

بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره الکلی گیاه *Teucrium polium L*. روی باکتری‌های گرم مثبت و منفی

مریم تیموری^۱

تاریخ دریافت: ۹۰/۷/۱۴

تاریخ پذیرش: ۹۰/۱۱/۲۵

چکیده

با افزایش روز افزون مصرف گیاهان داروئی در درمان طبی، این شاخه از طب مکمل، جایگاه ویژه‌ای در درمان بیماری‌ها پیدا کرده است. هدف از این مطالعه بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره الکلی گیاه *Teucrium polium* روی چهار سویه مرجع از (PTCC ۱۴۵۴) استافیلوکوکوس اورئوس^۲، (PTCC ۱۴۴۷) باسیلوس سوبتیلیس^۳، (PTCC ۱۳۳۵) اشرشیاکولی^۴ و کلبسیلا پونومونیا^۵ می‌باشد. اندام‌های هوایی گیاهان فوق در زمان گلدهی از شهرستان ساوه واقع در استان تهران جمع‌آوری و عصاره‌گیری به روش سوکسله و حلال‌های متانول ۸۰ درصد و آب انجام شد. بررسی اثرات ضد میکروبی به روش انتشار دیسک انجام شد. غلظت‌های معینی از عصاره این گیاه‌دارای اثرات ضد میکروبی مؤثری روی باکتری‌ها بودند و تأثیر و عصاره‌ها با کم شدن غلظت آنها کم می‌شود عصاره گیاه *Teucrium polium* بر باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سوبتیلیس اثر داشت. هم‌چنین این عصاره تنها در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بر کلبسیلا پونومونیا مؤثر بود و بر روی باکتری اشرشیاکولی اثری نداشت. علی‌رغم تأثیر برخی از غلظت‌های عصاره‌های گیاهی بر باکتری‌ها، برای معرفی آنها به عنوان جایگزین داروهای ضد میکروبی، به بررسی‌های وسیع‌تری نیاز است. کلمات کلیدی: اثرات ضد میکروبی، کلپوره، استافیلوکوکوس اورئوس، عصاره.

E - mail: nazaninteimori@yahoo. com

۱. عضو هیات علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد رودهن

2. Staphylococcus Aureus

3. Bacillus Subtilis

4. Escherichia Coli

5. Klebsiella Pneumoniae

مقدمه

اسانس‌ها و عصاره‌ها می‌توانند به عنوان منبع غنی جهت تهیه گیاهان دارویی و به عنوان نگه‌دارنده و آنتی‌اکسیدان در فرآورده‌های غذایی، دارویی و محصولات آرایشی و بهداشتی مطرح باشند و به نظر می‌رسد که در آینده به دلیل ایمنی بالاتر، به طور کلی ترکیبات طبیعی مانند این نوع ترکیبات جایگزین سایر عوامل شیمیایی شوند (۱، ۲). جنس *Teucrium* از خانواده نعنائیان با بیش از ۳۴۰ گونه در سراسر جهان انتشار وسیعی دارد. نام فارسی آن در ایران مریم نخودی و شامل ۱۲ گونه علفی، بوته‌ای می‌باشد که سه گونه انحصاری ایران است (۳). کلپوره گیاهی پایا، علفی و پر شاخه به ارتفاع ۳۵-۱۰ cm و دارای ظاهری سفید پنبه‌ای که به طور معمول در نواحی بایر، سواحل سنگلاخی و ماسه زارهای نواحی مختلف اروپا، منطقه مدیترانه، شمال آفریقا و جنوب غربی آسیا از جمله ایران می‌روید. در نواحی کوهستانی البرز تا ارتفاعات ۱۵۰۰ متری نیز دیده می‌شود. برگ‌های آن باریک، دراز پوشیده از کرک‌های پنبه‌ای در هر سطح پهنک است گل‌هایی متفاوت به رنگ‌های سفید، سفید مایل به زرد و یا زرد و حتی ارغوانی دارد که این حالت متغییر بوده نه تنها در رنگ گل بلکه در وضع ساقه گیاه که به صورت پریشت و پر شاخه و یا به حالت خوابیده در می‌آید نیز دیده می‌شود. زمان گل دادن به تناسب شرایط محیط زندگی بین خرداد و مرداد است. زنبور عسل به علت وجود نوش در گل‌های آن، به سمت گیاه جذب می‌شود. قسمت مورد استفاده گیاه سر شاخه‌های گلدار آن است (۴ و ۵) اثر مقوی و ضد تشنج داشته و مصرف آن را برای رفع بیماری‌های دستگاه تناسلی - ادراری و تأخیر یا عدم قاعدگی مفید می‌دانند (۶). بیش از ۲۰۰۰ سال است که گونه‌های مختلف *Teucrium* به عنوان گیاه داروئی شناخته شده و اثرات ضد تشنج، ضد التهاب، ضد درد، تب بر، التیام دهنده زخم در آن‌ها شناسایی شده است. در طب سنتی کشورمان گونه‌هایی نظیر *T. polium* به عنوان ضد عفونی کننده، درمان دیابت، ضد اسپاسم، تب بر و ضد التهابی استفاده

