Research on Medicine Original Article

The Quarterly journal of School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences Vol.43; No.3; 2019

Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir at 21:39 +0430 on Friday September 18th 2020

In Vitro Evaluation of the Antimicrobial Properties of Essential Oils and Methanolic Extracts of Four Species of *Salvia L.*

Maryam Iravani, Roya Mahinpour, Zohreh Zahraei *, Zeinab Toluei

Department of Cell and Molecular Biology, Faculty of Chemistry, University of Kashan, Kashan, Iran

(Received:2018/12/15 Accept: 2019/05/18)

Abstract

Background: *Today, due to increased use of chemical drugs and spread of microbial resistance to antibiotics as well as the side effects of drug consumption, the identification and introduction of plant species with medicinal and antimicrobial properties have widely been regarded important. Different species of salvia L. have been used in traditional and modern medicine for therapeutic purposes. In the current study, the antimicrobial activity of the essential oils and methanolic extracts of aerial parts of four species of Salvia contains S. syriaca L. and S. ceratophylla L and two populations of S. reuterana Boiss., and two populations of S. limbata C.A. Mey. from Kashan region, were investigated.*

Materials and Methods: *An experimental research was conducted in in vitro conditions. Methanolic extract of samples was prepared using soxhlet apparatus. The essential oils were extracted using hydrodistillation using Clevenger method. Antimicrobial activity of this species was investigated using the Agar well diffusion technique and MIC and MBC tests.*

Findings: *The essential oils and methanolic extracts of these sample plants showed antimicrobial activity against Bacillus subtilis, Staphylococcus aureus, and Staphylococcus epidermidis in 30 mg/ml. In addition, extract of S. reuterana and essential oil of S. limbata from Dorreh inhibit the growth of Candida albicans.*

Conclusion: *It seems that considering the antimicrobial properties of some of the extracts and essential oils observed in the current study, they can be used as substitutions for the current antibiotics after more extensive graduate studies are performed.*

Keywords: *Salvia; Antimicrobial properties; Methanolic extracts; Well diffusion; Essential oils*

** Corresponding Author: Zohreh Zahraei / Roya Mahinpour*
Email:zahraei@kashanu.ac.ir

پژوهش در پزشکی
مقاله پژوهشی
فصلنامه علمی پژوهشی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی
دور ۴۳، شماره ۳، ۱۳۹۸، صفحات ۱۵۷ تا ۱۶۳

Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir at 21:39 +0430 on Friday September 18th 2020

بررسی خواص ضدمیکروبی اسانس و عصاره متانلی چهارگونه مریم‌گلی *Salvia* L. در شرایط آزمایشگاهی

مریم ایروانی[۱]، رؤیا مهین‌پور[۲]، زهره زهرایی[۱*]، زینب طلوعی[۱]

۱- گروه زیست‌شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده شیمی، دانشگاه کاشان

تاریخ دریافت مقاله:۱۳۹۷/۰۹/۲۴ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۸/۰۲/۲۸

چکیده:

سابقه و هدف: امروزه به دلیل افزایش استفاده از داروهای شیمیایی و گسترش مقاومت میکروبی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های سنتتیک(صناعی)، همچنین عوارض جانبی مصرف داروها، شناسایی و معرفی گونه‌های گیاهی با خواص دارویی و ضدمیکروبی اهمیت زیادی دارد. انواع گونه‌های مریم گلی نیز در طب سنتی و مدرن برای اهداف درمانی استفاده شده‌اند. در این مطالعه خواص ضدمیکروبی اسانس‌ها و عصاره‌های متانلی چهار گونه از جنس *Salvia* شامل گونه‌های *S. ceratophylla L.*، دو جمعیت از گونه *S. reuterana Boiss.*، دو جمعیت از گونه *S. limbata C.A. Mey.* و *S. syriaca L.* از منطقه کاشان (اصفهان، ایران) ارزیابی شد.

مواد و روش‌های بررسی: در این مطالعه که به روش تجربی - آزمایشگاهی انجام شد، عصاره‌های متانلی گونه‌های مطالعه شده با روش سوکسله تهیه شدند. اسانس‌ها با استفاده از روش تقطیر با آب به وسیله دستگاه کلونجر اسانس گیری شد. خواص ضدمیکروبی این گونه‌ها با روش انتشار در آگار و تعیین حداقل غلظت مهارکننده رشد (*MIC*) و حداقل غلظت کشنده باکتری (*MBC*) بررسی شد.

یافته‌ها: اسانس‌ها و عصاره‌های متانلی این نمونه‌های گیاهی بر باکتری‌های گرم مثبت *Staphylococcus aureus*، *Staphylococcus epidermidis* و *Bacillus subtilis* در غلظت *30 mg/ml* اثر ضدمیکروبی نشان دادند. در ضمن عصاره *S. reuterana* و اسانس *S. limbata* از دره نیز سبب مهار رشد *Candida albicans* شدند.

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد با توجه به خواص ضدمیکروبی برخی از عصاره‌ها و اسانس‌هایی که در این مطالعه مشاهده شد، می‌توان از آن‌ها پس از مطالعه‌های تکمیلی گسترده‌تر به عنوان جایگزین داروهای ضدمیکروبی استفاده کرد.

