



## مطالعه فیتوشیمیایی عصاره گیاه دارویی نسترن کوهی (*Rosa Canina* L.) جمع آوری شده از منطقه رویشی مشکین شهر و تاثیر آنتی باکتریال آن بر روی باکتری‌های شایع دهان و دندان

حجت اقبال \*

گروه فیتوشیمی، مرکز تحقیقات علوم پایه، دانشگاه تبریز، ایران.

Email: hojat.eg@gmail.com

مهدی احمدی سابق

گروه شیمی، واحد اهر، دانشگاه آزاد اسلامی، اهر، ایران

### چکیده

اخیراً با توجه به مقاومت روزافزون میکروارگانیسم‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های رایج، استفاده از ترکیبات فنولی و ضد میکروبی موجود در گیاهان دارویی مورد توجه خاصی قرار گرفته است. کشف گیاهان با اثرات ضد باکتریایی قوی و استفاده از آن‌ها به عنوان دهانشویه، عوارض نامطلوب ترکیبات شیمیایی را کاهش داده و مقرون به صرفه می‌باشد. بررسی‌ها نشان می‌دهند که گیاهان دارویی می‌توانند با اطمینان و به‌طور موفقیت آمیز در درمان بیماری‌های باکتریایی بدون بروز اثرات مضر و مقاومت‌های دارویی به کار برده شوند به همین منظور با توجه به مطالعات انجام شده و مرور منابع و جستجو در پایگاه‌های اینترنتی تا کنون مطالعه‌ای با هدف بررسی فیتوشیمیایی عصاره گیاه دارویی نسترن کوهی (*Rosa Canina* L.) جمع آوری شده از مناطق رویشی مشکین شهر و اثرات ضد میکروبی آن‌ها بر روی برخی از باکتری‌های شایع دهان و دندان انجام نشده است. در این تحقیق نمونه مربوط به گیاه دارویی نسترن کوهی با استفاده از منابع موجود، در بهار و تابستان سال ۱۴۰۰ از مناطق مختلف در شمال غربی ایران و در رویشگاه‌های طبیعی در شهرستان مشکین شهر انجام و سپس جمع آوری و به کمک متخصصین گیاه شناسی بخش تحقیقات گیاهان دارویی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اردبیل با استناد به نمونه هر بار یومی مطابقت و شناسایی شد. هنگام جمع آوری نمونه‌ها تمام مشخصات محل به صورت دقیق تعیین و ثبت شد. برداشت نمونه‌ها در یک فاصله زمانی بسیار کوتاه در بین ساعات ۱۲ الی ۱۵ در اوج تابش خورشید به دلیل وجود بیشترین ماده موثره انجام شد. اندام‌های مورد نظر گیاه که شامل میوه است از گیاه جدا و در پاکت‌های مخصوص قرار داده و به محل خشک شدن انتقال یافت. سپس جداسازی و پاک‌سازی شد. عمل خشک کردن بلافاصله به روش خشک کردن در سایه و در دمای ۲۰ الی ۲۸ درجه سلسیوس اتاق انجام گرفت و سپس در جای خشک و خنک نگهداری شد، و موقع استحصال ماده موثره با خرد کن (CG1۰۰) خرد، و تا زمان انجام سایر آزمایش‌ها در آزمایشگاه بخش تحقیق و توسعه موسسه دانش بنیان پژوهشگران داروی سبز در بطری‌های شیشه‌ای درب بسته نگهداری شد. عصاره گیاهان نسترن کوهی به روش ماسراسیون استخراج و ترکیبات فنلی آنها توسط دستگاه HPLC شناسایی شد، اثر ضد میکروبی عصاره در غلظت‌های (۲۵، ۵۰، ۱۰۰  $\mu\text{g/ml}$ ) مورد بررسی قرار گرفت. این باکتری‌ها شامل میکروب‌ها و قارچ‌های شایع، از جمله استرپتوکوکوس موتانس، استرپتوکوکوس سانگویس، استرپتوکوکوس سالیواریس، استرپتوکوکوس سوبریوس، اشرشیاکلی، ایکنلا کوردنس، سودوموناس آنروژینوزا و کلبسیلا پنومونیه بود. جهت بررسی فعالیت ضد میکروبی عصاره‌ها از روش دیسک دیفیوژن و MIC استفاده شد. آنالیز آماری داده‌ها با نرم افزار SPSS و T-test و رسم نمودارها از نرم افزار Excel 2007 انجام گرفت. در بررسی اثر هر یک عصاره‌ها بر روی باکتری‌ها، مشخص گردید که گیاه دارویی نسترن کوهی نیز کمترین تاثیر مهاری را علیه باکتری کلبسیلا پنومونیه و بیشترین اثر مهاری را بر روی قارچ کاندیدا گلابراتا دارا می‌باشد. نتایج حاصل از آزمون MIC نیز تایید کننده این اثرات می‌باشد. با توجه به نتایج فیتوشیمیایی حاصل از عصاره این تحقیق می‌توان بیان نمود که گیاه دارویی مورد مطالعه دارای ترکیبات فنلی آنتی باکتریال می‌باشد. لذا نتایج حاصل از تحقیق نشان داد که عصاره گیاه دارویی نسترن کوهی دارای خاصیت ضد میکروبی مناسب علیه باکتری‌های عامل عفونت دهان و دندان می‌باشد، بنابراین می‌توان داروی گیاهی حاضر را به عنوان جایگزینی برای داروهای استاندارد کلرهگزیدین و نیستاتین بیان نمود.

**کلیدواژه:** فیتوشیمیایی، گیاهان دارویی، نسترن کوهی، HPLC، آنتی باکتریال، دهان و دندان.

## مقدمه

گیاهان دارویی به آن گروه از گیاهان گفته می‌شود که برای مصارف پزشکی، درمانی، بالینی و داروسازی انسان مورد استفاده قرار می‌گیرند و اندام‌های آن‌ها دارای ترکیبات اثر-بخش دارویی است [۱]. گیاهان به‌عنوان موجودات زنده، متابولیت‌های ثانویه را به‌عنوان ابزار سازگاری به شرایط و پدیده‌های مختلف اکولوژیکی پیرامون خود جهت حفظ خود و نسل‌های آینده تولید می‌نماید. به همین دلیل زمانی که گیاه تحت شرایط اکولوژیکی مختلف قرار می‌گیرد کمیت و کیفیت متابولیت‌های ثانویه خود را جهت سازگاری به این شرایط تغییر می‌دهد. بنابراین جمعیت‌های یک گونه دارویی که در شرایط اکولوژیکی مختلف رویش یافته‌اند از نظر کمیت و کیفیت مواد موثره تیپ‌های متفاوت و متنوعی را تشکیل می‌دهند که البته این تنوع منجر به تفاوت در دامنه فعالیت دارویی و بیولوژیک نیز می‌شود. انعطاف‌پذیری ژنتیکی جمعیت‌های گیاهی بروز این تنوع را امکان‌پذیر ساخته به تدریج تحت تاثیر نیروی تکامل، در مناطق جغرافیایی مختلف جمعیت‌هایی از یک گونه به‌وجود می‌آیند که از نظر فعالیت‌های نموی، فیزیولوژیکی، شیمیایی، بوتانیکی و نهایتاً فارماکولوژیکی از یکدیگر متمایزند. زمانی که گیاه در ابتدا با یک شرایط محیطی خاص روبرو می‌شود، تغییراتی در رفتار فیزیولوژیکی گیاه در جهت سازگاری به محیط جدید ایجاد می‌شود که این تغییرات معمولاً ناپایدارند ولی اگر شرایط محیطی مذکور در محل رویش گیاه پایدار شود، نسل‌های بعدی در جهت سازگاری به محیط جدید انتخاب می‌شوند و این سازگاری به تدریج به صفات موروثی و قابل انتقال به نتاج تبدیل می‌شود [۲-۳].