می‌شود. در بررسی‌های انجام شده بر روی گیاه کلپوره مشخص شده که این گیاه حاوی مقادیری تانن، تریونئیدها، ساپونین، استرول، فلاونوئید، گلیکوزید، آلفا و بتا پینن و لوکوآنتوسیانین است (۷، ۵). و همچنین دارای اثرات آنتی‌باکتریال بوده و در برخی از نقاط ایران به صورت سنتی برای رفع درد قلب مصرف می‌شود. اثرات پایین آورنده کلسترول و تری گلیسرید سرم (۸) و کاهش فشار خون نیز برای این گیاه گزارش شده است (۸). مصرف داروئی گیاه کلپوره از زمان‌های بسیار قدیم شناخته شده است. در سال‌های اخیرنژاد اثرات ضد دیابت، ضد چربی زیاد خون، ضد میکروبی قوی و ضد التهاب آن گزارش شده است (۸). و در سال‌های اخیر علاقه زیادی جهت بکارگیری عصاره و اسانس این گیاه برای بهبود ماندگاری مواد غذایی، تأخیر رشد قارچها و باکتری‌ها و جلوگیری از تولید سموم قارچی به وجود آمده است (۹، ۱۰، ۱۱، ۱۲، ۱۳ و ۱۴) به طوری که بعضی از گونه‌های این جنس بطور وسیعی در تهیه داروهای محلی در جهان به جهت دارا بودن خواص ضد اسپاسمی، ضد التهابی، مقوی و ضد میکروبی استفاده می‌شوند (۱۵ و ۱۲). و مطالعات زیادی روی خاصیت ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی این جنس گزارش شده است (۲۲) و ۲۱ و ۲۰ و ۱۹ و ۱۸ و ۱۷ و ۱۶ و ۱۵). با توجه به دارا بودن خاصیت ضد میکروبی گیاه کلپوره در این مطالعه اثرات عصاره متانولی گیاه *Teucrium polium* L روی برخی از باکتری‌های گرم مثبت و منفی بررسی شد.

جمع‌آوری گیاه و عصاره گیری: جمع‌آوری گیاه در تیر ماه ۱۳۸۹ از شهرستان ساوه واقع در استان تهران صورت گرفت و به وسیله گیاه شناس دانشگاه شهید باهنر کرمان شناسایی و نگهداری شد. عصاره گیری از گیاه با استفاده از روش سوکسله و حلال‌های متانول ۸۰ درصد و آب انجام شد. به طوری که ۲۰g از اندام‌های هوایی گیاه را به وسیله آسیاب پودر کرده و به آن ۴۰۰ ml میلی لیتر حلال‌های متانول ۸۰ درصد در داخل یک ارلن اضافه کرده و در پایان حلال توسط دستگاه *Rotavaapor* از عصاره جدا شد عمل عصاره گیری ۴h به طول انجامید.

