

# بررسی اثر ضد باکتریایی عصاره اتانلی گیاه دارویی *Artemisia sieberi Basser* در منطقه اینچه برون شمال شرق استان گلستان

معصومه مازندرانی<sup>۱\*</sup>، عزت الله قائمی<sup>۲</sup>

۱- گروه علوم گیاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان، گرگان- ایران.  
۲- گروه باکتری شناسی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان- ایران.  
\* نویسنده مسئول: dr\_mazandarani7@yahoo.com

## Evaluation of Anti bacterial effects of ethanolic extracts of *Artemisia sieberi* from Incheborun in North east of Golestan province

Mazandarani, M.<sup>1\*</sup>, Ghaemi, E. O.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Botany, Islamic Azad University, Gorgan branch, Gorgan-Iran. <sup>2</sup>Department of Microbiology of Golestan University, Gorgan-Iran.

### Abstract

*Artemisia sieberi Basser* sub sp *sieberi* belongs to Asteraceae family is one of the most popular medicinal plant with wild distribution of stepic and semi stepic of Golestan province Turkmen healers in North Golestan province for treatment of digestive and skin infection, anti bacterial, healing wounds, gastro intestinal infection, sedative for rheumatic pain and stomachache. In this research ethanolic extract of *A. sieberi* obtained by percolation method and antibacterial screening were evaluated by disc diffusion and well methods against 11 gram positive and gram negative bacteria. *Listeria monocytogenes*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *A. calcoacetis*. *Pseudomonas aeruginosa* is most sensitive bacteria in this research, especially in well method. *P. aeruginosa* is one of the most gram negative bacteria and most sensitive from extract, but in two methods. *B. licheniformis*, *M. bovis*, *E. coli*, *Sh. dysenteria*, *Sal. typhimurium* were resistant bacteria. *Vet. J. of Islamic. Azad. Univ., Garmsar Branch. 4, 1:33-37, 2008.*

**Key words:** *Artemisia sieberi*, ethanolic extract, anti bacterial effect, Incheborun, Golestan province.

## چکیده

گیاه دارویی درمنه دشتی *sieberi Basser subsp. sieberi* *Artemisia* متعلق به تیره *Asteraceae* از گونه های ارزشمند علفه ای و دارویی رویشگاه های متفاوت استان گلستان است که از دیر باز علاوه بر ارزش علفه ای تغذیه دام، در طب سنتی مردم نواحی مختلف استان نیز از آن در درمان بیماری های عفونی گوارشی، پوستی دفع کرم وانگل، تسکین درد های روماتیسمی و شکم درد استفاده می شود. در این تحقیق سرشاخه های گلدار گیاه در مرداد ماه ۱۳۸۷ از رویشگاه طبیعی خود در منطقه اینچه برون شمال شرق استان گلستان جمع آوری و عصاره گیری به روش پرکولاسیون انجام گرفت. به منظور بررسی اثر ضد باکتریال عصاره اتانلی از دو روش دیسک و چاهک استفاده شد. نتایج اثر ضد میکروبی نشان داد که عصاره در روش چاهک از اثر ضد باکتریال بیشتری نسبت به روش دیسک برخوردار است و باکتری های *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter calcoacetis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, از حساسیت بیشتری نسبت به عصاره برخوردار بودند. مخصوصاً در روش چاهک باکتری گرم منفی *Pseudomonas aeruginosa* از حساس ترین باکتری ها نسبت به عصاره بود و در هر دو روش باکتری های *Mycobacterium bovis*, *typhimurium*, *Shigella dysenteria*, *Escherchia coli*, *Bacillus ligniformis* و *Salmonella* کاملاً مقاوم بودند. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرمسار، ۱۳۸۷، دوره ۴، شماره ۱، ۳۷-۳۳.

واژه های کلیدی: درمنه دشتی، *Artemisia sieberi*، عصاره اتانلی، اثر ضد باکتریال، اینچه برون استان گلستان.

صورت آندروژن می باشند، می توانند همواره به عنوان یک منبع بالقوه و ارزشمند جهت تولید و استخراج ترکیبات ضد میکروبی و ضد باکتریال مطرح باشند (۲).