حفره دهان فضایی است غیر منظم و تا حدودی بیضی شکل که اولین توقفگاه مواد غذایی در بدن به شمار می‌رود و از اجزاء مختلفی تشکیل شده است. پس از جویدن غذا مقداری از آن در دهان و بین دندان‌ها و حد فاصل میان دندان‌ها ولته قرار می‌گیرد. از آنجا که این مواد غذایی مورد استفاده فلور نرمال دهان قرار می‌گیرد باعث رشد میکروارگانیسم‌های

دهان و تشکیل بیوفیلم‌های باکتریایی بر روی سطح و ریشه دندان‌ها می‌شود و در نهایت پوسیدگی دندان‌ها، بیماری پرودنتال را ایجاد می‌نماید. بحث پیرامون اکوسیستم دهان و میکرو اورگانسیم‌هایی که از دهان و بافت‌های احاطه‌کننده آن جدا می‌شود و همچنین اینتراکشن‌هایی که بین آن‌ها وجود دارد را اکولوژی میکروبی دهان می‌گویند. در صورتی که عامل عفونت‌های، دندان و بافت‌های احاطه‌کننده دهان مورد نظر باشد میکروبی شناسی پزشکی دهان هم مطرح می‌شود. عفونت‌های دهان و دندان مانند پوسیدگی دندان و بیماری‌های بافت‌های دور دندان می‌توانند باعث ایجاد عفونت‌های متمرکز و سیستمیک مانند اندوکاردیت و غیره شوند [۴]. فلور نرمال دهان انسان بسیار پیچیده است و شامل بیش از ۲۰۰ گونه باکتری می‌باشد. ترکیب فلور دهان ممکن است تحت تاثیر عوامل مختلفی از جمله بهداشت دهان، ژنتیک، سن، جنس، استرس و رژیم غذایی فرد قرار بگیرد. در هنگام تولد، غشای مخاطی دهان و حلق اغلب استریل است اما با عبور از مجرای زایمان ۴ تا ۱۲ ساعت بعد از تولد آلوده می‌شود. با رشد دندان‌ها ممکن است شرایط برای رشد میکروارگانیسم‌ها مناسب شود. باکتری، قارچ، ویروس، مایکوپلاسما، پروتوزوا. بیش از ۲۰۰ گونه باکتری از فلور دهان جدا شده است، با این حال فلور دائمی دهان از ۲۰ نوع باکتری تشکیل شده است. فلور میکروبی دهان شامل کوکسی‌های گرم مثبت، کوکسی‌های گرم منفی، باکتری‌های گرم مثبت، باکتری-های گرم منفی می‌باشد. فلور دهان در میزبان به دو صورت مفید و مخرب است [۵]. حدود ۵۰۰ گونه میکروبی در دهان وجود دارد که برخی از آن‌ها عامل بیماری عفونی دهان هستند. کاهش میکروبی‌های بیماری‌زای دهان در بهبود زخم‌ها و عفونت‌های دهان بسیار مهم هست. دو بیماری عمده محیط دهان، پوسیدگی دندان و بیماری‌های لثه می‌باشند که در اثر تجمع میکروارگانیسم‌ها و تشکیل پلاک میکروبی ایجاد می‌شوند. بنابراین اقدام لازم در جهت کاهش یا عدم تجمع پلاک میکروبی می‌تواند به کنترل این

(۴۵) میلی‌متر، تخم‌مرغی یا بیضی، به‌ندرت واژتخم‌مرغی، با انتهای تیز یا نوک‌دار در قاعده کنجی یا مدور، دارای یک ردیف دندان در حاشیه، بدون کرک یا کم‌وبیش کرک‌پوش و کرک‌دار، به‌رنگ سبز مات و غده‌پوش در سطح زیرین یا در هر دو سطح، گوشوارک باریک است. گل‌ها صورتیف صورتی فام، یا متمایل به سفید، با قطری برابر با ۳/۵ (۴/۵) سانتی‌متر، منفرد، یا مجتمع در گل آذین دیهیم، دم‌گل کمی طویل‌تر و یا تقریباً هم‌قد با بخش زیرین کاسه، کاسه بدون کرک یا دارای غده‌های پایک‌دار، گاهی کرک‌دار، کاس-برگ‌ها دارای تقسیمات شانه‌ای در حاشیه، خامه بدون کرک یا کرک‌دار، میوه مدور و گویچه‌ای، در هنگام رسیدن قرمز رنگ می‌باشد. موسم گل‌دهی گیاه در ماه‌های اردیبهشت تا خردادماه می‌باشد [۴]. گیاه نسترن به‌طور خودرو در مناطق خشک روی صخره‌ها و در بوته‌زارها می‌روید. ارتفاع آن به شرایط اقلیمی محل رویش بستگی دارد. رنگ میوه قرمز روشن است. وقتی کاملاً برسد به‌رنگ قرمز تیره (متمایل به قهوه‌ای) تبدیل می‌شود. به دانه‌های داخل میوه به غلط بذر گفته می‌شود. این دانه‌ها در واقع میوه‌های فندقه موجود در سته می‌باشند [۵].

*R. damascena*: درختچه‌هایی با خارهای ریز یا قلابی شکل، دارای گل‌های درشت و بسیار خوش‌بو هستند و برگ‌های مرکب از تعداد زیادی برگچه تشکیل شدند [۶]. این گونه به‌صورت درختچه‌های ایستاده، بلند، تقریباً انبوه و پرتیغ است. ساقه متعدد، با شاخه‌هایی تقریباً باریک، سبز مات یا متمایل به زرد، ایستاده، تیغ‌دار، شاخه‌های آن منتهی به چند گل و دارای تیغ‌های پهن و برگشته می‌باشند. برگ‌های میانی شاخه‌های گل‌دار غالباً دارای ۵ برگچه و به‌ندرت دارای ۷-۹ برگچه، معمولاً کرکینه‌پوش است. گل‌ها صورتی، کم‌و-بیش بزرگ و معطر، غالباً مجتمع در گل آذینی دارای چند گل، با دم‌گلی غالباً کوتاه، با تیغ‌های باریک و موئین، برگ‌ها دارای دو جور تیغ، تیغ‌های عریض برگشته به پائین، کاس-برگ‌ها برگشته، گل‌برگ‌ها بسیار بزرگ این گونه را

دو عارضه کمک نماید. در محدوده درمان‌های دندان-پزشکی و به‌ویژه علم پرودنتولوژی نیز مواد ضد میکروبی چه بصورت خوراکی و چه به شکل موضعی (دهانشویه) در جهت کاهش فلور میکروبی دهان قبل از جراحی لثه و در طول مدت ترمیم بعد از جراحی و حتی به‌طور روزمره جهت کنترل پلاک باکتریال در دهان استفاده فراوان دارد.

نسترن وحشی

*Rosa canina* L.  
*Rosa damascene* Mill.  
خانواده: Rosaceae [۱].

نام انگلیسی: Dog rose, Hip-rose, (R. canina) [۱].

Damask rose, Persian rose, (R. damascena) [۱].

نام فارسی: نسترن وحشی، گل سگ (R. canina) [۱]. و گل

محمدی، گل گلاب (R. damascene) [۲].

- ریخت‌شناسی گیاه

جنس *Rosa* دارای گیاهانی چوبی به‌صورت درختچه‌هایی معمولاً تیغ‌دار و پوشیده از خارهای زیادند. برگ‌ها مرکب تک‌نشانه‌ای، با گوشوارکی پیوسته به دم‌برگ هستند. کاسه دارای ۵ تقسیم یا بریدگی کامل، با لوله‌ای در گلو فشرده است. جام شامل ۵ گل‌برگ، خامه‌های جانبی آزاد یا به-صورت ستونک به هم پیوسته‌اند. پرچم‌ها متعدد، برچه‌ها کرک‌دار، میوه کروی - تخم‌مرغی و یا پهن دراز است. این جنس در ایران بیش از ۳۰۸ گونه دارد [۳]. از گونه‌های مهم دارویی می‌توان به گونه *R. canina* و *R. damascene* اشاره نمود. که به مشخصات ریخت‌شناسی هر کدام اشاره می‌شود. *R. canina*: درختچه‌های به ارتفاع ۱-۴ متر، ایستاده، یا خیزان گسترده، با خارها و تیغ‌های خمیده تقریباً یک‌جور، بسیار محکم و گزنده است. ساقه یا تقریباً تنه متعدد، با تیغ‌های محکم و به‌طور نامنظم پراکنده در تمامی طول، منشعب، با شاخه‌ها و شاخک‌های دارای تیغ‌های باریک سوزنی، شاخه-های گل‌دهنده گاهی فاقد آن، این گونه دارای اشکال متفاوتی است. برگ‌ها دارای ۷-۵ برگچه، به طول ۳۰-۴۰

نیست (۵). جمع آوری میوه‌ها در ماه‌های مهر و آبان و گل‌ها را از خرداد تا تیرماه انجام می‌دهند [۷].

R. damascene: زمان گل‌دهی اردیبهشت تا اوایل تیرماه مناسب‌ترین زمان برای جمع‌آوری گل‌ها می‌باشند [۲].

- نام تجاری دارو ساخته شده

ایران: قطره خوراکی گل‌سرخ؛ پودر سنالین؛ قرص روکش- دار سنالین ۷/۵. [۹].

گیاه در سایر کشورهای دنیا به صورت ترکیبی در فرآورده‌ها موجود می‌باشد [۱۰].

- ترکیبات

Rosa hips: Vitamin C, A, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub> & K; Pectins; Tannins; Malic & Citric acids; Caretenoids; Flavonoids [11]

- موارد مصرف

به‌عنوان منبع ویتامین C طبیعی مفید در تقویت مویرگ‌ها، تقویت‌کننده‌ی سیستم ایمنی برای پیش‌گیری از بیماری‌ها [۱۲]، درمان اختلالات دستگاه تنفسی از قبیل سرماخوردگی، آنفولانزا و کمبود ویتامین C (اسکوروی) [۱۱].

برگ‌ها به صورت ضماد در بهبود زخم‌ها [۱۲].

درمان اسپاسم و التهاب معده، بیماری‌های روده‌ای، ادم، آرتريت، سیاتیک، دیابت، اختلالات متابولیسم اسیداوریک (شامل نقرس)، اختلالات دستگاه ادراری تحتانی و مثانه، سنگ‌های صفرای، سنگ کلیه، نارسایی گردش خون مجیطی و بیماری استئوزن ناقص (Ostegenesis imperfect) در کودکان [۱۱].