مواد و روش کار

به منظور بررسی اثرات ضد میکروبی، ۴ غلظت $100, 75, 50, 25$ mg/ml از عصاره گیاه *Teucrium polium* تهیه شد. بدین منظور مقدار مناسبی از عصاره خشک گیاه را پس از تورین دقیق با ترازوی دیجیتال در حلال دی متیل سولفو کسامید ($DMSO^1$) حل کرده و سپس از آن جهت بررسی اثرات ضد میکروبی گیاه استفاده شد (۱۷). میکرو ارگانسیم‌های مورد مطالعه شامل: (PTCC ۱۴۵۴) استافیلوکوکوس اورئوس، (PTCC ۱۴۴۷) باسیلوس سوبتیلیس (PTCC ۱۳۳۵) اشرشیاکولی و کلبسیلا پونومونیا استفاده شد. میکرو ارگانسیم‌های مورد نظر از آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشکده داروسازی دانشگاه تهران تهیه شدند. جهت بررسی اثرات ضد میکروبی از روش دیسک دیفیوژن Kirby-Bauer antibiotic testing (KB testing or disk diffusion antibiotic sensitivity testing) استفاده شد (۱۸، ۹). باکتری‌های مورد آزمایش را در محیط کشت جامد تریپتیکس سوی آگار به مدت ۲۴ h کشت داده، سپس به وسیله لوپ از کلنی هر کدام از باکتری‌ها برداشته و در یک لوله آزمایش استریل حاوی ۵ ml سرم فیزیولوژی استریل کاملاً مخلوط کرده به طوری که سوسپانسیون کاملاً یکنواختی از باکتری مورد آزمایش به دست آید. این لوله به مدت ۳۰ min در دمای $37^{\circ}C$ درجه سانتی‌گراد گرمخانه گذاری شد تا کدورتی مشابه لوله استاندارد ۰/۵ مک فارلند ایجاد نماید. توسط سوآپ استریل از لوله حاوی سوسپانسیون باکتری مقداری برداشته و روی پلیت حاوی محیط کشت مولر هینتون آگار کشت داده و دیسک‌های حاوی غلظت‌های متفاوت عصاره را با فواصل مناسب روی پلیت‌ها قرار داده شد. سپس پلیت‌های دیسک گذاری شده به مدت ۲۴ h در دمای $37^{\circ}C$ درجه سانتی‌گراد در گرمخانه قرار داده شدند تا میکرو ارگانسیم‌ها رشد کنند. و در نهایت قطر هاله‌های عدم رشد ایجاد شده در اطراف دیسک‌ها با خط کش اندازه گیری شد. در این آزمایش از دیسک آنتی‌بیوتیک جنتامایسین و کلرامفنیکل به عنوان شاهد مثبت و دیسک حاوی دی متیل سولفو کسامید ($DMSO^1$)

به عنوان شاهد منفی استفاده شد.

نتایج

در این مطالعه تأثیر عصاره گیاه *Teucrium polium* با غلظت‌های (mg/ml) ۱۰۰، ۷۵، ۵۰، ۲۵ به روش انتشار دیسک بر روی سوی‌های (PTCC ۱۴۵۴) استافیلوکوکوس اورئوس، (PTCC ۱۴۴۷) باسیلوس سوبتیلیس، (PTCC ۱۳۳۵) اشرشیاکولی و کلبسیلا پونومونیا بررسی شد. نتایج نشان داد که گیاه فوق‌دارای اثرات ضد میکروبی می‌باشد به طوری که همراه با افزایش غلظت عصاره قطر هاله عدم رشد اطراف میکرو ارگانسیم‌ها نیز افزایش می‌یابد. میانگین قطر هاله‌های عدم رشد سویه‌های مورد مطالعه در برابر غلظت‌های مختلف عصاره متانولی گیاه *Teucrium polium* و قطر هاله عدم رشد سویه‌های فوق در برابر آنتی‌بیوتیک‌های به کار گرفته شده در این مطالعه جهت مقایسه در جدول ۱ آورده شده است. در بین باکتری‌های مورد آزمایش عصاره گیاه *Teucrium polium* بر باکتری‌های، باسیلوس سوبتیلیس اثر داشت. هم چنین این عصاره تنها در غلظت 100 mg/ml بر کلبسیلا پونومونیا مؤثر بود و بر روی باکتری اشرشیاکولی اثری نداشت (جدول ۱).

