نمود، هدف این مطالعه ارزیابی ترکیبات اسانس و خواص ضد میکروبی عصاره و اسانس می باشد.

مواد و روش ها: در این مطالعه تجربی گیاه بومادران در اواخر بهار 1387 از منطقه سیستان جمع آوری گردید. ترکیبات اسانس توسط دستگاه GC/MS آنالیز شد. قطر هاله مهار و حداقل غلظت مهار کننده از رشد (MIC) برای سویه های استافیلوکوکوس، ایشرشیاکلی، استافیلوکوک اورئوس، پزودوموناس آیروژینوزا و کاندیدیا بلیکنس به ترتیب با روش های دیسک دیفیوژن و چاهک پلیت و رقت سازی در محیط کشت مایع تعیین گردید.

یافته ها: کامفر عمده ترین ترکیب اسانس بود. سویه ی استافیلوکوکوس اورئوس بیشتری حساسیت را در $MIC > 0/573$ و $MBC > 1/146$ نسبت به عصاره ساقه و برگ و $MBC > 1/663$ ، $MIC > 0/831$ میلی گرم در میلی مول نسبت به عصاره گل و سویه ی ایشرشیاکلی حساسیت متوسطی را با $MBC > 2/293$ و $MIC > 1/146$ نسبت به عصاره ساقه و برگ و $MBC > 6/65$ و $MBC > 3/325$ میلی گرم در میلی مول نسبت به عصاره گل نشان می دهد. سویه ی پزودوموناس آیروژینوزا و کاندیدیا بلیکنس نیز حساسیت قابل توجهی در برابر عصاره ها نشان ندادند. همچنین اسانس این گیاه در مقایسه با عصاره، اثرات ضد میکروبی قابل توجهی نداشت.

نتیجه گیری: عصاره گیاه به ویژه بخش ساقه و برگ دارای اثرات ضد باکتریایی می باشد و جهت مشخص کردن مکانیسم دقیق آن تحقیقات بیشتری نیاز می باشد.

واژگان کلیدی: گیاه بومادران، فعالیت ضد میکروبی، اسانس، عصاره

*نویسنده مسئول: تهران، خیابان دکتر شریعتی، خیابان یخچال، کوی یاسمن

Email: z.ahmadi59@gmail.com

مقدمه

یکی از مشکلات عمده ای که بشر از ابتدای خلقت با آن دست به گریبان بوده بیماری های عفونی است. با توجه به پدیده بروز مقاومت میکروبی در برابر آنتی بیوتیک ها ضرورت دستیابی به ترکیبات طبیعی با فعالیت ضد میکروبی بیشتر احساس می گردد. از آنجایی که برخی عصاره های گیاهی و ترکیبات شیمیایی آنها دارای اثرات ضد باکتریایی بوده و به عنوان عوامل ضد میکروبی در درمان عفونت ها به کار می روند، بررسی بومادران با نام علمی *Achillea Santolina* که جزء خانواده کاسنی است و در کشور ما رویش دارد امری ضروری می باشد. گل ها و پیکر رویشی و برگ های بومادران خاصیت دارویی دارند. مواد موثره آن اشتها آور است و باعث هضم غذا و مداوای دل درد نیز می شود. استفاده از دم کرده ی آن باعث کاهش فشار خون می شود و از آن برای مداوای نارسایی های کیسه صفرا استفاده می شود. اسانس خاصیت ضد باکتریایی و ضد تورم دارد و از آن در صنایع بهداشتی و آرایشی و در صنایع دارویی برای تهیه کرم ها و پمادها برای لطافت پوست و مداوای تورم های پوستی استفاده می شود (1). جنس بومادران متشکل از حدود 140 گیاه دارویی چند ساله بومی نیمکره شمالی است. از گیاهانی است که تاریخ استفاده از آن برای درمان بیماری ها باید به زمان های خیلی قدیم نسبت داده شود. در قرون اولیه از بومادران برای بند آوردن خون و علاج زخم های که با خونروی همراه بوده است استفاده شده است. برخی دیگر از نام های آن "Ethnobotanical"، "Blood wort"، "Nose bleed"، "Staunchweed" و "Military herb" می باشد (2). دم کرده سرشاخه های گل دار این گیاه در رفع گاستریت های حاد و مزمن، رفع نفخ و ترش کردن غذا اثر نافع ظاهر می کند. بومادران به علت دارا بودن تانن و مواد تلخ و عطری بر روی سلسله اعصاب و قلب نیز اثر می کند، به طوری که در موارد مختلف درمانی مانند خستگی عمومی، ضعف قلب و همچنین در بیماری های عصبی مانند