به‌عنوان قابض، مدر [۱۱] و مسهل [۱۲]

- سایر موارد مصرف (در طب سنتی)

به‌عنوان کاهنده فشارخون بالا، کاهنده کلسترول و نیز مقوی عمومی به‌خصوص برای قلب، کمک در درمان آریتمی قلبی [۸].

دورگی ثابت از دو گونه R.moscata و R.galica می‌دانند. موسم گل‌دهی در آن اردیبهشت‌ماه می‌باشد [۲].

- محل رویش

این جنس در دامنه‌های البرز تا زاگرس، شمال‌غربی و شرقی به‌ویژه در ارتفاعات کندوان و دره چالوس به‌طور پراکنده می‌رویند و در مناطق جنوبی و بلوچستان نیز انتشار دارند [۳].

R.canina: در شمال شرقی به‌ویژه مینودشت، گلی‌داغ، بین نوده و شاهرود، بین آزادشهر و بجنورد، جنگل گلستان، آلمه، اخلمد در مشهد، کتل یک چنار، چناران، بردو و در البرز گدوگ، دره رود تجن، پل زنگوله در کندوان، ارتفاعات الموت، هرزویل در رودبار، لاهیجان، آذربایجان بین هشتر و آستارا، اسالم، مشکین‌شهر، بین میانه و خلخال، بین منجیل و زنجان، بین مرند و صوفیان، خوی، ارومیه به طرف سروخمس، کردستان، چهل چشمه، مریوان، سنندج، در غرب گنج‌نامه همدانف کوه الوند، کرمانشاه و گیلان غرب، اراک، پشم‌شوران در بختیاری، اصفهان، بیسه، دورود، شیراز، کوه دینار، کوه بیل، کوه چهارمکان، تل خسروی، کرمان، تهران، توچال، پس‌قلعه، فشد، مارونک، گچسر، وردآورد، کرج و دماوند می‌روید [۴]. منشأ این گیاه در اغلب نواحی اروپا) به‌استثنای اسکاندیناوی) و آسیا می‌باشد [۷].

R.damascena: در شمال‌غرب، مرکز و جنوب ایران رویش دارد [۶]. به‌صورت کاشته شده در بیشتر نقاط ایران به‌ویژه کاشان، آذربایجان، مازندران، تهران و کرج یافت می‌شود [۲].

قسمت مورد استفاده گل و میوه [۸]

- زمان برداشت قسمت مورد استفاده

R.canina: زمان مناسب برای برداشت میوه هنگامی است که میوه‌ها سفت و به‌رنگ سرخ براق باشند. چنان‌چه میوه‌ها با سرما مواجه شوند یا این که مدت زیادی روی گیاه بمانند (با تأخیر برداشت شوند)، قسمت گوشتی میوه نرم و به شکا خمیر در می‌آید. در این حالت میوه‌ها فاقد ویتامین C و فاقد ارزش دارویی هستند. برداشت میوه‌های نارس نیز مناسب

بیماران مبتلا به آسم بهتر است از مصرف این گیاه اجتناب نمایند [۱۱].

#### - اثرات جانبی

اسهال، نارسایی کلیوی، تحریک پوستی (در مصرف موضعی)، واکنش‌های آلرژیک [۱۲]، بی‌خوابی، سردرد، خستگی، گرگرفتگی، تهوع، استفراغ، کرامپ‌های شکمی، ازوفاژیت، برگشت غذا از معده به مری، سنگ‌های کلیه، آلرژی تنفسی شدید (بعد از در معرض گرد و غبار گیاه قرار گرفتن)، خارش، آنافیلاکسی، احساس سوزن سوزن شدن [۱۱].

#### - مصرف در بارداری و شیردهی

از مصرف گیاه در دوران بارداری و شیردهی به دلیل اثرات ناشناخته آن اجتناب شود [۱۲].

#### - تداخلات دارویی

آهن: امکان افزایش جذب فرآورده‌های خوراکی آهن [۱۲].

وارفارین: امکان آنتاگونیسم شدن اثر دارو [۱۲].

آنتی‌اسیدهای حاوی آلومینوم: احتمال افزایش جذب آلومینوم [۱۱].

آسپرین، سالیسیلات‌ها: احتمال افزایش ترشح اسید آسکوربیک و کاهش ترشح سالیسیلات‌ها [۱۱].

باربیتورات‌ها: استروژن‌ها، ضدبارداری‌های خوراکی، تتراسیکلین‌ها: امکان افزایش نیاز به ویتامین C [۱۱]، افزایش سطح سرمی استروژن‌ها و ضدبارداری‌های خوراکی [۱۲].

ترتینوئین: احتمال اثرات افزایشی [۱۲].

#### - میزان مصرف

چای: ۱-۲/۵ گرم میوهی خردشده در ۱۵۰ میلی‌لیتر آب-جوش به مدت ۱۰-۱۵ دقیقه خیسانده و صاف می‌شود (۱ قاشق مرباخوری معادل ۳/۵ گرم گیاه می‌باشد). به‌عنوان مدر به دفعات در صورت نیاز مصرف می‌شود [۱۱].

جوشانده شکوفه گیاه برای تسکین سردرد، درد چشم، گوش، گلو و لته و به‌صورت ضماد در ناحیه‌ی قلب برای تسکین التهاب قفسه‌ی سینه [۸].

گل‌برگ‌های گیاه به‌صورت خوراکی یا موضعی برای خنک کردن گرمای حاصل از التهاب [۸].

درمان خون‌ریزی شدید قاعدگی، عفونت، میوه گیاه مفید در لکوره، اسانس گیاه مفید در افسردگی پیش از قاعدگی، افزایش‌دهی قوای جنسی [۸].

به‌عنوان ملین ضعیف [۶] و در درمان مشکلات گوارشی، تنظیم اشتها در چاقی، مشکلات کبدی، تب، زردی، درد مفاصل ضعیف، عفونت، سوزاک و نیز برای افزایش برون‌ده ادرار، تسکین اسهال و تشنگی [۸].

بهبود علائم وابسته به استرس، دارای اثر مسکن (به‌صورت موضعی)، آرام‌بخش در بی‌خوابی، مفید در شوک‌های احساسی و سوگواری، غش کردن [۸].

گلاب حاصل از گیاه در حمام برای نرم کردن پوست، اسیدهای موجود در گلاب pH مناسب پوست را حفظ می‌نمایند و ضد التهاب پوست می‌باشند [۸].

#### - موارد منع مصرف

منع مصرفی برای آن گزارش نشده است [۸].

#### - احتیاطات عمومی

مصرف گیاه در بیماران مبتلا به آلرژی اتوپیک با احتیاط صورت گیرد [۱۲].

از مصرف مکمل‌های ویتامین C در بیماران دارای سابقه‌ی سنگ‌های کلیه به‌دلیل این که دوز بالای ویتامین C ممکن است منجر به تولید اگزالات ادراری و افزایش خطر تشکیل سنگ گردد، بهتر است اجتناب شود [۱۲].

در بیماران دیابتی، دوز بالای میوه‌ی گیاه ممکن است باعث ایجاد پاسخ منفی کاذب در تست گلوکز ادراری (به‌دلیل محتوای ویتامین C) گردد [۱۲].

نیستند [۱۴]. در نتیجه جهت تکمیل برداشت مکانیکی از کنترل شیمیایی پلاک استفاده می‌شود [۱۴]، کاربرد دهان-شویه‌ها یکی از رایج‌ترین روش‌های موضعی در کنترل شیمیایی پلاک است.

کلرگزیدین اولین و رایج‌ترین دهان‌شویه می‌باشد که مطالعات بسیاری بر روی تأثیر آن در کاهش پلاک و التهاب لثه گزارش شده است [۱۵]. هرچند بسیاری از عوامل ضد میکروبی برای کنترل پلاک مناسب به نظر می‌رسند اما به علت مشکلات ذاتی در طرز عمل و عوامل مختلف در داخل دهان، تعداد کمی از آن‌ها تأثیر کلینیکی شان را نشان می‌دهند و یا تعدادی از آن‌ها در مصرف طولانی مدت عوارض جانبی متعددی را ایجاد می‌کنند [۱۶]. امروزه انواع دهان‌شویه‌ها جهت برآورده کردن کاهش پلاک میکروبی از کلیه سطوح تازیر آستانه تحمل برای لثه و تغییر ساختار پلاک به گونه‌ای که امکان بازگشت بیماری وجود نداشته باشد، وارد بازار می‌شوند، خصوصاً نمونه‌های ساخت ایران که اکثراً به صورت عصاره‌های گیاهی نیز عرضه می‌گردند [۹].

با توجه به رسیدگی به بهداشت دهان و دندان و لزوم شناسایی داروهای جدید جهت از بین بردن باکتری‌های عامل عفونت دهان این مطالعه با هدف بررسی فیتوشیمیایی عصاره گیاه دارویی نسترن کوهی (*Rosa Canina L.*) جمع‌آوری شده از مناطق ریشی مشکین‌شهر و اثرات ضد میکروبی آن‌ها بر روی برخی از باکتری‌های شایع دهان و دندان انجام شد.