جدول شماره ۱- میانگین قطر هاله عدم رشد سویه‌های باکتریایی مورد مطالعه در برابر عصاره متانولی گیاه *Teucrium polium* بر حسب میلی متر

غلظت عصاره (mg/ml)	DMSO شاهد (-)	جنتامایسین	کلرامفنیکل	باکتری			
				۲۵	۵۰	۷۵	۱۰۰
۲۴	-	۲۸	۲۷	۲۲	۱۸	۱۰	استافیلوکوکوس اورئوس
۱۸	-	۲۹	۲۸	۱۶	۱۰	۸	باسیلوس سوبتیلیس
۱۱	-	۲۰	۲۲	-	-	-	کلیسیلا پنومونیا
-	-	۲۴	۲۳	-	-	-	اشرشیاکلی

-: بی اثر

: DMSO دی متیل سولفوکسامید

بحث و نتیجه گیری

در سال‌های اخیر پژوهش‌های زیادی در زمینه اثرات ضد باکتریایی گیاهان مختلف انجام گرفته است و مشخص شده که برخی از گیاهان دارای اثراتی مشابه داروهای شیمیایی یا حتی بیشتر از آن‌ها می‌باشند (۱۳). نتایج حاصل از بررسی عصاره الکلی این گیاه حاکی از این است که عصاره الکلی گیاه مذکور روی اشرشیاکولی اثر قابل ملاحظه‌ای ندارد. در حالی که اثر این عصاره بر روی باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سوبتیلیس قابل ملاحظه می‌باشد و با افزایش غلظت عصاره اثر ضد باکتریایی آن افزایش می‌یابد. هم چنین این عصاره تنها در غلظت 100 mg/ml بر کلیسیلا پنومونیا مؤثر بود. Hayouni و همکارانش در سال ۲۰۰۷ بیان کردند که باکتری‌های گرم مثبت مثل استافیلوکوکوس اورئوس با سهولت بیشتری نسبت به باکتری‌های گرم منفی مثل *Ecoli* مهار می‌شوند. این امر ممکن است به لیپوپلی ساکاریدها در غشای بیرونی باکتری‌های گرم منفی نسبت داده شود. که آنها را به عوامل خارجی مانند آنتی‌بیوتیک‌ها و شوینده‌ها مقاوم می‌سازد (۱۱). همچنین Basri و همکارانش در سال ۲۰۰۵ بیان نمودند که عصاره‌های گیاهی معمولاً بیشتر در برابر باکتری‌های گرم مثبت فعال هستند تا باکتری‌های گرم منفی (۱۲). محققان

دیگری روی اثر ضد باکتریایی گیاه *Teucrium polium* مطالعاتی انجام داده و آزمایش‌هایی به منظور بررسی اثر ضد میکروبی اسانس و عصاره گیاه فوق روی چند میکروارگانیزم انجام شد و به ماهیت ضد میکروبی گیاه پی بردند. Samec و همکاران در سال ۲۰۱۰ نشان دادند که اسانس گیاه *Teucrium arduini* روی باکتری‌های گرم مثبت مثل استافیلوکوکوس اورئوس بیشترین تأثیر مهار کنندگی داشته در صورتی که دارای هیچ گونه اثر بازدارندگی روی باکتری‌های گرم منفی نظیر *Ecoli* نمی‌باشد (۵). این نتیجه با نتایج حاصل از این تحقیق مطابقت دارد، به طوری که عصاره گیاه *Teucrium polium* از میان باکتری‌های مورد آزمایش در این مطالعه روی باکتری‌های گرم مثبت نظیر استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سوبتیلیس اثر قابل ملاحظه‌ای داشته و روی اشرشیاکلی (گرم منفی) اثری نداشت. از آنجایی که مطالعات اخیر نشان داده اثر ضد باکتریایی بعضی از داروهای گیاهی در حد و یا بیشتر از داروهای شیمیایی می‌باشد (۱۸)، امید است در آینده تحقیقات بیشتری در زمینه اثر ضد میکروبی این گیاه بر گونه‌های مختلف میکروبی انجام گیرد تا با یافتن مواد مؤثره گیاه *Teucrium polium* و فرمولاسیون آن تهیه اشکال دارویی مختلف از آن امکان پذیر و اقدامات

از داروهای گیاهی به عنوان یک جایگزین مناسب برای داروهای شیمیایی استفاده کرد.