گیاه دارویی *Artemisia sieberi Besser sub sp sieberi* نام محلی درمنه از مهمترین گونه های بوته ای دارویی است که به دلیل تنوع نیاز های اکولوژیکی و مقاومت به تنش، عرصه های وسیعی از مناطق استپی، نیمه استپی، دشت ها و نواحی کوهستانی استان گلستان را به خود اختصاص داده است که علاوه

## مقدمه

در قرن اخیر بحث عفونت های باکتریایی و مقاومت باکتری ها به آنتی بیوتیک، تهدیدی جدی برای سلامت انسان ها محسوب می شوند. لذا دست یابی به ترکیبات ضد میکروبی جدید طبیعی با کمترین عارضه جانبی موضوعی است که همواره ذهن محققان را به خود معطوف ساخته است. از آنجائی که گیاهان ناگزیر به ایجاد مکانیسم های دفاعی خالص و سنتز ترکیبات ضد میکروبی به



انجام گرفت. پس از جمع آوری سرشاخه های گلدار گیاه از منطقه اینچه برون شمال شرق استان (۱۰ متری ارتفاع از سطح دریا) در هر بار بوم دانشگاه آزاد اسلامی گرمسار، شناسایی و در شرایط آزمایشگاه خشک و پودر آن برای انجام عملیات عصاره گیری آماده شد.

آماده سازی عصاره اتانولی گیاهان: در این تحقیق به منظور عصاره گیری از اتانول ۷۰ درجه و روش پرکولاسیون استفاده شد. بدین ترتیب که ۵۰ گرم از پودر سرشاخه های گلدار را در داخل دکانتور ریخته، سپس مرحله مرحله به آن اتانول ۷۰ درجه می افزاییم. برای افزودن اتانول ابتدا آن را گرم کرده و سپس به داخل دکانتور انتقال می دهیم. افزودن اتانول را تا جایی ادامه می دهیم که حلال تمامی حجم نمونه ها را پوشش دهند و علاوه بر آن مقداری از اتانول نیز روی سطح نمونه داخل دکانتور را کاملا بپوشاند. مدت عصاره گیری در این تحقیق ۷۲ ساعت به طول انجامید. پس از آن جداسازی عصاره ها از حلال توسط دستگاه روتاری با کمک پمپ خلاء انجام گرفت (۶،۷).

رقیق سازی عصاره گیاهان و تهیه دیسک های حاوی عصاره: در این مرحله عصاره را با پروپیلن گلیکول رقیق کرده و علاوه بر عصاره خالص، غلظت های ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ از عصاره تهیه شد. سپس جهت تهیه دیسک های حاوی عصاره از دیسک های بلانک ساخت پادتن طب استفاده شد. بدین ترتیب که دیسک های بلانک را در لوله های حاوی رقت های تعیین شده از عصاره ها قرار داده و بعد از ۵ تا ۱۰ دقیقه که دیسکها را در دمای ۳۷ °C انکوبه تا کاملاً خشک شده و جهت دیسک گذاری آماده شود (۷).

سویه های باکتری های مورد مطالعه: باکتری های مورد استفاده، سویه های *Shigella dysenteriae* (PTCC1188)، *aeruginosa*، *Pseudomonas* (PTCC1430)، *Escherchia coli* (PTCC1399)، *Staphylococcus aureus* (PTCC1431)، *Bacillus licheniformis* (PTCC1015)، *Salmonella typhimurium* (ATCC1596)، *Sepidermidis faecalis* (PTCC1393)، *Proteus mirabilis* (PTCC1076)، *Enterococcus* (PTCC1318)، *Acinetobacter calcoaceticus* (PTCC1291)، *Listeria monocytogenes* (PTCC1163)، و *Mycobacterium bovis* که همگی از سازمان پژوهشهای علمی و صنعتی ایران تهیه شدند.

بررسی اثر ضد باکتریایی عصاره ها:

الف) روش دیسک دیفیوژن: ابتدا از تمام سویه های باکتریایی

بر ارزش فراوان علوفه ای، در طب سنتی مردم ترکمن منطقه اینچه برون واقع در شمال استان گلستان نیز از ارزش فراوان دارویی برخوردار است و مردم بومی ترکمن آن منطقه از پودر سرشاخه های گلدار آن به طرق مختلف در درمان بیماری های عفونی، معده، روده، اسهال، شکم درد، دفع کرم و انگل، درمان عفونت های پوستی و التیام محل گزش حشرات عفونت های قارچی لای پای انگشتان یا و همچنین کاهش دردهای روماتیسمی استفاده می کنند.

تحقیقات مشابه در مورد اثر ضد پاتوژنی گونه های *sieberi* *Artemisia herba alba* و *Artemisia* از کامفور، به عنوان مهمترین ماده موثر ضد میکروبی و ضد پاتوژنیک نام بردند (۱۱،۴). محققان از کامفور، کامفن، سینئول و بتا توجن موجود در اسانس گونه های *A. sieberi*، *Avulgaris*، *A. absinthium* به عنوان مهمترین مواد ضد پاتوژنیک و ضد باکتریال نام بردند (۸،۳).