ضعف اعصاب، هیستری و صرع نتایج مفید می دهد. بومادران بر اثر قابض بودن در رفع ترشحات زنانگی، بند آوردن خون، بواسیر های خونی و اسهال های ساده اثر معالج دارد و چون در این گونه موارد به طور قاطع عمل می کند اعتقاد مردم نسبت به آن در طی قرون متمادی زیاد بوده است (3). داروی رسمی این گیاه در فارماکوپه اروپا *Millefoliiherba (IV)* می باشد. با توجه به تعریف شامل جوانه های کامل گل های خشک *A.Millefolium* می باشد (2). با توجه به وجود مواد فیتوشیمیایی گوناگون مانند سسکویی ترین لاکتون ها و فلاون ها با پتانسیل ضد باکتریایی قابل ملاحظه در گیاه بومادران نیاز به انجام مطالعات آزمایشگاهی و درمانگاهی در تعیین کیفیت و گستره تاثیر مواد مذکور بر روی انواع مختلف میکروارگانیسم های پاتوژن زخم ها و جراحات احساس می شود (4-5). پژوهش حاضر تلاشی در جهت ارزیابی آزمایشگاهی تاثیر ضد میکروبی عصاره و اسانس بومادران بر روی میکروارگانیسم های استاندارد شامل، استافیلوکوکوس ارئوس، ایشرشیا کلی و پseudomonas آبروزینوزا انجام گردید.

مواد و روش ها

در این مطالعه تجربی، بخش های هوایی گیاه بومادران در فروردین ماه سال 1387 در زمان گل دهی از منطقه سیستان و بلوچستان در جنوب ایران جمع آوری گردید و توسط بخش گیاه شناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه سیستان و بلوچستان شناسایی شد. بخش های هوایی گیاه در سایه در دمای اتاق به مدت 48 ساعت خشک و توسط دستگاه آسیاب برقی کاملاً پودر گردید. مقدار 40 گرم از پودر حاصل به دستگاه کلونجر مدل قید شده در فارماکوپه بریتانیا (مخصوص اسانس گیری) منتقل و مورد تقطیر با بخار آب قرار گرفت. پس از مدت 4 ساعت اسانس آن استخراج و توسط سولفات سدیم انیدر آب گیری و در ظرف در بسته و تیره در دمای 4 درجه دور از نور نگهداری شد (6). شناسایی ترکیبات اسانس به روش GC/MS انجام شد. مدل

محلول شده و بر محیط مولر هینتون آگار کشت داده شدند. برای بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره و اسانس از روش دیسک کاغذی استفاده شد.

سوش های مورد نظر از آزمایشگاه میکروبی دانشکده پزشکی دانشگاه تربیت مدرس تهیه شدند. 10 میکرولیتر از هر یک از عصاره ها با غلظتی معادل 33/13 میکروگرم بر میلی لیتر از عصاره ساقه و برگ و همچنین همان حجم از اسانس را بر روی دیسک های بلانک استریل استاندارد قرار داده و پس از خشک شدن دیسک ها با پنس استریل در جای مناسب بر روی پلیت های حاوی محیط مولر هینتون آگار آغشته با میکروارگانسیم مورد نظر قرار داده شدند. به عنوان شاهد منفی برای عصاره اتانولی از دیسک های بلانک استریل حاوی 10 میکرولیتر اتانول 96 درصد استفاده شد، سپس پلیت ها به مدت 24 ساعت در انکوباتور 37 درجه سانتیگراد قرار داده شدند. عملیات مذکور در مورد هر نمونه سه بار تکرار گردید. پس از آن میزان مناطق مهاری مورد ارزیابی قرار گرفت و بر اساس میلی متر محاسبه و سپس میانگین آنها ثبت گردید (8).

بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره و اسانس به روش چاهک پلیت انجام شد. در این روش هم از پلیت های حاوی محیط کشت مولر هینتون آگار که آغشته به میکروارگانسیم بودند استفاده شد. توسط یک پیپت پاستور استریل که مخصوص ایجاد چاهک است، یک گودی در محیط کشت ایجاد کرده و داخل هر چاهک با سمپلر 50 لانداز عصاره ها و اسانس به طور جداگانه قرار داده شد. سپس پلیت ها به مدت 24 ساعت در انکوباتور 37 درجه سانتیگراد قرار داده شدند. عملیات مذکور در مورد هر نمونه سه بار تکرار گردید، پس از آن میزان مناطق مهاری مورد ارزیابی قرار گرفت و بر اساس میلی متر محاسبه و سپس میانگین آنها ثبت گردید (6). تست بررسی حداقل غلظت مهارکنندگی (Minimum Inhibitory Concentration-MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC - Minimum Bacteriocidal Concentration) عصاره ها به روش

دستگاه HP-6890 /HP5 (ساخت کشور آلمان) بود. نوع ستون HP5-MF ، طول ستون 30 متر و قطر داخلی 0/25 میلی متر بود و برنامه ریزی حرارتی ستون از 60 تا 220 درجه سانتی گراد با سرعت افزایش دمای 6 درجه سانتی گراد در دقیقه انجام گردید. گاز حامل، هلیوم 99/999 درصد و نوع تزریق Split، مقدار تزریق 1 میکرولیتر و سرعت جریان گاز 1 میلی لیتر در دقیقه تنظیم شده بود. حجم 1 میکرولیتر از اسانس گیاه به دستگاه GC/MS تزریق شد. سپس نتایج بدست آمده از دستگاه با محاسبه اندیس کواتس و مراجعه به فرهنگ ترکیبات طبیعی مورد شناسایی قرار گرفتند.

آماده سازی عصاره و عصاره گیری به روش خیساندن (Maceration) استفاده شده است ، برای این منظور مقدار 50 گرم از پودر تهیه شده ی گیاه توسط 100 سی سی اتانول 96 درجه داخل بشرهای مجزا خیسانده شد. سر بشرها با پارافیلیم بسته و به مدت 24 ساعت در محل تاریک و دمای اتاق بر روی همزن مغناطیسی به آرامی مخلوط گردید تا استخراج عصاره به طور کامل و مطلوب انجام گیرد. عصاره حاصل به مدت 5 دقیقه با 2500 دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. سپس محللول رویی جمع آوری و به منظور تبخیر اتانول به مدت 24 ساعت در انکوباتور قرار داده شد. پس از انکوباسیون عصاره خشک شده در ظرف تیره ای در یخچال نگهداری شد (7).

میکروبیهای مورد مطالعه شامل موارد زیر بودند:

- 1- اشریشیاکلی ATCC25922
 - 2- پزودوموناس آیروژینوزا ATCC8821M
 - 3- استافیلوکوکوس اورئوس ATCC25923
 - 4- کاندیدیا بلیکنس ATCC1023
- نوع محیط کشت و طول مدت زمان مورد نیاز انکو باسیون، برای میکرو ارگانسیم های مورد آزمون بر مبنای توصیه های ATCC انجام گرفت. محیط های کشت بر مبنای دستور العمل کارخانه سازنده آماده سازی گردیدند. از کشت 24 ساعته هر میکروارگانسیم 3 کلنی در 4 میلی لیتر آب مقطر

