Arak Medical University Journal (AMUJ)
2011; 14(56): 1-10

Original Article

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 M[2], Tabaraee B[3], Bigdeli M[4]

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

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 16:29 +0330 on Sunday January 21st 2018

مقاله پژوهشی

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک
سال 14، شماره 3 (شماره پیاپی 56)، مرداد و شهریور 1390، 10-1

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

زهرا احمدی[1*]، مرتضی ستاری[2]، بهمن تبرایی[3]، محسن بیگدلی[4]

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 مهاری و حداقل غلظت مهار کننده از رشد (MIC) برای سویه های استافیلوکوکوس، ایشرشیاکلی،استافیلوکوک اورئوس، پزودوموناس آیروژینوزا و کاندیدیا البیکنس 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 سویه‌ی ایشرشیاکلی حساسیت متوسطی را با MBC> 2/293 و MIC> 1/146 نسبت به عصاره ساقه و برگ و MBC>6/65 و 3/325 <MIC میلی گرم در میلی مول نسبت به عصاره گل نشان می دهد. سویه ی پزودوموناس آیروژینوزا و کاندیدیا البیکنس 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

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 16:29 +0330 on Sunday January 21st 2018

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 16:29 +0330 on Sunday January 21st 2018

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 سر شاخه 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 **(IV)** Millefoliiherba 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 ترپن 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 پسودوموناس آیروژینوزا 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 کلاونجر 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

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 16:29 +0330 on Sunday January 21st 2018

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، هلیم 99/999 درصد و نوع تزریق Spilit، 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 پارافیلم 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 محلول 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).

میکروبهای مورد مطالعه شامل موارد زیر بودند:

1- اشریشیاکلی ATCC25922
2- پزودوموناس آیروژینوزا ATCC8821M
3- استافیلوکوکوس اورئوس ATCC25923
4- کاندیدیا البیکنس ATCC1023

نوع محیط کشت و طول مدت زمان مورد نیاز انکو باسیون، برای میکرو ارگانیسم 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 میکروارگانیسم 3 کلنی در 4 میلی لیتر آب مقطر 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 معادل33 /13 میکروگرم بر میلی لیتراز عصاره گل و9/16 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 میکروارگانیسم 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 میکروارگانیسم 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 لاندا از 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 مهار کنندگی (Mnimum Inhibitory Concentration-MIC) و حداقل غلظت کشندگی(MBC - Mnimum Bcteriocidal Cncentration) عصاره ها به روش

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 16:29 +0330 on Sunday January 21st 2018

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 براث تهیه شده زیر هود به داخل لوله های شماره گذاری شده ی استریل (1 تا 6) منتقل شد. در مر حله 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 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 شامل500 لاندا از محیط کشت لاکتوز براث به اضافه 50 لاندا باکتری و کنترل منفی شامل 500 لاندا از محیط کشت لاکتوز براث 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 وMBC 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 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 (شماره2) 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 می‌باشد. باکتری پزودوموناس آیروژینوزا فاقد هاله عدم رشد در نتیجه مقاوم در برابر عصاره ها و اسانس می باشد. هاله مربوط به کاندیدیا البیکنس 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

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

جدول1 . 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

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 16:29 +0330 on Sunday January 21st 2018

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 16:29 +0330 on Sunday January 21st 2018

ترپنوئیدها، دی ترپنوئیدها، فنیل پروپانوئیدها و کاروتنوئیدها در این جنس مشترک هستند و در میان مونو ترپنوئیدها 1- 8- سینوئل در یک سوم گونه ها و ترکیبات با اسکلت Bornane مثل کامفر و بورنئول دومین و سومین ترکیبات رایج موجود می باشند و اسانس بهترین عامل شناخته شده فعال و مخلوطی از ترکیبات شیمیائی 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 سر شاخه های گل دار 2 میلی لیتر بر کیلوگرم می باشد(3). همچنین سودابه سعیدنیا و همکاران تحقیقی بر روی ترکیبات شیمیایی اسانس A.confertaDc 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 احتمالا بوی آن به خاطر ترکیبات کامفر بوده است. نتایج GC/MS درآن مطالعه نیز شامل 48 ترکیب (91/4 درصد) از کل اسانس بوده است که کامفر (22/1 درصد) و1- 8- سینوئل (10درصد) جزء ترکیبات عمده آن بوده اند

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

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

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

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 16:29 +0330 on Sunday January 21st 2018

جدول4. نتایج حاصله از MIC و MBC (میلی گرم در دسی لیتر) عصاره گل به روش رقیق سازی در محیط کشت مایع

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

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

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

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 آیروژینوزا 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 وMBC بوده است. اشریشیاکلی میکروارگانیسم دیگر بود که با MIC وMBC کمتر بعد از استافیلوکوکوس اورئوس، حساسیت نشان داد. پزودوموناس آیروژینوزا در برابر اسانس و عصاره فاقد هاله عدم رشد بود و مقاومت نشان 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

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 ژانوویک و همکارانش در ژاپن در روش دیسک دیفیوژن بیشترین میزان مهار مربوط به استافیلوکوکوس اورئوس با قطر 27 میلی متر و اشریشیاکلی با قطر 26 میلی متر در مورد عصاره های A.clavennae و A.lingulata 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 البیکنس 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 میکروارگانیسم 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 رادولوویک و همکاران انجام شد مشاهده کردند که عمده ترین ترکیبات اصلی اسانس که خاصیت ضد میکروبی نشان داده اند 1- 8-سینئول، کامفر و بورنئول می باشند، که هر کدام به میزان بالایی در اسانس این جنس حضور دارند (11). در مطالعه توبروسو و همکاران در ایتالیا مشخص شداسانس گونه A. ligustica دارای فعالیت ضد میکروبی ضعیفی بود. حساسیت کمی در برابر میکروارگانیسم های استافیلوکوکوس اورئوس، اشریشیاکلی، پزودوموناس آیروژینوزا و کاندیدیا البیکنس 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 دانشجوئی به شماره 1991 تایید شده توسط معاونت پژوهشی و حمایت مالی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم داروئی 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

1.Zargari M. Medicinal Plants. 4th ed. Tehran: Tehran University Publication; 1996: 106-117.
2.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

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 16:29 +0330 on Sunday January 21st 2018

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 16:29 +0330 on Sunday January 21st 2018

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 scinces. 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.