واژگان کلیدی: مریم گلی، خواص ضدمیکروبی، انتشار چاهک، عصاره متانلی، اسانس

مقدمه:

طب سنتی از مدت‌ها پیش در درمان بیماری‌ها جایگاه ویژه‌ای داشته است. امروزه نیز استفاده از گیاهان به دلیل وجود متابولیت‌های ثانویه و ترکیب‌های طبیعی مؤثر در آن‌ها برای تولید فرآورده‌های دارویی رو به افزایش است. یکی از کارهای مهمی که در زمینه گیاهان دارویی انجام می‌شود، بررسی فعالیت‌های ضدمیکروبی گیاهان است(۱).

در ۴۰ سال اخیر تلاش‌های گسترده‌ای برای تولید آنتی‌بیوتیک‌های جدید شده است. همچنین عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی از نظر فعالیت ضدمیکروبی بررسی شده‌اند. پژوهش‌ها در این زمینه نشان داده‌اند که اغلب اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهان خواص ضدباکتری، ضدقارچی و ضدویروسی دارند(۲).

در نیمه دوم قرن بیستم، طب سنتی در مراقبت‌های بهداشتی به دلیل توسعه مقاومت میکروبی به آنتی‌بیوتیک‌های شیمیایی و پتانسیل درمانی بالای گیاهان در درمان بیماری‌های عفونی و عوارض جانبی کمتر نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های سنتتیک(صناعی)، از سوی پژوهشگران پذیرش شد(۳).

امروزه اکثر داروهایی که به صورت شیمیایی در دسترس هستند، با الهام گرفتن از داروهای گیاهی اما به صورت مصنوعی در آزمایشگاه‌های داروسازی تهیه شده‌اند. طبق گزارش‌های انجام شده حدود نیم تا یک سوم از تمامی فرآورده‌های مصرف شده منشأ گیاهی دارند(۴).

علاوه بر موضوع مقاومت آنتی‌بیوتیکی که استفاده از گیاهان را به عنوان راهی برای دست‌یابی به آنتی‌بیوتیک‌های جدید مطرح کرده است، در صنایع غذایی

نویسنده مسئول: زهره زهرایی / رویا مهین پور
پست الکترونیک: *zahraei@kashanu.ac.ir*

Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir at 21:39 +0430 on Friday September 18th 2020

نیز به دلیل استفاده از نگه‌دارنده‌های شیمیایی و گرایش منفی به استفاده از این نگه‌دارنده‌ها، استفاده از گیاهان به عنوان طعم‌دهنده و عوامل ضدمیکروب برای نگه‌داری مواد غذایی مطرح شده است(۵).

فنل‌ها و فلاونوئیدها از جمله متابولیت‌های ثانویه و ترکیب‌های مهم گیاهی هستند که فعالیت ضداکسیدانی و برخی از ویژگی‌های درمانی گیاهان به وجود آن‌ها بستگی دارد. ترکیب‌های فنلی اثرهای ضدمیکروبی قابل توجهی نیز دارند(۶،۲).

اسانس‌های گیاهی اثر مهاری قابل‌توجهی بر میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا دارند. ترکیب‌های ضدمیکروبی گیاهی اثرهای کشندگی و بازدارندگی قابل‌ملاحظه‌ای در برابر عوامل بیماری‌زا از خود نشان داده‌اند(۷، ۸). از جمله مواد طبیعی دارای خاصیت ضدمیکروبی شامل ترکیب‌های فنلی، تانن، ۱،۸ سینئول، توجون، کامفر، تری ترپنوئید، کومارین و ... هستند که در قسمت‌های مختلف گیاهان نظیر ریشه، برگ، جوانه‌ها، نهال و پوست وجود دارند(۹، ۱۰).

تیره نعناع از بین گیاهان دارویی اهمیت فراوانی دارد. گونه‌های مفید این تیره برای درمان برخی از بیماری‌ها استفاده می‌شوند. مریم‌گلی گیاهی است علفی متعلق به تیره نعناعیان که اغلب در مناطق گرم و معتدل می‌روید. بیش از هزار سال پیش از مریم‌گلی به عنوان گیاه دارویی استفاده شده است. از جنس مریم‌گلی ۹۰۰ گونه در جهان وجود دارد. این گیاهان علفی، یک‌ساله یا چندساله بوده و برخی علف هرز مزارع هستند. ۱۷ گونه از این جنس، بومی ایران است. کلمه *Salvia* از واژه یونانی Salvere به معنای بهبود بخشیدن یا شفادهنده مشتق شده است که نشان‌دهنده کاربرد دارویی فراوان گونه‌های مختلف این جنس است(۱۱، ۱۲). مریم‌گلی در گذشته برای تقویت روان، بدن و افزایش طول عمر استفاده می‌شد. همچنین این گیاه در طب سنتی به عنوان ضدسم، ضدمیکروب، ضدتومور، ضداکسیدان، ضدرماتیسم و آسم، ضدالتهاب، ضددرد، کاهشدهنده فشارخون و قندخون، مسکن دردهای گوارشی و... استفاده می‌شود(۱۳،۱۲، ۱۴).