و گزارش های دیگر حاکی از تاثیر بیولوژیکی عصاره گیاه *A. sieberi* علیه *Sitophilus granaries* و نماتد *Meloidogyne incognata* می باشد (Thao et al., 2004). در گزارشی مشابه از بتا کاربوفیلین، او ۸ - سینئول، بورئول و کامفور به عنوان مهمترین مواد موثره گیاهان *A. scoparia*، *A. capillaris*، *A. lavandulaefolium* علیه ۱۵ باکتری گرم مثبت و منفی نام بردند (۲). در قرن حاضر تحقیقات گسترده در مورد اثرات دارویی گیاهان و تولید داروهای با منشأ طبیعی و گیاهی، افق جدیدی را برای سازمان جهانی بهداشت گشوده است. بنابر این اخذ اطلاعات اتنوبوتانیکی در مورد عملکرد دارویی گیاهان در درمان سنتی بیماری های عفونی نقش ارزنده ای را در دست یابی به سر نخ های کلیدی در انجام این گونه تحقیقات دارد.

در این تحقیق به دلیل پراکنش فراوان گونه مورد مطالعه در مراتع آسینیی و نیمه استپی منطقه اینچه برون واقع در شمال شرق استان گلستان و مصارف فراوان آن در طب سنتی مردم ترکمن این منطقه در درمان بیماری های عفونی شایع، به بررسی اثر ضد باکتریایی عصاره اتانولی سرشاخه های گلدار گیاه علیه ۱۱ سویه از باکتری های گرم مثبت و منفی پرداختیم.

## مواد و روش کار

شناسایی و جمع آوری: عملیات صحرائی به منظور شناسایی رویشگاه های طبیعی گونه مورد مطالعه در بهار و تابستان ۱۳۸۷



جدول ۱- میانگین قطر هاله عدم رشد عصاره اتانولی گیاه در رقت‌های مختلف بر حسب میلی‌متر.

مقدار عصاره سویه باکتری	دیسک			چاهک		
	۱/۲	۱/۴	۱/۸	۱/۲	۱/۴	۱/۸
<i>S. aureus</i>	۱۰	۸	۷	۱۷	۱۵	۱۲
<i>S. epidermidis</i>	۱۲	۱۱/۵	۰	۱۷	۱۴	۱۲
<i>E. faecalis</i>	۰	۰	۰	۲۱	۱۹	۱۵
<i>L. monocitogenesis</i>	۲۰	۱۵	۱۲	۱۲	۱۰	۰
<i>B. lignoformis</i>	۰	۰	۰	۰	۰	۰
<i>E. coli</i>	۰	۰	۰	۰	۰	۰
<i>P. aeruginosa</i>	۱۸	۱۵	۱۰	۳۴	۲۴	۲۰
<i>Sal. typhimorium</i>	۰	۰	۰	۰	۰	۰
<i>A. calcoaseticus</i>	۲۰	۱۳	۱۰	۱۹	۱۷	۱۲
<i>Sh. dysantera</i>	۰	۰	۰	۰	۰	۰
<i>M. bovis</i>	۰	۰	۰	۰	۰	۰

اندازه نمودیم.