### مواد و روش‌ها

- خصوصیات جغرافیایی منطقه مورد مطالعه هنگام جمع‌آوری گیاه در محل، مختصات جغرافیایی منطقه مشکین شهر که شامل طول جغرافیایی  $۸۵^{\circ} ۴۵' E$  و عرض جغرافیایی  $۴۶^{\circ} ۳۷' N$  ارتفاع از سطح دریا ۱۴۶۸ متر که توسط دستگاه موقعیت‌سنج جغرافیایی (GPS) مدل Garmin Vista ثبت گردید.

در بیماری استئوژنز ناقص: ۲۵۰-۶۰۰ میلی‌گرم در روز به- صورت خوراکی [۱۱].

با گسترده شدن دامنه کاربرد دهان‌شویه‌ها دسترسی به موادی که با حداقل اثرات جانبی مثل ایجاد رنگیزه بر دندان‌ها و مواد پرکردگی، عفونت‌های ناخواسته و سمیت بافتی حداکثر اثرات مطلوب را ایجاد نماید، بسیار لازم و ضروری به نظر می‌رسد. بررسی اثرات ضد باکتریایی گیاهان دارویی در جهت کاهش فلور میکروبی دهان و در نتیجه ساخت و کاربرد دهان‌شویه‌هایی با حداقل اثرات ناخواسته و قیمت مناسب در داخل کشور و با استفاده از منابع طبیعی کشورمان می‌تواند اهمیت ویژه‌ای داشته باشد. علاوه بر این عفونت‌های فرصت طلب مثل (عفونت با کاندیدا آلبیکانس) به شکل‌های مختلفی در دهان بروز می‌نماید و اغلب در دهان افرادی که از نظر سیستم ایمنی دچار نقص هستند باعث ناراحتی و اختلالات فراوان می‌گردد.

امروزه انواع دهان‌شویه‌ها جهت برآورده کردن کاهش پلاک میکروبی از کلیه سطوح تازیر آستانه تحمل برای لثه و تغییر ساختار پلاک به گونه‌ای که امکان بازگشت بیماری وجود نداشته باشد، وارد بازار می‌شوند، خصوصاً نمونه‌های ساخت ایران که اکثراً به صورت عصاره‌های گیاهی نیز عرضه می‌گردند. روش اولیه در پیشگیری از بیماری‌ها و حفظ بهداشت دهان، کنترل پلاک و جلوگیری از تجمع آن بر روی دندان و سطوح لثه‌ای مجاور بوده و در واقع برداشت مکانیکی پلاک روش اولیه و موثرترین روش در پیشگیری از پوسیدگی، التهاب لثه، التهاب بافت‌های پرودنتال و بیماری‌های سیستمیک با منشأ میکروبی می‌باشد. بسیاری از افراد علی‌رغم سعی در حفظ بهداشت دهان، برداشت مکانیکی پلاک را در حد مطلوب نمی‌توانند انجام دهند، زیرا نیازمند مهارت قابل ملاحظه‌ای می‌باشد که شاید بسیاری از افراد فاقد آن باشند.

از طرفی میزان شکست درمان‌های جراحی و درمان‌های غیرجراحی بیان‌کننده این است که روش‌های دبریدمان مکانیکی به تنهایی برای کنترل حالت‌های بسیاری کافی

## - جمع آوری گیاهان دارویی

اندام‌های مورد نظر گیاه با استفاده از منابع موجود، در بهار سال ۱۴۰۰ از مناطق مختلف در شمال غربی ایران و از رویشگاه‌های طبیعی در شهرستان مشکین شهر جمع آوری و به کمک متخصصین گیاه شناسی بخش تحقیقات گیاهان دارویی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اردبیل با استناد به نمونه هرباریومی مطابقت و شناسایی شد.

هنگام جمع آوری نمونه‌ها تمام مشخصات محل به صورت دقیق تعیین و ثبت شد. برداشت نمونه‌ها در یک فاصله زمانی بسیار کوتاه در بین ساعات ۱۲ الی ۱۵ در اوج تابش خورشید به دلیل وجود بیشترین ماده موثره انجام شد. اندام‌های مورد نظر گیاه، که شامل میوه است از گیاه جدا و در پاکت‌های مخصوص قرار داده و به محل خشک شدن انتقال یافت. سپس جداسازی و پاک‌سازی شد. عمل خشک کردن بلافاصله به روش خشک کردن در سایه، و در دمای ۲۰ الی ۲۸ درجه سلسیوس اتاق انجام گرفت و سپس در جای خشک و خنک نگهداری شد و موقع استحصال ماده موثره با خرد کن (CG1۰۰) خرد و تا زمان انجام سایر آزمایش‌ها در آزمایشگاه بخش تحقیق و توسعه موسسه دانش‌بنیان پژوهشگران دارویی سبز در بطری‌های شیشه‌ای درب بسته نگهداری شد.

## - کمیت و کیفیت عصاره

به منظور بررسی کمی و کیفی عصاره، پیکر رویشی گیاه (برای نسترن کوهی، میوه)، از هر توده در مرحله رشد کامل، برداشت و در شرایط سایه خشک گردید.

## - عصاره‌گیری

عصاره‌گیری به روش خیساندن (ماسراسیون) انجام شد. قبل از عصاره‌گیری عمل حذف چربی به وسیله اتر دوترول صورت گرفت. برای تهیه عصاره آبی، ۱۰۰ گرم پودر گیاه را داخل ارلن ۱۰۰۰ سی‌سی ریخته و به اندازه ۲ برابر حجمی

که پودر گیاه در ارلن اشغال کرده، آب مقطر به آن افزوده شد. عمل خیساندن به مدت ۷۲ ساعت (۳ روز) انجام گرفت و در طی این مدت هر چند ساعت یکبار به خوبی تکان داده شد.

بعد از گذشت ۷۲ ساعت عصاره ابتدا توسط پارچه و پنبه و سپس توسط قیف بوختر صاف شد، سپس عصاره صاف شده به پلیت متصل گردید و روی بن ماری با دمای ۴۰°C به مدت ۲۴ ساعت تا خشک شدن عصاره قرار گرفت (۹۳).

## - تعیین وزن خشک عصاره‌ها

جهت استاندارد کردن روش و تکرارپذیری آن، وزن خشک عصاره تعیین شد، بدین صورت که برای عصاره به طور جداگانه سه لوله خالی توسط ترازوی دیجیتال حساس، وزن شده و سپس از هر کدام از عصاره‌های آبی و اتانولی ۱ میلی-لیتر به هر لوله اضافه شد، پس از انکوباسیون ۲۴ ساعته لوله‌ها، در ۵۰ درجه سانتی گراد، عصاره‌ها کاملاً خشک شد.

سپس سه لوله مربوط به هر کدام از عصاره‌ها، مجدداً توزین و بعد از کم کردن وزن لوله‌های خالی، میانگین وزن خشک عصاره‌های آبی و اتانولی در میلی‌لیتر به دست آمد.

به منظور آنالیز و شناسایی ترکیبات شاخص عصاره دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارکرد بالا (HPLC) مورد استفاده قرار گرفت.

## - استاندارد مواد شیمیایی

ترکیب شاخص موجود در گیاه استاندارد مورد استفاده، محصول شرکت (Acros) و با درصد خلوص ۹۷٪ بود. حلال‌های کلروفرم متانول اتانول دارای درجه خلوص AR و حلال‌های مورد استفاده در کروماتوگرافی HPLC شامل استونیتریل و اسید فسفریک با درجه خلوص HPLC بود.

- روش استخراج ترکیب شاخص موثر هر عصاره گیاه مقدار ۱۰ گرم از نمونه گیاه با ۵۰ میلی‌لیتر حلال استون به-وسیله دستگاه سوکسله چربی‌زدایی شده و بعد استخراج توسط ۱۰۰ میلی‌لیتر حلال کلروفرم به روش خیساندن و تکانه

انجام شد. حلال محلول تهیه شده بوسیله دستگاه تقطیر در خلا، جدا شده، سپس ماده جامد به دست آمده بوسیله ۵۰ میلی‌لیتر متانول به حجم رسانده شد. از محلول به دست آمده جهت اندازه‌گیری ترکیب شیمیایی شاخص و همچنین تخلیص آن استفاده شد.

- رسم منحنی کالیبراسیون برای نمونه استاندارد

برای بررسی و اندازه‌گیری میزان ترکیب شاخص منحنی استاندارد مورد نیاز می‌باشد. برای تهیه این منحنی استاندارد از ترکیب استاندارد سنتزی ترکیب، غلظت‌های متفاوتی برای تزریق آماده شد. نمونه با غلظت‌های (۵  $\mu\text{lit}$ ، ۱۰  $\mu\text{lit}$ ، ۱۵) از محلول استاندارد ساخته شده برای به دست آوردن منحنی کالیبراسیون به دستگاه تزریق شد. با استفاده از سطح زیر پیک ماده مجهول و انطباق آن با منحنی کالیبراسیون غلظت ماده مجهول به دست آمد.