از آنجا که در گیاهان دارویی و معطر رشد و بیوسنتز متابولیت‌های فعال گیاه به شدت تحت تاثیر شرایط اکولوژیکی و محیطی است. بنابراین مطالعه حاضر با هدف تعیین و مقایسه خواص ضدمیکروبی اسانس‌ها و عصاره‌های متانلی شش نمونه گیاه دارویی از جنس مریم‌گلی از مناطق مختلف کاشان انجام شد. گونه‌های ذکر شده در این مناطق از نظر خواص ضدمیکروبی برای اولین بار بررسی شده‌اند.

روش بررسی:

با توجه به اهمیت جنس مریم‌گلی از نظر گیاهان دارویی و آثار زیستی متعدد و پراکنش خوبی که این جنس در شهرستان کاشان دارد و تنوع گونه‌های موجود و نبود مطالعه‌ای برای بررسی مقایسه‌ای آثار زیستی این گونه‌ها در این منطقه، این مطالعه ضروری به نظر می‌رسد. در این مطالعه چهارگونه از جنس مریم‌گلی از مناطق اطراف کاشان(اصفهان، ایران) در اردیبهشت و خرداد ۱۳۹۳ جمع‌آوری شد(جدول۱). پس از تهیه و شناسایی گیاهان با استفاده از فلور ایران و فلور ایرانیکا (۱۵، ۱۶)، نمونه‌ها در هرباریوم دانشگاه کاشان نگه‌داری و تایید شدند.

استخراج عصاره متانلی:

اندام‌های هوایی شامل برگ، سرشاخه‌های گل و ساقه‌های آن‌ها در شرایط مناسب در مجاورت هوا و در سایه خشک و پس از تمیز کردن گونه‌ها از هر گونه آلودگی، نمونه‌ها آسیاب شدند. استخراج عصاره با استفاده از ۲۰ گرم از پودر بخش‌های هوایی گیاه و ۳۰۰ میلی‌لیتر حلال متانل(مرک) به مدت هشت ساعت با دستگاه سوکسله(schott duran/Germany)انجام شد(۱۷). سپس با هدف تغلیظ عصاره حاصل، از دستگاه تبخیرکننده دوار(Buchi/Germany) در شرایط خلأ و دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد استفاده شد. عصاره تغلیظ‌شده برای خشک شدن کامل به مدت ۴۸ ساعت در آون قرار داده شد. سپس از عصاره حاصل برای انجام آزمایش‌های میکروبی استفاده شد.

استخراج اسانس:

در این پژوهش، نمونه‌ها پس از پودر شدن اندام هوایی گیاه، به روش تقطیر با آب اسانس‌گیری شدند. به این ترتیب که مقدار ۱۰۰ گرم از بخش‌های پودر شده در دستگاه کلونجر(ISOLAB/Germany) و بر اساس فارماکوپه بریتانیا به مدت چهار تا پنج ساعت اسانس‌گیری شد(۱۸). اسانس‌های حاصل به کمک سدیم سولفات بدون آب(مرک) خشک شدند. اسانس‌های حاصل تا زمان انجام آزمایش ضدمیکروبی در ظروف تیره رنگ، به دور از نور، درون فریزر نگه‌داری شدند.

مشخصات هرباریومی نمونه‌های جمع‌آوری شده

نمونه گیاهی	مکان جمع آوری	ارتفاع	شماره هرباریومی	زمان جمع‌آوری
Salvia syriaca L.	کاشان- ازناوه	۲۶۹۰ متر	UKH*247	اردیبهشت ۱۳۹۳
Salvia ceratophylla L.	کاشان- ازناوه	۲۶۹۰ متر	UKH246	اردیبهشت ۱۳۹۳
Salvia limbata C. A. Mey.	کاشان- قزاآن	۲۳۱۶ متر	UKH215	اردیبهشت ۱۳۹۳
Salvia limbata C. A. Mey.	کاشان- دره	۱۶۳۰ متر	UKH454	اردیبهشت ۱۳۹۳
Salvia reuterana Boiss.	کاشان- دره	۱۵۷۰ متر	UKH453	اردیبهشت ۱۳۹۳
Salvia reuterana Boiss.	کاشان- مرق	۲۰۵۶ متر	UKH700	خرداد ۱۳۹۳

*University of Kashan Herbarium

باکتری‌های بررسی شده:

انواع سویه‌های استفاده شده در این پژوهش، از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه و روی محیط نوترینت آگار کشت شدند. میکروارگانیسم‌های استفاده شده در این پژوهش سه نوع باکتری گرم مثبت شامل

Bacillus subtilis ATCC 6633

Staphylococcus aureus ATCC 29737

Staphylococcus epidermidis ATCC 12228

و پنج نوع باکتری گرم منفی شامل:

Shigella dysenteriae PTCC 1188

Klebsiella pneumonia ATCC 10031

Proteus vulgaris PTCC 1182

Salmonella paratyphi-A serotype ATCC 5702

Escherchia coli ATCC 10536

یک سویه مخمر به نام

Candida albicans ATCC 10231

و یک گونه قارچ به نام

Aspergillus niger ATCC 16404

تعیین قطر هاله عدم رشد با استفاده از روش چاهک‌گذاری:

در این پژوهش، اثر ضدمیکروبی عصاره متانلی بر اساس دستورالعمل‌های استاندارد آزمایشگاهی CLSI برای تعیین حساسیت میکروبی به روش انتشار در آگار از نوع چاهک‌گذاری بررسی شد. به این ترتیب که به‌وسیله پیپت پاستور چاهک‌هایی

Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir at 21:39 +0430 on Friday September 18th 2020

جدول ۲. نتایج قطر هاله عدم رشد (بر حسب میلی‌متر) عصاره‌های متانلی (میانگین ±انحراف معیار)

سوش میکروبی / عصاره	*B.subtilis*	*S. epidermidis*	*S. aureus*	*C. albicans*
S.limbata 454	۱۲ ±۲	۱۴ ±۰/۵	۱۰/۳ ±۰/۵	–
S.reuterana 453	۱۱ ±۱	۱۲/۶۶±۱/۵	۱۰ ±۱	۱۰/۳±۰/۵
S.reuterana 700	۱۳ ± ۱	۱۲±۱	۱۲/۶±۱/۱۵	–
S.ceratophylla 246	۱۲/۶۶±۱/۵	۲۲/۳۳±۱/۵۲	۱۷/۶۶±۰/۵	–
S.syriaca 247	۲±۱۲	۱۰/۳ ±۰/۵	۱۱/۳ ±۱/۵	–

منظم از هم و فاصله مناسب از دیواره پلیت به قطر تقریبی شش میلی‌متر ایجاد شد و سپس از سوسپانسیون میکروبی استاندارد ۰/۵مک فارلند هر سویه به طور جداگانه روی محیط مولرهینتون آگار و دکستروزآگار، به روش کشت چمنی، کشت داده شد. اسانس‌ها و عصاره‌های متانلی هر نمونه گیاهی با غلظت ۳۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تهیه و از هر کدام از محلول‌های آماده شده حدود ۱۰ میکرولیتر در چاهک‌ها تلقیح شد. سپس به مدت ۲۴ ساعت پلیت‌ها در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد برای باکتری و به مدت ۴۸ و۷۲ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد برای *C.albicans* و *A. niger* قرار گرفت. از دی‌متیل‌سولفوکسید (مرک)به عنوان کنترل منفی استفاده شد. از آنتی‌بیوتیک جنتامایسین و ریفامپین برای باکتری‌ها و نیستاتین برای قارچ‌ها برای مقایسه قدرت مهارکنندگی آن‌ها با عصاره متانلی استفاده شد. در نهایت فعالیت ضدمیکروبی عصاره با اندازه‌گیری دقیق هاله عدم رشد تعیین شد. برای هر سویه این آزمایش سه بار تکرار و نتایج به

جدول ۳. نتایج حداقل غلظت مهارکنندگی رشد و حداقل غلظت کشندگی عصاره‌های متانلی (میکروگرم بر میلی‌لیتر)

سوش میکروبی / عصاره	*B. subtilis*		*S. epidermidis*		*S. aureus*		C. albicans	
	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC**	MBC*
S.limbata 454	۲۵۰	۱۰۰۰	۱۲۵	۵۰۰	۲۵۰	<۲۰۰۰	–	–
S.reuterana 453	۱۲۵	۲۵۰	۲۵۰	۱۰۰۰	۱۲۵	۱۰۰۰	۵۰۰	<۲۰۰۰
S.reuterana 700	۱۲۵	۱۰۰۰	–	–	۲۵۰	۲۰۰۰	–	–
S.ceratophylla 246	۲۵۰	۱۰۰۰	۱۲۵	۲۵۰	۱۲۵	۲۰۰۰	–	–
S.syriaca 247	۲۵۰	۵۰۰	۲۵۰	۵۰۰	۱۲۵	<۲۰۰۰	–	–

*حداقل غلظت کشندگی

** حداقل غلظت مهارکنندگی رشد

در محیط کشت مولرهینتون آگار(مرک)و سابوراد دکستروز آگار(مرک)با فاصله

جدول ۴. نتایج قطر هاله عدم رشد (بر حسب میلی‌متر) اسانس‌ها (میانگین ± انحراف معیار)

سوش میکروبی / اسانس	*B. subtilis*	*S. epidermidis*	*S. aureus*	*C. albicans*
S.limbata 215	۱۲ ±۰/۵۷	–	–	–
S.limbata 454	–	–	۱۰/۶ ±۰/۵	۱۴/۳ ±۰/۵
S.reuterana 453	۱۲ ±۰/۵۷	۱۱±۱	–	–
S.reuterana 700	۱۱±۱	–	۱۰/۶ ±۰/۵۷	–
S.ceratophylla 246	–	۱۰/۶ ±۰/۵۷	–	–
S.syriaca 247	–	۱۲±۱	۱۱ ±۰/۵	–

صورت میانگین ± انحراف معیار محاسبه شد.

تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی رشد:

حداقل غلظت مهارکنندگی رشد برای میکروارگانیسم‌های حساس به عصاره‌ها و اسانس‌ها با روش رقیق‌سازی میکرو محاسبه شد(۱۹). غلظت اولیه دو میلی‌گرم برمیلی‌لیتر انتخاب شد. سپس رقت‌های ۳۱/۲۵، ۶۲/۵، ۱۲۵،۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ میکروگرم برمیلی‌لیتر از غلظت اولیه تهیه شد. سپس میکروپلیت‌های ۹۶ خانه‌ای استریل تهیه شد. به هر یک از چاهک‌های این میکروپلیت، ۹۵ میکرولیتر محیط کشت(TSB) Tryptic Soy Broth، ۵ میکرولیتر سوسپانسیون باکتریائی با رقت ۰/۵ مک‌فارلند و ۱۰۰ میکرولیتر از رقت‌های گوناگون عصاره افزوده شد. در ردیف شاهد نیز ۱۹۵ میکرولیتر محیط کشتTSB و ۵ میکرولیتر سوسپانسیون باکتریائی با رقت ۰/۵ مک‌فارلند افزوده شد. سپس میکروپلیت به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. با توجه به کدورت ایجاد شده در اثر رشد باکتری در چاهک‌های میکروپلیت، حداقل غلظت مهارکنندگی رشد (MIC) تعیین شد.

تعیین حداقل غلظت کشندگی باکتریایی:

برای تعیین حداقل غلظت کشندگی باکتریایی، پنج میکرولیتر از محتویات چاهک‌هایی که باکتری در آن‌ها رشد نکرده بود (غلظت اولیه تا MIC)، به محیط نوترینت آگار تلقیح شد و به

Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir at 21:39 +0430 on Friday September 18th 2020

جدول ۵. نتایج حداقل غلظت مهارکنندگی رشد و حداقل غلظت کشندگی اسانس‌ها (میکروگرم بر میلی‌لیتر)

سوش میکروبی / اسانس	*B. subtilis*		*S. epidermidis*		*S. aureus*		*C. albicans*	
	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC**	MBC*
S.limbata 215	۶۲/۵	۵۰۰	–	–	–	–	–	–
S.limbata 454	–	–	–	–	۲۵۰	۱۰۰۰	۲۵۰	<۲۰۰۰
S.reuterana 453	۱۲۵	۲۵۰	۲۵۰	۱۰۰۰	–	–	–	–
S.reuterana 700	۱۲۵	۱۲۵	–	–	۱۲۵	۱۲۵	–	–
S.ceratophylla 246	–	–	۵۰۰	۱۰۰۰	–	–	–	–
S.syriaca 247	۱۲۵	۲۰۰۰	–	–	۲۵۰	۲۰۰۰	–	–

*حداقل غلظت کشندگی

** حداقل غلظت مهارکنندگی رشد

جدول ۶. نتایج آنتی‌بیوگرام شاهدهای آنتی‌بیوتیکی روی سوش‌های میکروبی

*هاله عدم رشد

سوش میکروبی / آنتیبیوتیک	*B. subtilis*		*S. epidermidis*		*S. aureus*		*C. albicans*	
	MIC	IZ	MIC	IZ	MIC	IZ	MIC	IZ*
جنتامایسین	۵۰۰	۲۳/۶ ±۲/۳	۵۰۰	۳۴/۳ ±۰/۵	۵۰۰	۲۰/۳ ±۰/۵	–	–
ریفامپین	۱۵/۶	۱۲/۳ ±۰/۵	۲۵۰	۴۱/۶ ±۰/۵	۲۵۰	۳۰ ±۱	–	–
نیستاتین	–	–	–	–	–	–	۱۲۵	۳۳ ±۰/۵

مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در معرض گرما قرار داده شد.

یافته‌ها:

نتایج ارزیابی خواص ضدمیکروبی گونه‌های حاضر در مطالعه نشان داد که اسانس و عصاره متانلی اندام هوایی این گونه‌ها بر باکتری‌های گرم مثبت ، *B. subtilis*) *S. aureus S. epidermidis*) اثر ضدمیکروبی دارند. در این بررسی هاله عدم رشد برای عصاره‌های متانلی بین۱۰ تا ۲۲/۳۳ میلی‌متر و حداقل غلظت مهارکنندگی رشد بین ۱۲۵تا۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود (جدول۲) و (جدول ۳). در همین شرایط برای اسانس‌ها نیز هاله عدم رشد بین ۱۰تا ۱۲ میلی‌متر و حداقل غلظت مهارکنندگی رشد بین ۶۲/۵ تا۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر مشخص شد(جدول۴و ۵). در ضمن عصاره *S. reuterana* و اسانس *S. limbata* از دره بر *C. albicans* نیز اثر داشته و هاله عدم رشد به ترتیب ۱۰ و ۱۵ میلی‌متر وحداقل غلظت مهارکنندگی رشد ۵۰۰ و ۲۵۰ میکروگرم برمیلی‌لیتر را ایجاد کردند. عصاره *S. ceratophylla* بیشترین حساسیت ضدمیکروبی را نسبت به سایر گونه‌ها از نظر هاله عدم رشد نشان داد. در حالی که اسانس این گونه فعالیت ضدمیکروبی کمتری داشت.