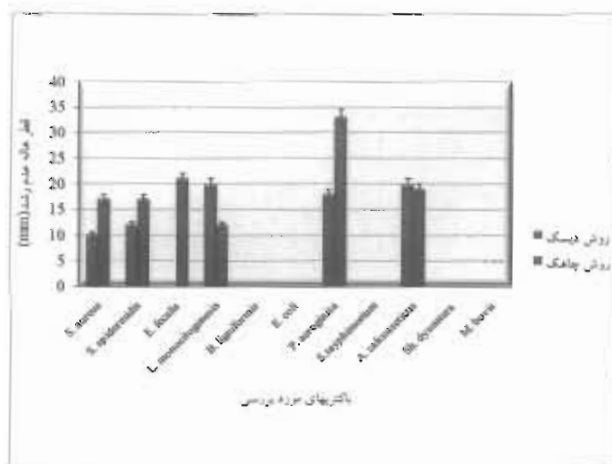
سوسپانسیون میکروبی معادل ۰/۵ مک فارلند ( $1/5 \times 10^8 \text{ cfu/ml}$ ) تهیه شد و سپس با ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون تهیه شده بر سطح محیط مولر هینتون آگار کشت یکنواخت انجام شد. آنگاه دیسک‌های بلانک استریل که حاوی رقت‌های مختلف عصاره، با فاصله معین از یکدیگر از لبه پلیت بر روی سطح محیط کشت آگار قرار داده شدند. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در  $37^\circ\text{C}$  انکوبه شده و نتایج اثر ضد باکتریایی با اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد اطراف دیسک‌ها ثبت شد. برای حصول اطمینان، این آزمایش برای هر سویه باکتری سه بار تکرار گردید و میانگین قطر هاله عدم رشد در سه بار تکرار به عنوان قطر نهایی ثبت شد (۱). قطر هاله عدم رشد کمتر از ۷ mm به عنوان مقاوم، ۷-۹ mm نسبتاً مقاوم، ۱۰-۱۲ mm نسبتاً حساس، بیشتر از ۱۲ mm حساس در نظر گرفته شد (Nostro, 2000). همچنین از دیسک حاوی پروپیلن گلیکول به عنوان کنترل منفی و از دیسک حاوی آنتی بیوتیک به عنوان کنترل مثبت استفاده گردید.

ب) روش چاهک: بعد از تهیه غلظت نیم مک فارلند از کشت ۴۸ تا ۷۲ ساعته باکتری‌ها، با استفاده از سوآپ استریل در سطح محیط کشت لوون اشتاین جانسون کشت یکنواخت باکتری‌ها انجام شد. سپس با کمک پیپت پاستور استریل یا چوب پنبه سوراخ کن، حفره‌ای به قطر ۶ تا ۷ میلی متر در محیط ایجاد نموده و ۱۰۰ میکرولیتر از رقت‌های تهیه شده از عصاره، داخل آن ریخته شد و قطر هاله عدم رشد را پس از ۴۸ تا ۷۲ ساعت با خط کش میلی متری

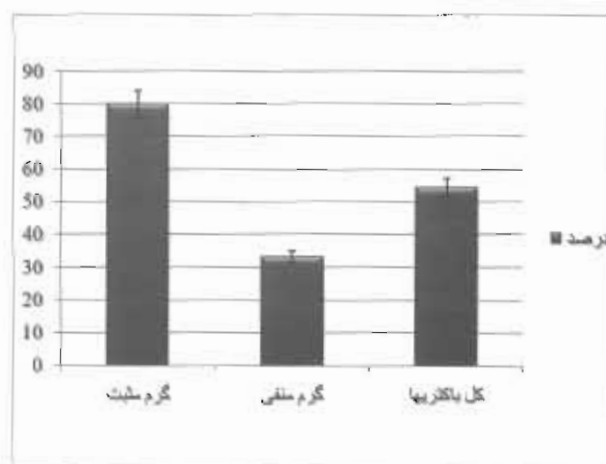
### نتایج

عملیات صحرائی فراوان در رویشگاه‌های استپی و نیمه استپی گونه مورد مطالعه در منطقه ترکمن نشین اینچه برون نشان داد که علاوه بر پراکنش وسیع در منطقه به عنوان گیاهی علوفه‌ای ارزشمند در فصول پاییز و زمستان مورد استفاده فراوان دام قرار می‌گیرد. بررسی اثر ضد باکتریال عصاره اتانولی سرشاخه‌های گیاه به دو روش دیسک و چاهک انجام گرفت و نشان داد عصاره اتانولی گیاه مخصوصاً در روش چاهک از تاثیر بیشتری علیه باکتری‌های مورد مطالعه برخوردار است و به ترتیب قطر هاله‌های عدم رشد آن علیه باکتری‌های (۳۴ میلی‌متر) *P. aeruginosa*، (۲۱ میلی‌متر) *E. faecalis*، (۱۹ میلی‌متر) *A. calcoaseticus*، (۱۷ میلی‌متر) *S. epidermidis*، (۱۷ میلی‌متر) *S. aureus* می‌باشد، اما نتوانست از رشد باکتری‌های *E. coli*، *Sal. typhimurium*، *B. licheniformis*، *Sh. dysenteria*، *M. bovis* جلوگیری نماید. در این تحقیق بیشترین حساسیت مربوط به باکتری گرم منفی *P. aeruginosa* با قطر هاله عدم رشد ۳۴ میلی متر بود ولی به ترتیب باکتری‌های *M. bovis*، *E. coli* و *B. ligniformis*، *Sh. dysantera*، *Sal. typhimorium* در هر دو روش دیسک و چاهک نسبت به عصاره مقاومت نشان دادند (جدول شماره ۱ و نمودارهای شماره ۱ و ۲).