- روش اندازه‌گیری دستگاهی

برای تعیین میزان ماده موثر ترکیب شاخص در نمونه گیاه ابتدا مقدار ۵  $\mu\text{lit}$  از محلول مجهول استخراج شده به دستگاه تزریق شد. پس از ارزیابی زمان‌های ماندگاری و مطابقت پیک‌های به دست آمده با پیک استاندارد دستگاه کالیبره شد. سپس نمونه استاندارد سنتزی و محلول مجهول میکس و (۵  $\mu\text{lit}$ ) بار دیگر به دستگاه تزریق گردید. برای تفسیر پیک‌ها و به دست آوردن مقدار ماده موثر ترکیب شاخص، در نمونه محلول مجهول استخراج شده، از منحنی کالیبراسیون رسم شده استفاده شد.

- سویه‌های باکتریایی

در این مطالعه تاثیر عصاره گیاه دارویی نسترن کوهی بر روی باکتری‌های شايع، از جمله استرپتوکوکوس موتانس، استرپتوکوکوس سانگویس، استرپتوکوکوس سالیواریس، استرپتوکوکوس سویرینوس، اشرشیاکلی، ایکنلا کوردنس، سودوموناس آنروژینوزا و کلبسیلا پنومونیه که از مجموعه باکتری‌ها و قارچ‌های صنعتی و عفونی ایران تهیه شد مورد بررسی قرار گرفت.

- تهیه دیسک‌های حاوی عصاره

در این آزمایش دیسک‌های استریل با غلظت‌های mg/ml ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ از عصاره تهیه شد، جهت تهیه دیسک‌های حاوی عصاره‌های مورد مطالعه، از دیسک‌های بلانک ساخت پادتن طب استفاده شد. بدین ترتیب که دیسک‌های بلانک را در لوله‌های حاوی رقت‌های تعیین شده از تک تک عصاره‌ها قرار داده شد. سپس ۵ تا ۳ دقیقه پس از جذب کامل، دیسک‌ها را در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا کاملاً خشک شده و جهت دیسک‌گذاری آماده شوند.

- مطالعه اثر ضد باکتریایی عصاره آبی نسترن کوهی

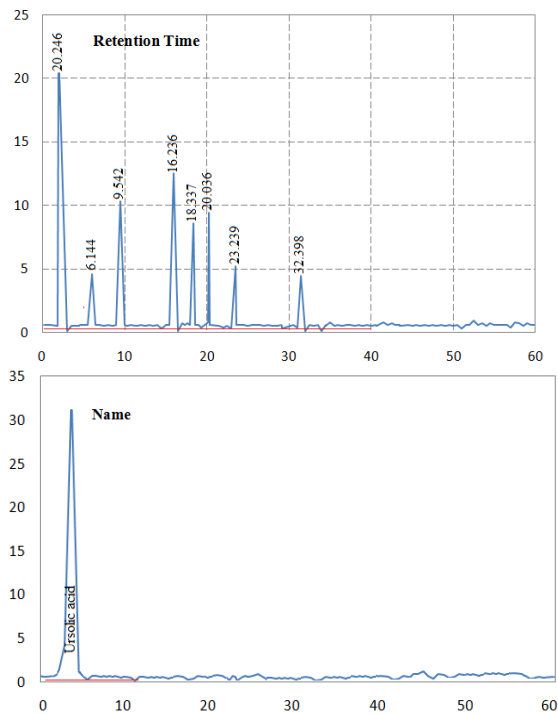
اثر ضد باکتریایی عصاره آبی گیاه دارویی نسترن کوهی از نظر ماده موثره را به صورت جداگانه علیه سویه‌های مختلف، با استفاده از روش بررسی قطر هاله عدم رشد (Disk deffusion) و حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) انجام گرفت.

در این روش نمونه‌های تهیه شده پس از انتقال به آزمایشگاه بر روی محیط پایه کمپیلوباکتر بلاک آگار حاوی ۵ درصد خون گوسفند دفیبرینه همراه با ۱۰ میلی‌گرم در لیتر وانکومايسن، ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر پلی‌میکسین B، ۵ میلی‌گرم در لیتر تری‌متوپریم، و ۲ میلی‌گرم آمفوتریپسین B، کشت داده شد.

و پلیت‌ها در درون جار بی‌هوازی قرار گرفت و پس از اضافه کردن آب به Gaspack درب جار محکم بسته شد و ۳ الی ۷ روز در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. تعیین هویت کلونی‌های هلیکوباکتر پیلوری، با استفاده از رنگ‌آمیزی گرم انجام شد.

در روش MIC عصاره‌های آبی و الکلی گیاه رازک، گون و نسترن کوهی را به صورت جداگانه در داخل بروسلا آگار حاوی ۵ درصد خون، در غلظت‌های mg/ml ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ از عصاره‌ها ریخته و سپس از باکتری‌های رشد کرده در محیط کشت، سوسپانسیونی در بروسلا برات به مقدار  $10^8 \times 3$  باکتری در میلی‌لیتر تهیه شد.





نمودار ۱: پیک های خروجی HPLC سمت راست نمونه، چپ استاندارد

گیاه نسترن کوهی

جدول شماره ۱- جدول ترکیبات تشکیل دهنده عصاره گیاه دارویی نسترن کوهی

Percent	Phenolic compound	Row
16.42	Ursolic acid	1
4.57	Oleanolic acid	2
10.31	Chlorogenic acid	3
12.54	Catalpol	4
8.62	Aucubin	5
12.75	Caffeic acid	6
9.41	Vanillic acid	7
7.32	p-coumaric acid	8
6.43	Baicalein	9
10.63	Unknown compound	10

۵ میکرولیتر از هر سوسپانسیون باکتریایی روی بروسلا آگار حاوی عصاره گیاهی ریخته شده و در داخل جار بی‌هوای قرار داده شده و پس از ریختن آب در Gaspack درب جار بسته شده و به مدت ۵ روز در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و ۵ درصد دی‌اکسید کربن انکوبه شد، سپس کم‌ترین غلظت عصاره گیاهی که مانع از رشد قابل رویت شد به عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی یا MIC بیان شد. در روش Disk diffusion از باکتری‌هایی که در محیط کشت رشد کرده‌اند، سوسپانسیونی در سرم فیزیولوژیک به تعداد  $3 \times 10^8$  باکتری در میلی‌لیتر تهیه شد. سپس ۵۰ میکرولیتر از این سوسپانسیون روی محیط مولر هینتون آگار حاوی ۵ درصد خون تلقیح شد. سپس دیسک بلانک استریل را روی پلیت گذاشته و عصاره آبی نسترن کوهی در غلظت ۴۰۰ میکرو-گرم در میلی‌لیتر روی دیسک بلانک تلقیح گردید. و به مدت دو روز در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. سپس پلیت‌ها از نظر وجود هاله عدم رشد بررسی گشت [۹۵]. در این تحقیق از داروهای استاندارد کلرگزیدین و نیستاتین به عنوان شاهد استفاده شد.

- روش‌ها و ابزار تجزیه و تحلیل داده‌ها

جهت تجزیه و تحلیل نتایج داده‌ها از نرم‌افزار SPSS 19 استفاده از آزمون دانکن در سطح ۰/۰۱ و ۰/۰۵ درصد و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel 2007 استفاده خواهد شد.

آنالیز آماری اثرات ضد میکروبی با استفاده از نرم‌افزار SPSS و T-test مورد ارزیابی قرار گرفت.

## نتایج و بحث

### - نتایج HPLC

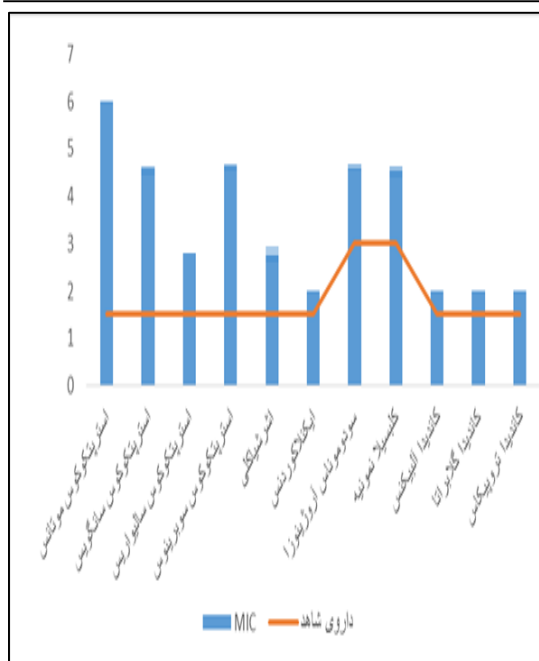
نتیجه آنالیز HPLC برای گیاه دارویی نسترن کوهی نشان دهنده این بود که عصاره مورد مطالعه دارای ۳۵/۷۴ درصد ترکیبات فنلی می‌باشد که از این میزان ۱۹/۴۳ درصد آن را Ursolic acid تشکیل می‌دهد (جدول ۱).