بحث:

اسانس‌ها و عصاره‌های متانلی این نمونه‌های گیاهی بر باکتری‌های گرم مثبت *S. aureus* ، *S. epidermidis* و *B. subtilis* اثر ضدمیکروبی نشان دادند. در ضمن عصاره S. reuterana و اسانس *S. limbata* از دره نیز به ترتیب باعث مهار رشد *C. albicans* شدند. نتایج به دست آمده در این پژوهش نشان می‌دهد که عصاره‌ها و اسانس‌ها در این مطالعه هیچ‌گونه فعالیت ضدمیکروبی در این غلظت به باکتری‌های گرم منفی نشان ندادند.

به نظر می‌رسد عصاره‌ها اثر ضدمیکروبی بیشتری در مقایسه با اسانس ها دارند. در ضمن با توجه به نتایج به‌دست آمده از آنتی‌بیوتیک‌ها (جدول ۶) فعالیت ضدمیکروبی عصاره‌ها و اسانس‌ها متوسط تا خوب ارزیابی می‌شود.

اثر ضدمیکروبی اسانس‌ها و عصاره‌های مختلف گیاهان دارویی بر میکروارگانیسم‌های متفاوت در مناطق مختلف گزارش شده است. در بررسی منابع این اثر ضدمیکروبی را به فنلیک اسید، پلی‌فنل‌ها، فلاونوئیدها و ترپنوئیدهای گیاهان مختلف نسبت داده‌اند. تعداد گروه‌های هیدروکسیل و محل آن‌ها روی حلقه فنلی از دلایل ایجاد اثر ضدمیکروبی است که ارتباط مستقیمی بین تعداد گروه هیدروکسیل و سمیت آن روی میکروارگانیسم‌ها دارد. فلاونوئیدها و فلاونول‌ها نیز با ساختار فنلی خود اثر ضدمیکروبی دارند. اثر ضد-میکروبی آن‌ها به‌نظر می‌رسد به دلیل ترکیب پروتئین خارج سلولی، تشکیل کمپلکس با دیواره سلولی و ایجاد اختلال در غشای سلول میکروارگانیسم‌ها باشد(۶،۲۰).

اسماعیلی و همکاران در سال ۲۰۰۸ فعالیت ضدباکتریایی اسانس برگ، ساقه و گل گیاه *S. reuterana* را روی هفت سویه میکروبی بررسی کردند. بر اساس نتایج به دست آمده، اسانس اندام یاد شده روی تمام باکتری‌های مطالعه شده، اثر مثبت دارد که به ترتیب هاله عدم رشد برابر ۱۶تا ۴۷، ۱۳تا ۲۸ و ۱۳تا۲۲ میلی‌متر ایجاد کردند(۲۱) در حالی که در پژوهش ما اسانس و عصاره اندام هوایی S. reuterana تنها بر باکتری‌های گرم مثبت اثر داشته و هاله عدم رشد برابر۱۰تا۱۲ و ۱۰تا۱۳ ایجاد کردند. در پژوهشی دیگر که سال ۲۰۱۰ در ترکیه انجام شد، اسانس S. syriaca بر تمام میکروارگانیسم‌های مطالعه شده، اثر ضد باکتری و ضد قارچی داشته و هاله عدم رشد بین ۱۰تا ۱۲ میلی‌متر ایجاد کرده است. همچنین گیاه S. *ceratophylla* بر سه سویه باکتری *S. aureus*، *E. coli* و *B. subtilis* اثر داشته و هاله عدم رشد برابر۱۲تا۱۶میلی‌متر ایجاد کرده است(۲۲) در پژوهش حاضر نیز

Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir at 21:39 +0430 on Friday September 18th 2020