26/27 درصد می باشد. منظور از ترکیباتی که در جدول به صورت ناشناخته ذکر شده این است که این ترکیبات در اسانس رد یابی شده اند و لیکن ترکیبات جدید می باشند و هنوز اطلاعاتی راجع به ساختار این ترکیبات در کتاب های رفرنس موجود نمی باشد. نتایج تست میکروبی به روش دیسک دیفیوژن در جدول (شماره 2) نشان داده شده است که حاکی از وجود اثرات ضد باکتریایی عصاره گل (+) در مقابل باکتری های استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیاکلی عصاره ساقه و برگ (+) در مقابل استافیلوکوکوس اورئوس و عدم وجود این اثر برای اسانس (-) به علت عدم نفوذپذیری آن در آگار می باشد. باکتری پزودوموناس آروژینوزا فاقد هاله عدم رشد در نتیجه مقاوم در برابر عصاره ها و اسانس می باشد. هاله مربوط به کانیدیا لیکنس بسیار کوچک و نا چیز مشاهده شد. نتایج تست میکروبی به روش رقت سازی در محیط کشت مایع در جداول 4 و 5 آمده است. پس از مشخص نمودن رقت مورد نظر (لوله فاقد رشد)، این رقت در وزن خشک یک سی سی عصاره توزین شده (گل 13/3 میکروگرم، ساقه و برگ 9/17 میکروگرم) ضرب و MIC بر حسب میلی گرم بر میلی لیتر محاسبه گردید. سویه ی استاندارد استافیلوکوک اورئوس بیشترین حساسیت را نسبت به عصاره ساقه و برگ و همچنین سویه استاندارد اشریشیاکلی حساسیت متوسط را نشان می دهد.

بحث

در این پژوهش، اسانس گیاه بومادران پس از استخراج به وسیله GC/MS مورد شناسایی قرار گرفت و از آن 29 ترکیب شیمیایی شناسایی شده است که ترکیبات عمده آن شامل کامفر (26/27 درصد)، آلفا پینن (10/14 درصد)، کامفن (9/09 درصد) و (8/26 درصد) بوده است. اسانس از این جهت که حاوی کامفر با مقادیر قابل توجه می باشد ارزشمند است. از آنجایی که هیچ مطالعه ای راجع به ترکیبات اسانس این گونه در داخل و خارج ایران انجام نگرفته است

رقت سازی در محیط کشت مایع برای آن دسته از باکتری ها انجام می گردد که نسبت به عصاره ها حساس و هاله عدم رشد آنها مشاهده می شود.

به عصاره های خشک حاصل 12 سی سی الکل 96 درجه سانتی گراد اضافه گردید. بدین ترتیب غلظتی معادل 13/33 میکروگرم بر میلی لیتر از عصاره گل و 9/16 میکروگرم بر میلی لیتر از عصاره ساقه و برگ حاصل شد. سپس به کمک یک سمپلر 500 لاندا از محیط کشت لاکتوز برات تهیه شده زیر هود به داخل لوله های شماره گذاری شده ی استریل (1 تا 6) منتقل شد. در مرحله بعد 50 لاندا از سوسپانسیون میکروبی تهیه شده (معادل 0/5 مک فارلند) از هر کدام از سویه ها به داخل تمام لوله ها به استثنای لوله ی کنترل منفی و 500 لاندا از عصاره ها هر کدام جداگانه به لوله های شماره 1 اضافه شد. سپس 500 لاندا از لوله ی اول بر داشته به لوله دوم اضافه می کنیم تا رقت لوله اول 1/5 میلی گرم بر میلی لیتر شود. به همین ترتیب ادامه می دهیم تا لوله ی شماره 4، که 500 لاندا از آن دور ریخته می شود. به ترتیب از لوله شماره 1 تا 4 رقت های 0/5، 0/25، 0/125، 0/625 (میلی گرم بر میلی لیتر) تهیه شد. در این مرحله 2 تا کنترل مثبت و منفی نیز تهیه شد. کنترل مثبت شامل 500 لاندا از محیط کشت لاکتوز برات به اضافه 50 لاندا باکتری و کنترل منفی شامل 500 لاندا از محیط کشت لاکتوز برات به اضافه 50 لاندا عصاره بودند. در انتها سر لوله ها را با پنبه های استریل کاملاً پوشانده و به مدت 24 ساعت در انکوباتور 37 درجه سانتی گراد قرار داده و بعد از گذشت این زمان لوله ها از نظر رشد میکروارگانیسم بررسی شدند (8). بدلیل محدودیت در مقدار گیاه در دسترس و نا کافی بودن مقدار اسانس استخراج شده تست MIC و MBC روی اسانس انجام نشده است.