نتایج ضد میکروبی - روی باکتری کاندیدا گلابراتا دارا می‌باشد. نتایج حاصل از در بررسی اثر هر یک عصاره‌ها بر روی باکتری‌ها، مشخص گردید که گیاه دارویی نسترن کوهی کم‌ترین تاثیر مهاری را علیه باکتری کلبسیلا پنومونیه و بیش‌ترین اثر مهاری را بر

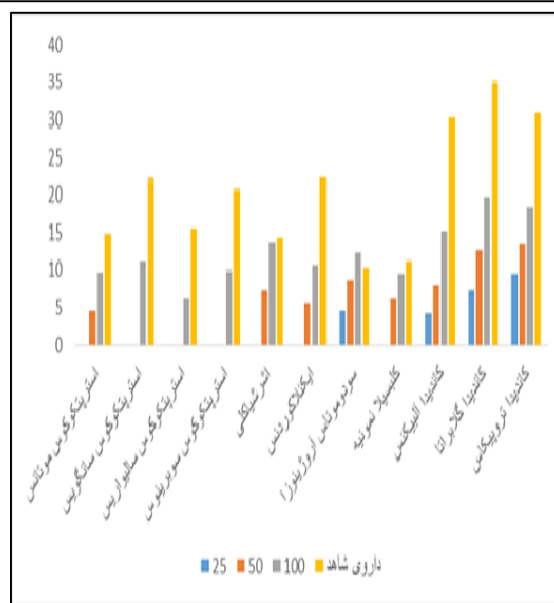
آزمون MIC نیز تایید کننده این اثرات می‌باشد. پس می‌توان بیان نمود که مخلوط عصاره‌های مورد مطالعه نتایج مشابهی را نسبت به داروهای استاندارد از خود نشان می‌دهد.

جدول ۲- نتایج قطر هاله عدم رشد (میلی‌متر) در باکتری‌های مورد مطالعه با غلظت‌های مختلف عصاره آبی گیاه دارویی نسترن کوهی

ردیف	باکتری مورد مطالعه	غلظت مورد مطالعه			کلر هگزین ۲٪
		۱۰۰	۵۰	۲۵	
۱	استرپتوکوکوس موتانس	۹/۵	۴/۲	-	۱۴/۹
۲	استرپتوکوکوس سانگویس	۱۰/۵	-	-	۲۳/۲
۳	استرپتوکوکوس سالیواریس	۶/۱	-	-	۱۵/۶
۴	استرپتوکوکوس سوبرینوس	۹/۴	-	-	۲۰/۶
۵	اشرشیاکلی	۱۳/۶	۷/۵	-	۱۴/۴
۶	ایکنلا کوردنس	۱۰/۳	۵/۴	-	۲۰/۸
۷	سودوموناس آنروژینوزا	۱۲/۳	۸/۶	۴/۶	۱۰/۴
۸	کلبسیلا نمونیه	۹/۴	۶/۲	-	۱۱/۲
۹	کاندیدا آلبیکانس	۱۵/۳	۷/۹	۴/۲	نیستاتین ۳۰/۶
۱۰	کاندیدا گلابراتا	۱۹/۵	۱۲/۹	۷/۲	۳۵/۶
۱۱	کاندیدا تروپیکالیس	۱۸/۴	۱۳/۴	۹/۵	۳۰/۹



نمودار ۳: نمودار مقایسه نتایج MIC عصاره آبی نسترن کوهی علیه باکتری‌های مورد مطالعه



نمودار ۲: نمودار مقایسه نتایج آنتی بیوگرام عصاره آبی گیاه دارویی نسترن کوهی علیه باکتری‌های مورد مطالعه

جدول ۲- نتایج حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره گیاه دارویی نسترن کوهی (MIC)

ردیف	باکتری مورد مطالعه	MIC	کلر هگترین ۲٪
۱	استرپتوکوکوس موتانس	۶±۱	۱/۵±۱
۲	استرپتوکوکوس سانگویس	۵±۱	۱/۵±۱
۳	استرپتوکوکوس سالیواریس	۳±۱	۱/۵±۱
۴	استرپتوکوکوس سوپرینوس	۵±۱	۱/۵±۱
۵	اشرشیا کلی	۳±۱	۱/۵±۱
۶	ایکنلا کوردنس	۲±۱	۱/۵±۱
۷	سودوموناس آئروژینوزا	۵±۱	۳±۱
۸	کلبسیلا نمونیه	۵±۱	۳±۱
۹	کاندیدا آلبیکانس	۲±۱	نیستانتین ۱/۵±۱
۱۰	کاندیدا گلابراتا	۲±۱	۱/۵±۱
۱۱	کاندیدا تروپیکالیس	۲±۱	۱/۵±۱

مکتبی و غفوری در سال ۱۳۹۵ مطالعه‌ای با هدف بررسی اثر ضد میکروبی عصاره آبی و الکلی گیاه دارویی نسترن کوهی در گوشت چرخ کرده و بررسی تغییرات ارگانولپتیکی آن طی نگهداری در یخچال را انجام دادند. آن‌ها در این مطالعه به منظور مقایسه اثرات ضد باکتریایی عصاره آبی و الکلی گیاه نسترن کوهی بر چهار باکتری مهم بیماری‌زای مواد غذایی شامل سالمونلا، استافیلوکوکوس، اشرشیا کولای و لیستریا را انجام دادند. گیاه نسترن کوهی در منطقه الیگودرز در فصل بهار جمع آوری شد. عصاره آبی و الکلی آن طبق روش‌های استاندارد استخراج گردید. نمونه‌هایی از گوشت چرخ شده گوساله به عصاره آبی و الکلی گیاه آغشته و به مدت ۶ روز در یخچال ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

طی روزهای ۰، ۲، ۴ و ۶ از نظر شمارش کلی باکتری‌های مزوفیل مورد بررسی قرار گرفتند. علاوه بر این به طور جداگانه سویه‌های میکروبی بر روی آگار کشت داده شده و

چنین مطالعات طولی و / یا مداخله‌ای می‌تواند نشان دهد که آیا بیماری‌های دهان مرتبط با اختلال روابط قارچی باکتریایی هستند یا خیر. به عنوان مثال، بروز کاندیدیاز در بخش‌های غیرمخاطی مانند دستگاه واژینال با مصرف آنتی بیوتیک همراه است و به همین دلیل است که منجر به اختلال در میکروبیوم باکتریایی می‌شود [۲۱]. در واقع شواهدی از مدل‌های حیوانی نشان می‌دهد که در کبد کاندیدا با میکروبیوم باکتریای ساکن در ارتباط است که به طور بالقوه بر روی هموستاز میزبان میکروبیوم میزبان اثر می‌گذارد [۲۲]. با استفاده از یک مدل جوندگان در معرض یک آنتی بیوتیک سفالوسپورین، [۲۳] نشان داد که یک فلور باکتری سالم برای جلوگیری از کلونیزاسیون کاندیدا در دستگاه گوارش معده ضروری است. به نوبه خود، کلونیزاسیون *C. albicans* از موش‌های میکروبیوم مزمن باعث بروز دیس *Biosis* پایدار روده، جلوگیری از رشد *lactobacilli* که احتمالاً با سلامت دستگاه گوارش همراه است، در حالی که اجازه می‌دهد استقرار گونه‌های انتروکوک. در سطوح بالاتر از آن‌هایی که قبل از درمان آنتی بیوتیک وجود دارد. علاوه بر این، شواهد درون آزمایشگاهی نشان می‌دهد که ویروس آلوده کننده *C. albicans* می‌تواند توسط فلور همکلاس باکتریایی تعدیل شود. به عنوان مثال، *Pseudomonas aeruginosa* که شناخته شده است در ریه‌های فیروز کیستیک با *C. albicans* همسو است، اثبات شده است که برای مخلوط کردن مخمر با انتقال ژنیال و نیز تشکیل بیوفیلم، به طول بالقوه محدود *C. albicans* به یک وضعیت commensal رشد در مقایسه با محل‌های مخاطی غیر مخاطی، رتوفارنکس مقاومت بیش‌تری نسبت به رشد بیش از حد کاندیدا نسبت به دستگاه گوارش و واژن پایین‌تر از آنتی بیوتیک‌ها دارد [۲۴-۲۵].

با این وجود روشن نیست که این امر به دلیل عدم وجود اختلال ژنتیکی باکتریوم‌های دهانی پس از مصرف آنتی بیوتیکی یا شاید به دلیل وابستگی کم‌تر بین قارچ‌ها و باکتری‌ها در دهان است.

به کمک دیسک‌های آنتی بیوتیکی و دیسک‌های حاوی عصاره‌های آبی و الکلی گیاه نسترن کوهی مقاومت باکتری‌های مورد مطالعه به آن‌ها بررسی شد. تغییرات خصوصیات ارگانولیتیکی شامل بو، ظاهر، گندیدگی و ترشیدگی توسط اعضاء یک پانل مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد هر دو عصاره آبی و الکلی نسترن کوهی خواص ضد میکروبی قابل توجهی ندارند اما بار میکروبی گوشت چرخ کرده حاوی عصاره الگی طی روزهای ۲، ۴ و ۶ نسبت به بار میکروبی گوشت چرخ کرده حاوی عصاره آبی و آب مقطر (به عنوان شاهد) کم‌تر است. خصوصیات ارگانولیتیکی نیز تفاوت معنی داری با یکدیگر نداشتند [۱۱].