ارزنده‌ای در جهت بهبود بیماری‌های عفونی ناشی از گونه‌های متفاوت میکروبی انجام گیرد. در مطالعه‌ای توسط Darabpour و همکاران در سال ۲۰۰۵ اثر ضد باکتریایی عصاره‌های آلی (اتانولی و متانولی) گیاه *Teucrium polium* روی تعدادی از عوامل بیماری‌زا بررسی و مشخص شد که عصاره اتانولی گیاه فوق روی باکتری باسیلوس آنتراسیس‌دارای بیشترین اثر مهارکنندگی و بر روی اشریشیاکلی و پروتئوس میرا بلیس دارای اثر بازدارندگی رشد نمی‌باشد در حالی که عصاره متانولی این گیاه بر روی *Bordetella bronchiseptica* بیشترین اثر مهارکنندگی و پروتئوس میرا بلیس و باکتریوم پیوژن‌مقاوم‌ترین گونه‌های باکتریایی در مقابل این عصاره می‌باشند (۱۴). Karaman و Asem با مطالعه روی خواص ضد میکروبی گیاه *T. leucocladum* نشان دادند که اسانس این گیاه دارای تأثیر ضد میکروبی مؤثری روی باکترهای گرم مثبت نظیر استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سوبتیلیس و قارچ کاندیدا آلبیکنز داشته در حالی که روی باکتری‌های گرم منفی مثل اشریشیاکلی و سودوموناس آئروژینوزا دارای اثر مهارتی مؤثری نمی‌باشد (۱۵). در مطالعه دیگری که توسط Ricci و همکاران در سال ۲۰۰۵ روی اثر ضد میکروبی گیاه *marum* *Teucrium* انجام گرفت مشخص شد که اسانس این گیاه دارای اثرات ضد میکروبی مؤثری به ویژه روی قارچ‌هایی نظیر *Rhizoctonia solani* و *Fusarium oxysporum* می‌باشد (۱۶). همان‌طور که مشاهده می‌شود علی‌رغم وجود گونه‌های متنوع در جنس *Teucrium* و انجام آزمون‌های ضد میکروبی بر روی آن‌ها به روش‌های مختلف، اثبات خواص ضد میکروبی گونه‌های مختلف این جنس وسیع می‌باشد. از بین چهار باکتری اشریشیاکلی بیشترین مقاومت را در برابر اثر ضد باکتریایی عصاره داشته است. و با افزایش غلظت عصاره خاصیت ضد میکروبی نیز افزایش می‌یابد و در غلظت بالا اثر ضد باکتریایی عصاره تا حدودی مشابه آنتی‌بیوتیک‌ها می‌باشد. به علت افزایش روزافزون مقاومت آنتی‌بیوتیک‌ها، اثرات و عوارض جانبی داروهای شیمیایی پیشنهاد می‌شود که