اسانس و عصاره *S. syriaca* بر دو سویه باکتری *S. aureus* و *B. subtilis* اثر ضدمیکروبی نشان داد و همچنین عصاره *S. ceratophylla* بر این دو سویه ذکر شده اثر داشته و هاله عدم رشد برابر ۱۲تا۱۷ ایجاد کرده است، در حالی که اسانس این گونه هیچ اثری روی این دو سویه ایجاد نکرده است. در مطالعه امید فیروزی و همکاران، فعالیت ضدباکتری عصاره متانلی چند گونه از جنس مریم گلی روی شش سویه باکتری گرم مثبت و منفی بررسی شد. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که تمام باکتری‌های آزمایش شده به گونه *S. limbata* حساس بودند و حداقل غلظت مهارکنندگی رشد بین ۱/۲۵–۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر را نشان دادند. همچنین در همین پژوهش S. syriaca نیز بر سه سوش باکتری اثر داشته و حداقل غلظت مهارکنندگی رشد بین ۱/۲۵تا ۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر را نشان داده است(۲۳). در پژوهشی در سال ۲۰۰۸، صالحی و همکاران اثر ضدمیکروبی *S. limbata* از دو منطقه تکاب و مشهد اردهال را بررسی کردند. این گونه بر باکتری‌های گرم مثبت و برخی از باکتری‌های گرم منفی و *C. albicans* فعالیت ضدمیکروبی نشان داد و هاله عدم رشد در نمونه تکاب بین ۸ تا ۱۵ و در نمونه مشهد اردهال بین ۸ تا ۱۳میلی‌متر ایجاد کردند. همچنین در این پژوهش برخی از ترکیب‌های اسانس *S. limbata* شامل ۱و۸ سینئول، آلفا و بتا پینن را بررسی کردند، براساس نتایج به دست آمده، هاله عدم رشد بین ۸تا۲۵ میلی‌متر ایجاد شد که از این میان ترکیب ۱و۸ سینئول اثر ضد میکروبی بالاتری را نسبت به دو ترکیب دیگر نشان داد در حالی که عصاره‌ها و اسانس‌ها در پژوهش ما هیچ‌گونه فعالیت ضدمیکروبی به باکتری‌های گرم منفی نشان ندادند(۲۴). براساس پژوهشی در سال ۲۰۱۰، اسانس یک گونه از جنس *Salvia L*. روی باکتری‌های گرم مثبت آثار بهتری نشان داد که به نظر می‌رسد به دلیل وجود ترکیب ۱و۸ سینئول در اسانس این گونه باشد. در مطالعه ما نیز عصاره و اسانس مریم‌گلی بر باکتری‌های گرم منفی اثر نداشته و روی باکتری‌های گرم مثبت اثر بهتری نشان داد(۲۵). شهلا نجفی و همکاران در سال ۲۰۱۶ اثر ضدمیکروبی عصاره بخش‌های هوایی شش گونه گیاه مریم‌گلی را بررسی کردند. در این مطالعه سه گونه *S. macrosiphon*، *S. chloroleuca* و *S. ceratophylla*. بیشترین فعالیت ضدمیکروبی را روی باکتری‌های گرم مثبت و منفی نشان دادند. در ضمن در این مطالعه عصاره متانلی این گونه‌ها روی باکتری‌های گرم مثبت اثر بهتری را نشان داد که از این نظر همسو با مطالعه حاضر است(۲۶). بر اساس مطالعه‌ای دیگر در سال ۲۰۰۹ تاثیر شرایط جغرافیایی و ارتفاع محل کشت می‌تواند بر نوع ترکیب‌های موجود در گیاه و میزان آن‌ها تاثیرگذار باشند که با توجه به تنوع اثر ضدمیکروبی گونه‌های مختلف در این پژوهش، مطالعه ما همسو با نتایج این محققان بوده است(۲۷).

با توجه به مطالعه‌های گذشته و یافته‌های این پژوهش مشخص شد که اسانس‌ها و عصاره‌های گونه‌های مطالعه شده که در برخی نقاط متفاوت دیگر بررسی شده، می‌تواند بر باکتری‌های گرم مثبت و برخی از باکتری‌های گرم منفی و *C. albicans* اثر ضدمیکروبی نشان دهد و هاله عدم رشد ایجاد کند. در حالی که نتایج به دست آمده در این پژوهش نشان می‌دهد که عصاره‌ها و اسانس‌ها در این مطالعه بر باکتری‌های گرم مثبت و *C. albicans* اثر دارند و هیچ‌گونه فعالیت ضدمیکروبی در این غلظت به باکتری‌های گرم منفی نشان ندادند. این تفاوت می‌تواند به دلیل روش‌های مختلف در نوع استخراج، عوامل ژنتیکی، عوامل فصلی و محیطی در هنگام برداشت نمونه و... باشد. به نظر می‌رسد با توجه به خواص ضدمیکروبی برخی از عصاره‌ها و اسانس‌ها که در این مطالعه مشاهده شد، می‌توان از آن‌ها پس از مطالعه‌های تکمیلی گسترده‌تر به عنوان جایگزین داروهای ضدمیکروبی استفاده کرد.

تشکر و قدردانی:

از تمامی همکارانی که در این پژوهش ما را یاری کردند کمال تشکر و قدردانی را داریم.

منابع:

1. Semnani KM, Saeedi M, Mahdavi MR, Rahimi F. Study and comparison of the antimicrobial activity of methanolic extracts of several species of Stachys and Phlomis. J.MUMS 2007; 57: 57-66.

2. Kordali S, Kotan R, Mavi A, CakirA, Ala A, Yildirim A. Determination of the chemical composition and antioxidant activity of the essential oil of Artemisia dracunculus and of the antifungal and antibacterial activities of Turkish Artemisia absinthium, A. dracunculus, Artemisia santonicum, and Artemisia spicigera essential oils. J. Agric Food Chem. 2005; 53(24): 9452-9458.

3. Sadeghi-Nejad and B, Azish M. In vitro antibacterial and antifungal effect of some medicinal plants. Afr. J. Microbiol. Res. 2013; 7(29) 3802-3806.

4. Clark AM. Natural products as a resource for new drugs. Pharm Res. 1996; 13:1133-44.

5. Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods -a review. Int. J. Food. Microbiol. 2004; 94: 223-253.