Choi و همکاران در سال ۲۰۱۶ در آزمایشی بیان که گونه‌های فلور باکتریایی دهان در بزاق ۴ نفر سالم پرپودنتال در سن‌های مختلف (۵-۳۲-۳۵-۶۵) مورد بررسی قرار دادند. برای این آزمایش کتابخانه‌های کلون ژنی ۱۶SRNA از بزاق ۴ نفر تولید شده و ۵۰ کلون به صورت تصادفی از کلیه کتابخانه‌های کلون بزاق انتخاب و توالی بندی شدند در مجموع ۳۷ نمونه از ژن‌های ۱۶SRNA باکتریایی توالی‌های ژنی بر اساس جستجوی توالی همگرا از طریق پایگاه داده Gen Bank شناسایی شدند. ۳۷ نوع توالی کلون بزاق به ۱۴ جنس و ۲ باکتری ناشناخته طبقه بندی شدند. در میان ۱۴ گونه شناسایی شده استرپتوکوک *Prevotella* و *Veillonella* ژن مشترک بودند و استرپتوکوک جنس غالب بود که ۷ گونه مختلف را شامل می‌شد. از میان این ۷ گونه استرپتوکوک *Salivarius S.* به عنوان شایع‌ترین گونه‌ها ظاهر شد. تعداد بیش‌تری از گونه‌های متعلق به جنس استرپتوکوک *Prevotella* در بزاق از سن‌های ۳۲ و ۳۵ وجود دارد. در حالی که بزاق از سن ۵ و ۶۵ نشان می‌دهد که تعداد بیش‌تری از گونه‌های متعلق به جنس *Rothia* از جمله گونه‌های پاتوژن بالقوه است. در نتیجه بزاق یک کودک و یک انسان بالغ دارای تنوع بیش‌تر باکتری‌ها نسبت به بزرگسالان است [۵۲].

### نتیجه گیری

با توجه به نتایج فیتوشیمیایی حاصل از عصاره این تحقیق می-توان بیان نمود که گیاه دارویی مورد مطالعه دارای ترکیبات فنی با اثرات آنتی باکتریال می‌باشند. لذا نتایج حاصل از تحقیق نشان داد که عصاره گیاه دارویی نسترن کوهی دارای خاصیت ضد میکروبی مناسب علیه باکتری‌های عامل عفونت دهان و دندان می‌باشد. بنابراین می‌توان عصاره گیاهی حاضر را به عنوان جایگزینی برای داروهای استاندارد مثل کلرگزیدین و نیستاتین بیان نمود.

### منابع

- [۱] سالاری، م.، ۱۳۸۰، میکروبی‌شناسی دهان و دندان، چاپ اول، دانشگاه علوم پزشکی تهران، ۱۶-۱۴.
- [۲] خواجه نوری، م.، حقیقی اصل، ع.، هرمزی، ف.، ۱۳۸۶، بررسی شیوه‌های استخراج اسانس‌های طبیعی از گیاهان، هفتمین همایش ملی دانشجویی مهندسی شیمی، شیراز، دانشگاه شیراز، دانشکده فنی.
- [۳] اکرامی، م.، امیری، م.، ۱۳۹۲، علم و هنر در دندانپزشکی ترمیمی ۲۰۱۳. انتشارات رویان پژوه، چاپ اول، ۵۳۶ ص.
- [۴] زرگری، ع.، ۱۳۷۰، گیاهان دارویی. جلد دوم. چاپ دوم. مرکز نشر دانشگاهی. تعداد صفحه: ۹۴۶.
- [۵] حسن پور اقدم، م.، ۱۳۷۶، تاثیر تیمارهای تغذیه‌ای بر ویژگی‌های رشد و اسانس گیاه دارویی شاه اسپرم (*Tanacetum balsamita* L.). پایان‌نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه تبریز.
- [۶] حسینی، س.ع.، ۱۳۹۰، بررسی روش‌های کاشت گیاه دارویی رازک (*Humulus Lupulus* L.) در گرگان. تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. ۱۳۹۰ [cited 2022 August 11]; 27 (۴ (پیاپی ۵۴): ۶۱۵-۶۲۳.
- [۷] برزگر، م.، شهنساری، ن.، سحری، م.ع.، نقدی بادی، ح.، ۱۳۸۲، فصلنامه گیاهان دارویی. شماره ۸۲.
- [۸] خواجه نوری، م.، حقیقی اصل، ع.، هرمزی، ف.، ۱۳۸۶، بررسی شیوه‌های استخراج اسانس‌های طبیعی از گیاهان، هفتمین همایش ملی دانشجویی مهندسی شیمی، شیراز، دانشگاه شیراز، دانشکده فنی.
- [۹] عارف خواه، ن.، تقی پور، س.، یوسفی، م.، رفیعیان، م.، دانش پور، شی، یوسفی دارانی، ح.، ۱۳۹۲، بررسی اثر عصاره‌ی آبی گیاه مخلصه (*Tanacetum Parthenium*) بر ترکیب موماس و ژنالیس در شرایط آزمایشگاهی، مجله دانشکده پزشکی اصفهان، دوره ۳۱، شماره ۲۳۶: هفته دوم تیر ماه ۱۳۹۲.

بنابراین، مدارک انسانی طولی برای تغییرات احتمالی در پروتئین‌های باکتری و قارچی جهانی در طول تولید کاندیدایز خوراکی مورد نیاز است. به طور مشابه، اگر چه مدل‌های اخیر درون آزمایشگاهی و حیوانی نقش احتمالی ترکیب شیمیایی کاندیدا - استرپتوکوک موتانس را در پاتوژن پوسیدگی [۲۶] پیشنهاد کرده‌اند، مطالعات انسانی طولی برای ارزیابی اجزای میکروبیوم باکتری و قارچی همزمان در طول زمان پیشرفت این بیماری است.

رفتن به نیمکت برای محاسبه مکانیزم‌های روابط در سیستم-های مدل اگر چه برای ایجاد فرضیه‌ها می‌توان از الگوهای پیشنهادی هماهنگی و ترک اعتیاد استفاده کرد، اما لازم به ذکر است که این انجمن‌ها می‌توانند به سادگی نشان دهنده میکروارگانیسم‌هایی با نیازهای غذایی مشابه یا تنظیمات تو رفتگی خاصی باشند و ممکن است از نظر متقابل یا آنتاگونیسمی مستقیم نباشد.

در نهایت، عواقب تعاملات قارچی باکتریایی که به طور بالقوه شناسایی شده‌اند، نیاز به آزمایش در سیستم‌های مربوطه دارند. گروه ما از چندین مدل *in vitro* و حیوانی برای بررسی عواقب تعامل قارچی باکتریایی که احتمالاً در حفره دهان انسان رخ می‌دهد، استفاده کرده است.

جنس استرپتوکوک در سایت‌های خوراکی بسیار زیاد است و استرپتوکوک گروه Mitis بیش‌ترین تعداد سلول را دارد [۲۷-۲۸]. MGS که عمدتاً توسط استرپتوکوک گوردونی، استرپتوکوک اورالیز، استرپتوکوک سابنسیس و استرپتوکوک میتس به کار رفته است، هر دو دندان‌ها و سطوح مخاطی دهان را کلنی می‌کنند [۲۹]. رشد بیش از حد کاندیدا در سطوح مخاطی همراه با ظهور ضایعات قابل جدا شدن سفید است که معمولاً به عنوان ریزش دهان شناخته می-شود [۳۰].

- phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. *Food. Chem*; 105 (3): 1126 - 34
- [28] Hussain, AI., Anwar, F., Nigam, PS., Ashraf, M., Gilani, AH., 2010, Seasonal variation in content, chemical composition and antimicrobial and cytotoxic activities of essential oils from four *Mentha* species. *J Sci Food Agric*;90:1827-36.
- [27] Gibriel, YA., Hamza, AS., Gibriel, AY., Mohsen, SM., 2011, In vivo effect of mint (*Mentha viridis*) essential oil on growth and aflatoxin production by *Aspergillus flavus* isolated from stored corn. *J Food Saf* ;31:445-51.
- [28] Green, T., Universal herbal. 2 nd ed. London: Caxton Press; 1824. P. 729.
- [29] Grieve, M.A., modern herbal. 3 rd ed. London: Tiger Books International; 1931. P. 912 Green T. Universal herbal. 2 nd ed. London: Caxton Press; 1824. P. 729.
- [30] Gulchin, I., Küfrevioğlu, I., Oktay, M., Büyükköroğlu, ME., 2004, Antioxidant, antimicrobial antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urtica dioica* L.), *J. Ethnopharmacol*; 90: 205 - 15. 16.
- [31] Karaman, I., Sahin, F., Güllüce, M., Oğütçü, H., Sengül, M., Adigüzel, A., 2003, Antimicrobial activity of aqueous and methanol extracts of *Juniperus oxycedrus* L. *J Ethnopharmacol*;85:231-5.
- [32] Khattak, S., Rehman, SU., Khan, T., Shah, HU., Shad, AA., Ahmad, M., 2004, In vitro screening for biological pharmacological effects of indigenous medicinal plants, *Mentha longifolia* and *Aloe vera*. *J Chem Soc Pak*;26:248-51.
- [33] Kienzle, N., Muller, M., Pegg, S., 2001, *Chryseobacterium* in burn wounds. *Burns*; 27(2): 179 - 82. 10.
- [34] Kitic, D., Jovanovic, T., Ristic, M., Palic, R., Stojanovic, G., 2002, Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Calamintha nepeta* (L.) Savi ssp. *glandulosa* (Req.) P.W. Ball from Montenegro. *J Essent Oil Res*;14:150-2.
- [35] Koelzer, J., Pereira, DA., Dalmarco, JB., Pizzolatti, MG., 2009, et al. Evaluation of the anti-inflammatory efficacy of *lotus corniculatus*. *J foodchem*; 117(3): 444-450.
- [36] Krystofova, O., Adam, V., Babula, P., Zehnalek, J., Beklova, M., Havel, L., 2010, et al. Effects of various doses of selenite on stinging nettle (*Urtica dioica* L.). *Int J Environ Health Res Public Health*; 7:3804-15
- [37] Mashhadian, NV, and Rakhshandeh, H., 2005, Antibacterial and antifungal effects of *Nigella sativa* extracts against *S. aureus*, *P. aeruginosa* and *C. albicans*. *Pakistan J. Medical Sci*; 21 (1): 47 - 52. 12.
- [38] Mann, CM., Cox, SD., Markham, JL., 2000, The outer membrane of *Pseudomonas aeruginosa* NCTC 6749 contributes to its tolerance to the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *Lett Appl Microbiol*;30:294-7.
- [39] Mimica-Dukic, N., Bozin, B., Sokovic, M., Mihajlovic, B., Matavulj, M., 2003, Antimicrobial and antioxidant activities of three *Mentha* species essential oils. *Planta Med*; 69:413-9.
- [40] Mojaverian, SM., Sajadi, P., Zali, SH., 2010, A study on comparative advantage in export of Iranian medicinal plants. Faculty of sciences. University Djillali Liabes of Sidi Bel Abbes (Algeria); pp: 364-65.
- [41] Moniee, SH., 1981, Giahdarou. Tehran Iran: Ketabsara press; 75. [Persian].
- [42] Naghibi, F., Mosaddegh, M., Motamed, SM., Ghorbani, A., 2005, Labiatae family in folk medicine in Iran: From ethnobotany to pharmacology. *Iran J Pharm Res*; 4:63-79.
- [43] Oussalah, M, and Caillet, S., 2007, Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria. *Food Control*; 18: 414 - 20.
- [44] Sahin, F., Karaman, I., Güllüce, M., Oğütçü, H., Sengül, M., Adigüzel, A., 2003, et al. Evaluation of antimicrobial activities of *Satureja hortensis* L. *J Ethnopharmacol*;87:61-5.
- [45] Abranches, J., Miller, JH., Martinez, AR., 2011, Simpson-Haidaris PJ, Burne RA, Lemos JA. The collagen-binding protein Cnm is required for *Streptococcus mutans* adherence to and intracellular invasion of human coronary artery endothelial cells. *Infect Immun* 2277-2284. [PMC free article] [PubMed]
- [۱۰] مکتبی، س.، غ.، ۱۳۹۵، بررسی اثر ضد میکروبی عصاره آبی و الکلی گیاه دارویی گون در گوشت چرخ کرده و بررسی تغییرات ارگانولپتیکی آن طی نگهداری در یخچال، کنفرانس سراسری تحقیق در علوم کشاورزی، منابع طبیعی و محیط زیست، گرگان، گروه آموزش و پژوهش شرکت مهندسی بارو گستر پارس، دانشگاه فرهنگیان استان گلستان.
- [11] Khazaeli, P., Foroumadi, AR., Moshafi, MH., Ehshami, M., 2003, Toothpaste formulation from Miswak powder extract. *Journal of Kerman University of Medical Sciences*; 10(1):46-52.
- [12] Changizi-Ashtiyani, S., Ramezani, M., Poorcheraghi, H., Afzali, S M., Pirouzi, P., Atashi, S., 2019, et al. The Effectiveness of Rosa Canina Plant in Treatment of Some Diseases: A Brief Review. *J Arak Uni Med Sci*; 22 (5) :6-17.
- [13] Baffone, W., Sorgente, G., Campana, R., Patrone, V., Sisti, D., Falcioni, T., 2011, Comparative effect of chlorhexidine and some mouthrinses on bacterial biofilm formation on titanium surface. *CurrMicrobiol*; 62(2) 41-445.
- [14] Ravanshad, Sh., Basiri, E., Dastgheib, B., 2007, Antimicrobial activity of different concentrations of essential oil of *zataria multiflora* on *enterococcus faecalis*. *Journal of Dentistry of Shiraz University of Medical Sciences*; 8(1): 28-36.
- [15] Robledo, S., Osorio, E., Munoz, D., Jaramillo, LM., Restrepo, A., Arango, G., 2005, et al. In vitro and in vivo cytotoxicities and antileishmanial activities of thymol and hemisynthetic derivatives. *Antimicrob Agents Chemother*; 49(4): 5-1652.
- [16] Braga, PC., Culici, M., Alfieri, M., 2008, Sasso MD. Thymol inhibits *Candida albicans* biofilm formation and mature biofilm. *International Journal of Antimicrobial Agents*; 31(5):401-506.
- [17] Min, BR., Barry, TN., Attwood, GT., 2003, McNabbWC. The effect of condensed tannins on the nutrition and health of ruminants fed fresh temperate forage: a review. *J food chem*; 9(1): 76-81.
- [18] Engineering Department, Engineering Faculty, Ege University, 35100 Bornova/Izmir, Turkey Received 17 October 2011; Accepted 19 December.
- [19] Dale, K MR., Schnell, G., Wong, PJ., 2004, Therapeutic efficacy of "Nubiotics" against burn wound infection by *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*; 48 (8): 2918-23.
- [20] Department, Engineering Faculty, Ege University, 35100 Bornova/Izmir, Turkey Received 17 October 2011; Accepted 19 December .
- [21] El-Badry, AA., Al-Ali KH., El-Badry, YA., 2010, Activity of *Mentha longifolia* and *Ocimum basilicum* against *Entamoeba histolytica* and *Giardia duodenalis*. *Sci Parasitol*;11:109-17.
- [22] Farhan, S., Faraj, M., Al-Shemari, H., Jassim, A., 2012, Study of Some *Urtica dioica* L. Leaves Components and Effect of Their Extracts on Growth of Pathogenic Bacteria and Identify of Some Flavonoids by HPLC. Vol. 23, No 3.
- [23] Farzami, B., Ahmadvand, D., Vardasbi, S., Majin, FJ., Khagani, Sh., 2003, Induction of insulin secretion by a component of *Urtica dioica* leave extract in perfused Islets of Langerhans and its in vivo effects in normal and streptozotocin diabetic rats. *J Ethnopharmacol*;89(1):47-53.
- [24] Janssen, AM, and Scheffer, JJ., 1985, *Planta Med*; 51: 507 (Abstract).
- [25] Hafedh, H., Fethi, BA., Mejd, S., Emira, N., Amina, B., 2010, Effect of *Mentha longifolia* L. ssp *longifolia* essential oil on the morphology of four pathogenic bacteria visualized by atomic force microscopy. *Afr J Microbiol Res*;4:1122-7.
- [26] Hajlaoui, H., Trabelsi, N., Noumi, E., Snoussi, M., Fallah, H., Ksouri, R., 2009, et al. Biological activities of the essential oils and methanol extract of tow cultivated mint species (*Mentha longifolia* and *Mentha pulegium*) used in the Tunisian folkloric medicine. *World J Microbiol Biotechnol*;25:2227-38.
- [27] Hayouni, El., Abedrabba, M., Bouix, M, and Hamdi, M., 2007, The effects of solvents and extraction method on the

- [46] Al-Katma, MK., Bissada, NF., Bordeaux, JM., Sue, J., Askari, AD., 2007, Control of periodontal infection reduces the severity of active rheumatoid arthritis. *J Clin Rheumatol* 13:134-137. [PubMed]
- [47] Arce, RM., Barros, SP., Wacker, B., Peters, B., Moss, K., Offenbacher, S., 2009, Increased TLR  $\alpha$  expression in murine placentas after oral infection with periodontal pathogens. *Placenta* 30: 162-156. [PMC free article] [PubMed]
- [48] Arce, RM., Diaz, PI., Barros, SP., Galloway, P., Bobetsis, Y., Threadgill, D., 2010, et al. Characterization of the invasive and inflammatory traits of oral *Campylobacter rectus* in a murine model of fetoplacental growth restriction and in trophoblast cultures. *J Reprod Immunol* 84: 153-145. [PMC free article] [PubMed]
- [49] Arce, RM., Caron, KM., Barros, SP., Offenbacher, S., 2012, Toll-like receptor mediates intrauterine growth restriction after systemic *Campylobacter rectus* infection in mice. *Mol Oral Microbiol* 27: 373-381. [PMC free article] [PubMed]
- [50] Belanger, M., Reyes, L., von Deneen, K., Reinhard, MK., Progulske-Fox, A., Brown, MB., 2008, Colonization of maternal and fetal tissues by *Porphyromonas gingivalis* is strain-dependent in a rodent animal model. *Am J Obstet Gynecol* 7: 186-199. [PubMed]