یافته ها

ترکیبات شناسایی شده در اسانس در جدول شماره 1 شرح داده شده است. عمده ترین ترکیب شناسایی شده کامفر

بررسی مقایسه ای امکانپذیر نمی باشد. و لیکن روی ترکیبات اسانس گونه های دیگر این جنس داده هایی در دست است از جمله مطالعه کلی نمت و همکاران روی جنس نشان می دهد که یک سری ترکیبات شامل مونو و سس کوئی Achillea

جدول 1. ترکیبات شیمیایی شناسایی شده در اسانس حاصل از گیاه بومادران

شماره	نام ترکیب شیمیایی	درصد ترکیبات شناسایی شده	اندیس کواتس
1	ناشناخته	0/55	924
2	Alpha-pinene	10/14	939
3	Camphene	9/09	953
4	Sabinene	1/05	976
5	نا شناخته	0/53	988
6	P-cymene	4/70	1026
7	1,8 Cineole	8/26	1033
8	3-2-Ocimene	0/45	1040
9	Linalool	4/10	1098
10	ناشناخته	0/36	1109
11	ناشناخته	1/20	1116
12	Chrysanthenone	5/11	1123
13	Camphor	26/27	1143
14	Pinocarvone	0/55	1162
15	Borneol	4/85	1165
16	نا شناخته	0/87	1236
17	نا شناخته	1/10	1247
18	Chrysanthenylactate	1/23	1262
19	نا شناخته	0/39	1278
20	Thymol	2/14	1290
21	Eugenol	1/12	1356
22	نا شناخته	0/66	1420
23	نا شناخته	2/42	1531
24	نا شناخته	0/75	1550
25	(+)Spathulenol	0/93	1576
26	Caryophyllene oxid	4/69	1581
27	نا شناخته	2/98	1620
28	beta-Eudesmol	2/98	1649
29	نا شناخته	0/59	1668

می باشد (3). همچنین سودابه سعیدنیا و همکاران تحقیقی بر روی ترکیبات شیمیایی اسانس A.conferta در ایران و با روش GC/MS انجام داده اند و گزارش کرده اند که اسانس به رنگ زرد و دارای عطر و بوی دلپذیر و طعم شیرین و احتمالاً بوی آن به خاطر ترکیبات کامفر بوده است. نتایج GC/MS در آن مطالعه نیز شامل 48 ترکیب (91/4 درصد) از کل اسانس بوده است که کامفر (22/1 درصد) و 1-8- سینول (10درصد) جزء ترکیبات عمده آن بوده اند

ترپنوئیدها، دی ترپنوئیدها، فینیل پروپانوئیدها و کاروتنوئیدها در این جنس مشترک هستند و در میان مونو ترپنوئیدها 1-8- سینول در یک سوم گونه ها و ترکیبات با اسکلت Bornane مثل کامفر و بورنتول دومین و سومین ترکیبات رایج موجود می باشند و اسانس بهترین عامل شناخته شده فعال و مخلوطی از ترکیبات شیمیایی طبیعی است که میزان آن بسته به نوع گونه و شرایط زیست محیطی بین دکستروز/آب (0/1-10%) متفاوت است. طبق فارماکوپه اروپا حداقل مقدار آن در سرشاخه های گل دار 2 میلی لیتر بر کیلوگرم

جدول 2. نتایج اثرات ضد باکتریایی عصاره و اسانس گیاه بومادران بر اساس تشکیل هاله عدم رشد به روش دیسک دیفیوژن بر حسب میلی متر و مقایسه آن با آنتی بیوگرام استاندارد