6. Sharafati-chaleshtori R, Sharafati-chaleshtori F, Sharafati-chaleshtori A, Ashrafi K. Antimicrobial effects and evaluation of total phenols,flavonoids and flavonols contents of ethanolic extracts of Scrophularia striata. JSKUMS 2010; 11(4): 32-37. (Full Text in Persian)

7. Polatoglu K, Demirci F, Demirci B, Husnu Can Baser k. Antibacterial Activity and the Variation of Tanacetum parthenium (L.) Schultz Bip. Essential Oils from Turkey. J Oleo Sci. 2010; 59(4): 177-184.

8. Marilena C, Bersani C, Comi G. Impedance measurements to study the antimicrobial activity of essential oils from Lamiaceae and Compositae. Int J Food Microbiol. 2001; 67(3): 187-195.

9. Alkan FU, Gursel FE, Ates A, Ozyurek M, Guclu K. Protective effects of Salvia officinalis extract against cyclophosphamideinduced genotoxicity and oxidative stress in rats. Turk J Veterin Ani Sci.2012;36(6):646-654.

10. Abd-Almageed MA, Hussein BA. Cytotoxicity and antimicrobial activity of Salvia officinalis L. flowers. Sudan JMS. 2008; 3(2): 127-132.

11. Cardile V, Russo A, Formisano C, Rigano D, Senatore, F, Arnold N. A, et al. Essential oils of Salvia bracteata and Salvia rubifolia from Lebanon: Chemical composition, antimicrobial activity and inhibitory effect on human melanoma cells. J Ethnopharmacol. 2009; 126(2): 265-272.

12. Ebrahimabadi AH, Mazoochi A, Kashi FJ, Djafari-Bidgoli Z, Batooli H. Essential oil composition and antioxidant and antimicrobial properties of the aerial parts of Salvia eremophila Boiss. from Iran. Food Chem Toxicol. 2010; 48(5): 1371-1376.

13. Da H, Jie Gu X, Gen Xiao P. Phytochemical and biological research of Salvia medicinal resources. Medicinal plants. 2015; 14: 587-639.

Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir at 21:39 +0430 on Friday September 18th 2020

14. Dentali S, Hoffmann J. Potential antiinfective agents from Eriodictyon angustifolium and Salvia apiana. J Pharmacogn Nat Prod. 1992; 30(3): 223-231.

15. Jamzad Z. Lamaiceae. In: Assadi M, Maassoumi A, Mozaffarian V, editors. Flora of Iran. Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran: 2012. Vol. 76. (in Persian).

16. Rechinger KH, Hedge IC, Ietswaart JH, Jalas J, Mennema, J, Seybold S, editors. Labiatae. In: Rechinger KH, (ed.). Flora Iranica. 1982. Vol. 150. Akademische Druck- u. Verlagsanstalt. Graz.

17. Sokmen A, Jones B. M, Erturk M, The in vitro antibacterial activity of Turkish medicinal plants. J Ethnopharmacol. 1999; 67(1): 79-86.

18. 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. JEOR. 2004;16(3): 262-265.

19. Gulluce M, Sokmen M, Sahin F, Sokmen A, Adiguzel A, Ozer H. Biological activities of the essential oil and methanolic extract of Micromeria fruticosa (L) Druce ssp serpyllifolia (Bieb) PH Davis plants from the eastern Anatolia region of Turkey. Journal of the Science of Food and Agriculture. 2004; 84(7): 735-741.

20. Jassbi AR, Zare S, Firuzi OR, Xiao J. Bioactive phytochemicals from shoots and roots of Salvia species. Phytochemistry. 2016; 15(5):829-867.

21. Esmaeili A, Rustaiyan A, Nadimi M, Larujani K, Nadjafi F, Tabrizi L, et al. Chemical composition and antibacterial activity of essential oils from leaves, stems, and flowers of Salvia reuterana grown in Iran. Chem Nat Compd. 2008; 44(3): 393-395.

22. Karataş H, Ertekin S. Antimicrobial activities of the essential oils of four Salvia species from Turkey J Med Plant Res. 2010; 4(12): 1238-1240.

23. Firuzi O, Miri R, Asadollahi M, Eslami S, Jassbi AR. Cytotoxic, Antioxidant and Antimicrobial Activities and Phenolic Contents of Eleven Salvia Species from Iran. IJPR. 2013; 4: 801-810.

24. Salehi P, Sonboli A, Dayeni M and Yousefzadi FM. Chemical composition of essential oils of salvia limbata from two different regions in iran and their biological activites. Chem Nat Compd. 2008; 44(1):102-105.

25. Kazemizadeh Z, Yousefzadi M, Ashabi MA, HeidariRikan M. Chemical composition and antibacterial properties of the essential oils in Salvia macrochlamys Boiss. and Kotschy from Wes Azerbaijan. J. Med. Plants. 2010; 1: 75-81.

26. Najafi Sh, Mir N, Shafeghat M. Antioxidant and Antibacterial Activities of Six Medicinally Important Species of the Genus Salvia from North East of Iran. J. Genet Resour. 2016; 2(1):41-47.

27. Azizi M, Davareenejad G, Bos R, Woerdenbag HJ, Kayser O. Essential oil content and consituents of black zira (Bunium persicum [Boiss.] B. Fedtsch.) from Iran during feld cultivation (domesication). J. Essen. Oil Res. 2009; 21(1):78-82.