منابع

- Murray P, Baron R, P feaur EJ, Tenoyer M, Yajken FC, Robert H, Manual of clinical Microbiology. 7th Ed. Am; society for microbiology: 1999.
- Shariat Hadi S. Extraction of beneficial materials from medicine plants, identification methods and their evaluation. *Mani press*: 1998.
- Akin M, Oguz D, Saracoglu T. Antibacterial activity of essential oil from *Thymbra spicata* Var. *Spicata* L. and *Teucrium polium* (Stapf Brig). *Int. J. Pharm. Appl. Sci* 2010; 1(1): 36- 9.
- Carreiras MC, Rodring V. A chlorin containing and two 17 beta- Neo- Clerodan diterpenoids from *Teucrium polium* subspvine centrisum. *phytochem* 1989; 8(1): 1453- 1461.
- Samec D, Gruz J, Strnad M, Kremer D, Kosalec I, Grubesić RJ, Karlović K, Lucic A. Antioxidant and antimicrobial properties of *Teucrium arduini* L. (Lamiaceae) flower and leaf infusions (*Teucrium arduini* L. antioxidant capacity). *Food Chem. Toxicol* 2010; 48(1): 113- 9.
- Donata R, Daniele F, Laura Giamperi, A. B, Francesco E, Giovanni B and Massimo C. Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activity of the essential oil of *Teucrium marum* (Lamiaceae). *J. Ethnopharmacol* 2005; 98: 195- 200.
- Motamedi H, Darabpour E Seyyed Nejad S. M. Antimicrobial properties of *Teucrium polium* against some clinical pathogens. *Asian Pac. J Trop. Med* 2010; 3: 124- 27.
- Abdulkhader H, Nirmal P, Al- Saidi S, Al-Salami, A. Composition and Antimicrobial Activity of Leaf Essential Oil of *Teucrium mascatenses* Boiss. from Oman. *J. Essent. Oil Res* 2006; 90: 66- 69
- Oganesian GB, Galstyan AM, Mantsatanyan VA, Shashakov AS, Agababjan PV. Phenyl propanoid glycosided of *Teucrium polium*. *Chem. nat. compd* 1991; 27(5): 556- 559.
- Maccioni S, Baldin R, Tebano M, Cioni P. L, Flamini G. Essential oil of *Teucrium scorodonia* L. ssp. *scorodonia* from Italy. *Food Chem* 2007; 104: 1393-1395
- Hayouni El, Abedrabb M, Bouix M and Hamdi M. The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. *Food chem.* 2007; 105(3): 1126- 34.
- Basri DF, Fan SH. The potential of aqueous and acetone extracts of galls of *Quercus infectoria* and antibacterial agents. *J. pharmacol* 2005; 37(1): 26- 9
- Djabou N, Battesti M- J, Allali H, Desjober J M, Varesi L, Costa J, Muselli A. Chemical and genetic differentiation of Corsican subspecies of *Teucrium flavum* L. *Phytochem* 2011; 72: 1390- 1399
- Darabpour E, Motamedi H, Seyyed Nejad S. M. Antimicrobial properties of *Teucrium polium* against some clinical pathogens. *Asian Pacific J. Trop. Medicine* 2010; 3(2): 124- 127
- Assem M. El- Shazly, Karam T. Hussein. Chemical analysis and biological activities of the essential oil of *Teucrium leucocladum* Boiss. (Lamiaceae). *Bioch. Syst. Ecol* 2004; 32: 665-674
- Ricci, Fraternali D, Giamperi, Bucchini A, Epifano F, Burini G, Curini M. Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activity of the essential oil of *Teucrium marum* (Lamiaceae). *J. Ethnopharm* 2005; 98: 195-200
- آئینه چی، یعقوب. مفردات پزشکی و گیاهان دارویی ایران. تهران: انتشارات و چاپ دانشگاه تهران، ۱۳۷۰.
- زرگری علی. گیاهان دارویی جلد چهارم. تهران: انتشارات دانشگاه تهران، ۱۳۷۲.
- مظفریان، ولی ا... فرهنگ نامهای گیاهان ایران. تهران: فرهنگ معاصر، ۱۳۴۲.
- زرگری علی. روش شناسایی گیاهان (پیوسته گلبرگ). تهران: اشارات امیر کبیر، ۱۳۷۵.
- نیازمند سعید، نعمتی کریمویی حبیب الله، اسپرهم مریم. بررسی اثر عصاره گیاه کلپوره *Teucrium polium* (L.) بر فشار خون ضربان قلب و فشار درون بطنی خرگوش. فصلنامه گیاهان دارویی، سال نهم، ش ۳۳ (تابستان ۱۳۸۸): ۳۵-۳۱
- انصاری محمد، علیزاده علی محمد، پاک نژاد ملیحه، خانیکی محمود، نعیمی سیدمهدی. اثرات عسل گیاه کلپوره بر فرایند التیام زخم سوختگی. مجله دانشگاه علوم پزشکی بابل، دوره یازدهم، ش ۳ (زمستان ۱۳۸۸): ۱۲- ۹