نام باکتری	نوع دیسک	شاهد عصاره گل (اتانول) 96%	عصاره ساقه و برگ (اتانول) 96%	شاهد عصاره ساقه و برگ (اتانول) 96%	اسانس	شاهد اسانس (اتانول) 96%	جنتامیسین	اگزاسیلین
استافیلوکوکوس اورئوس ATCC 25923	عصاره گل	13(±0/5)	9(±0/2)	-	0	-	12(±0/8)	22(±0/9)
پزودوموناس آبروژینوزا ATCC 8821M	عصاره گل	0	0	-	0	-	15(±0/6)	0
اشربیشیاکلی ATCC 25922	عصاره گل	9(±0/2)	0	-	0	-	21(±0/3)	14
کاندیدیا البیکنس ATCC1023	عصاره گل	0	0	-	0	-	فلوکونازول	18(±0/5)

جدول 3. نتایج قطر هاله عدم رشد اسانس گیاه بومادران بر حسب میلی متر به روش چاهک پلیت

نام باکتری	نوع دیسک	عصاره گل (اتانول) 96درصد	عصاره ساقه و برگ (اتانول) 96درصد	شاهد عصاره ساقه و برگ (اتانول) 96درصد	اسانس	شاهد اسانس (اتانول) 96درصد
استافیلوکوکوس اورئوس ATCC 25923	عصاره گل	17(±0/6)	13(±0/3)	-	0	-
پزودوموناس آبروژینوزا ATCC 8821M	عصاره گل	0	0	-	0	-
اشربیشیاکلی ATCC 25922	عصاره گل	12(±0/4)	0	-	0	-
کاندیدیا البیکنس ATCC1023	عصاره گل	0	0	-	0	-

جدول 4. نتایج حاصله از MIC و MBC (میلی گرم در دسی لیتر) عصاره گل به روش رقیق سازی در محیط کشت مایع

MBC	MIC	باکتری
1/663	0/831	استافیلوکوکوس اورئوس ATCC 25923
مقاوم	مقاوم	پزودوموناس آبروژینوزا ATCC 8821M
6/650	3/325	اشریشیاکلی ATCC 25922

جدول 5. نتایج حاصله از MIC و MBC (میلی گرم در دسی لیتر) عصاره ساقه و برگ به روش رقیق سازی در محیط کشت مایع

MBC	MIC	باکتری
1/146	0/573	استافیلوکوکوس اورئوس ATCC 25923
مقاوم	مقاوم	پزودوموناس آبروژینوزا ATCC 8821M
2/293	1/146	اشریشیاکلی ATCC 25922

داد و قارچ کاندیدیا البیکنس با هاله عدم رشد بسیار کوچک در برابر عصاره ها و اسانس حساسیت قابل ملاحظه نشان نداد. بدلیل اینکه گیاه مورد نظر بومی می باشد و به صورت مزرعه ای هنوز کشت نشده است مقدار گیاه در دسترس ما بسیار کم بوده و در نتیجه اسانس حاصل از آن بسیار ناچیز بود و پس از بررسی به دو روش چاهک گذاری و دیسک کاغذی و عدم پاسخ، بررسی MIC و MBC روی آن امکان پذیر نبود. همان گونه که راجع به ترکیبات اسانس گیاه صحبت شد باید افزود که در ارتباط با فعالیت ضد میکروبی اسانس و عصاره این گونه خاص در ایران و خارج از کشور مطالعه ای گزارش نشده است، لذا تنها به بررسی های مقایسه ای که روی گونه های دیگری از این جنس انجام شده است می پردازیم. مهمت آنلو و همکاران (8) در ترکیه و یونان طی مطالعه ای روی فعالیت ضد میکروبی اسانس های دو گونه *A. teretifolia* و *A. setacea* مشاهده کردند که علیه استافیلوکوکوس

از این لحاظ بین گونه *Conferta Dc* و گونه *Santolina* که هر دو بومی ایران هستند شباهت زیادی وجود دارد (6). در این تحقیق با توجه به امکانات موجود اثرات ضد میکروبی عصاره ساقه و برگ و گل به طور مجزا و نیز اسانس بر روی 3 باکتری استافیلوکوکوس اورئوس، اشریشیاکلی، پزودوموناس آبروژینوزا و قارچ کاندیدیا البیکنس به روش دیسک دیفیوژن و چاهک پلیت نیز مورد بررسی قرار گرفتند و همچنین MIC به روش رقیق سازی در محیط کشت مایع برای هر 3 باکتری تعیین گردید. با توجه به نتایج بدست آمده از هر سه تست میکروبی، استافیلوکوکوس اورئوس حساس ترین میکروارگانیسم تست شده در برابر عصاره ها با کمترین MIC و MBC بوده است. اشریشیاکلی میکروارگانیسم دیگر بود که با MIC و MBC کمتر بعد از استافیلوکوکوس اورئوس، حساسیت نشان داد. پزودوموناس آبروژینوزا در برابر اسانس و عصاره فاقد هاله عدم رشد بود و مقاومت نشان

میکروبی ضعیفی بود. حساسیت کمی در برابر میکروارگانسیم های استافیلوکوکوس اورئوس، اشیشیاکلی، پزودوموناس آیروژینوزا و کاندیدیا الیکس دارد (12).

نتیجه گیری

با توجه به اینکه عصاره بومادران به ویژه بخش ساقه و برگ دارای خاصیت ضد باکتریایی خوبی می باشد، این گونه می تواند وسیله ارزشمند درمانی در فیتوتراپی محسوب شود، لذا می توان به عنوان عامل ضد باکتریایی در درمان عفونت ها بکار برد. اما جهت مشخص کردن مکانیسم دقیق آن تحقیقات بیشتری مورد نیاز است. با توجه به اینکه کامفر بیشترین ترکیب تشکیل دهنده اسانس می باشد و کاربرد های فراوانی دارد، از این اسانس می توان در صنایع بهداشتی، آرایشی و در صنایع دارویی برای تهیه کرم ها و پمادها برای لطافت پوست و به عنوان یک منبع مهم اقتصادی در صنایع شیمیایی و داروسازی استفاده نمود.

تشکر و قدردانی

این مقاله بر اساس پایان نامه دانشجویی به شماره 1991 تایید شده توسط معاونت پژوهشی و حمایت مالی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم دارویی و همکاری صمیمانه مدیریت و پرسنل محترم دانشکده تربیت مدرس تهران، مرکز تحقیقات انستیتو پاستور ایران و سازمان تحقیقات و کشاورزی انجام گرفته است. بدین وسیله از کلیه عزیزانی که در انجام این تحقیق با ما همکاری صمیمانه داشته اند تشکر و قدردانی می شود.

منابع

- Zargari M. Medicinal Plants. 4th ed. Tehran: Tehran University Publication; 1996: 106-117.
- Sökmen A, Sökmen M, Daferera D, Polissiou M, Candan F, Ünlü M, et al. The in vitro antioxidant and antimicrobial activities of the essential oil and methanol extracts of Achillea

اورئوس فعالیت بسیار ضعیف و طیف MIC (2/25 تا 36 میلی گرم بر میلی لیتر) وسیع می باشد.

همچنین در مطالعه دیگری توسط گردانا استو ژانویک و همکارانش در ژاپن در روش دیسک دیفیوژن بیشترین میزان مهار مربوط به استافیلوکوکوس اورئوس با قطر 27 میلی متر و اشیشیاکلی با قطر 26 میلی متر در مورد عصاره های *A. lingulata* و *A. clavennae* مشاهده شد. در حالی که *A. millefolium* و *A. holosericea* فعالیت ضعیفی داشتند (7). در مطالعه ی فردا کندان و همکاران (2003) در بررسی هایی روی اسانس و عصاره *A. millefolium* زیر گونه *A. fan* دریافتند که بخش غیر محلول در آب عصاره دارای اثرات متوسط ضد میکروبی و بخش محلول در آب عصاره فاقد اثر و اسانس دارای اثرات قوی تری است و کمترین MIC (4/5 میلی گرم بر میلی لیتر) را در برابر استرپتوکوکوس پنومونیا، کلسترودیوم پرفرینژن و کاندیدیا الیکس دارد، در نتیجه، در کل فعالیت ضد میکروبی آن ضعیف می باشد (9). در کنار خاصیت ذاتی فعالیت بیولوژیکی ترکیبات، روش های استخراج و تهیه نیز می تواند نتایج متفاوتی را به همراه داشته باشند. اسانس گونه ی مورد پژوهش ما در مقایسه با عصاره ها اثرات قابل توجهی نداشت. که شاید به این دلیل باشد که مقدار آن بسیار کم بود. مطالعه دیگری که توسط حسین تاجیک و همکاران (1387) صورت گرفته، نشان می دهد که استافیلوکوکوس اورئوس حساس ترین میکروارگانسیم در برابر اثرات مهاری عصاره آبی و الکلی گیاه بومادران می باشد و همچنین پزودوموناس آیروژینوزا کمترین حساسیت را دارا می باشد (10). در مطالعه دیگری که توسط رادولویک و همکاران انجام شد مشاهده کردند که عمده ترین ترکیبات اصلی اسانس که خاصیت ضد میکروبی نشان داده اند 1- 8-سیئول، کامفر و بورئول می باشند، که هر کدام به میزان بالایی در اسانس این جنس حضور دارند (11). در مطالعه توبروسو و همکاران در ایتالیا مشخص شد اسانس گونه *A. ligustica* دارای فعالیت ضد

- biebersteini Afan.(Asteraceae). *Phytotherapy Research*. 2004; 18(6): 451-456.
- 3.Nemeth E, Bernath J. Biological activities of yarrow species (*Achillea* spp.). *Current Pharmaceutical Design*. 2008; 14(29): 3151-3167.
- 4.Pattnaik S, Subramanyam V ,Bapaji M, Kole C. Antibacterial and antifungal activity of aromatic constituents of essential oils. *Microbios*. 1997; 89(358): 39-46.
- 5.Aljanc ic I, Vajs V, Menkovic N, Karadzic I, Juranic N, Milosavljevic S, et al. Flavones and Sesquiterpene Lactones from *Achillea a trata* subsp. m *ultifida*: Antimicrobial Activity. *Journal of natural products*. 1999; 62(6): 909-911.
- 6.Saeidnia S, Yassa N, Rezaeipoor R, Shafiee A. Comparative investigation of the essential oils of *Achillea talagonica* Boiss. and *A. millefolium* , chemical composition and immunological studies. *Journal of Essential Oil Research*. 2004; 16(3): 262-265.
- 7.Stojanovic G, Radulovic N, Hashimoto T, Palic R. In vitro antimicrobial activity of extracts of four *Achillea* species: The composition of *Achillea clavennae* L. (Asteraceae) extract. *Journal of ethnopharmacology*. 2005; 101(1-3): 185-190.
- 8.Ünlü M, Daferera D, Dönmez E, Polissiou M, Tepe B, Sökmen A. Compositions and the in vitro antimicrobial activities of the essential oils of *Achillea setacea* and *Achillea teretifolia* (Compositae). *Journal of ethnopharmacology*. 2002; 83(1-2):117-121.
- 9.Candan F, Unlu M, Tepe B, Daferera D, Polissiou M, Sokmen A, et al. Antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and methanol extracts of *Achillea millefolium* subsp. *millefolium* Afan. (Asteraceae). *Journal of ethnopharmacology*. 2003;87 (2-3):215-220.
- 10.Tajik hossein ssjf. comparative evaluation of antimicrobial efficacy of aqueous and alcoholic extracts of yarrow against pathogenic microorganisms. *the journal of urmia university of medical sciences*. 2009.
- 11.Radulovic N, Zlatkovic B, Palic R, Stojanovic G. Chemotaxonomic significance of the Balkan *Achillea* volatiles. *Natural Product Communications*. 2007; 2: 453-474.
- 12.Tuberoso CIG, Kowalczyk A, Coroneo V, Russo MT, Dessì S, Cabras P. Chemical composition and antioxidant, antimicrobial, and antifungal activities of the essential oil of *Achillea ligustica* All. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2005; 53(26): 10148-10153.