نمودار ۲- میزان قطر هاله عدم رشد باکتریهای مورد بررسی در دو روش دیسک و چاهک



نمودار ۱- درصد حساسیت باکتریها (گرم مثبت و منفی)

مخصوصاً در روش چاهک ۲۳ میلی متر قطر هاله عدم رشد باکتری مورد نظر داشته است. ادامه این غربالگری نشان داد که کلا عصاره اتانلی سرشاخه های گلدار درمنه در منطقه اینچه برون در هر دو روش دیسک و چاهک اثر بسیار خوبی علیه رشد باکتری های گرم مثبت مخصوصاً باکتری های *Enterococcus faecalis*, *Bacillus licheniformis*, *Listeria monocytogenes*, *S. aureus*, *S. epidermidis* نشان داد.

نتایج بدست آمده در این تحقیق (in vitro) و از طرفی مصرف فراوان سنتی عصاره این گیاه توسط مردم بومی و ترکمن منطقه اینچه برون از عصاره گیاه در درمان عفونت های پوستی، گوارشی، می توان نتیجه گرفت که عصاره این گیاه از اثر درمانی خوبی علیه بیماری های عفونی برخوردار است و لازم است مطالعات وسیع تری مخصوصاً تحت شرایط in vivo و بالینی در مورد نحوه اثر بخشی عصاره آن انجام پذیرد و با استخراج مواد موثره اسانس عصاره و همچنین دوز موثر این عصاره علیه باکتری های مورد نظر و نیز فرمولاسیون آن می توان از آن به عنوان یک داروی مهم ضد میکروبی و موثر در درمان بیماری های عفونی استفاده کرد.

## References

1. Androw, J.M. (2001) BSAC Standardized disc susceptibility testing method. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 7(5):48-57.
2. Cha, J.D., Jeong, M.R., Choi, H.J. (2005) Chemical composition and anti-microbial activity of the essential oil of *Artemisia lavandulaefolia* *Biochem*, 71(6):575-577.
3. Chericoni, S., Flamini, G., Campeol, E. (2004) GC-MS analysis of the essential oil from the aerial parts of

## بحث و نتیجه گیری

درمنه دشتی با نام علمی *Artemisia sieberi* subsp. *sieberi* Besser گیاهی بوته ای، دارویی و چند ساله است با ارتفاع ۲۵ تا ۵۰ سانتی متر که به عنوان یکی از گونه های مرتعی غالب در اکثر رویشگاه های مرتعی، از دشت ها و مراتع استپی منطقه اینچه برون (۲۰ متر) تا نواحی کوهستانی ۲۲۵۰ متری شمال استان گلستان به وفور رویش دارد. معمولاً در فصول پاییز و زمستان مورد تغذیه دام های منطقه قرار می گیرد تحقیقات فراوان نشان داد که کامفور، آلفا توجن، کامفن، ساینن، او-۸- سینئول و بورنئول از مهمترین ترکیبات موثره دارویی است که به گیاه خاصیت ضد میکروبی و ضد باکتریال می دهد (Negahban et al., 2007; Orave et al., 2006). قاسمی و همکاران از کامفور، کامفن، او-۸- سینئول و بتا توجن به عنوان مهمترین مواد موثره ضد میکروبی نام بردند (۴). گزارشات مشابه دیگر حاکی از اثر ترپن های آلفا پینن، لیمونن و توجن به عنوان مکانیزم های دفاعی گیاه *A. sieberi* علیه باکتری های گرم مثبت و پاتوژن ها است و از کامفور، ژرماکرن - دی، کاروفیلین و آرتمیزیاکتون از مهمترین مواد موثره گونه های مختلف جنس *Artemisia* علیه باکتری های گرم مثبت و قارچ ها نام برده شد (۵).

مهمترین نتیجه این تحقیق حساسیت زیاد باکتری گرم منفی *P. aeruginosa* بود که از مقاوم ترین باکتری های گرم منفی به آنتی بیوتیک و امروزه یکی از چالش های مهم سازمان جهانی بهداشت در بحث بیماری های عفونی است انواع عفونت های چشم، گوش، گوارش، تنفسی، ادراری و سوختگی ها را به دنبال دارد. در این تحقیق تاثیر عصاره اتانلی سرشاخه های گلدار گیاه



- Artemisia velotiorum. J.Biochem systematic and ecology, **32**:423-429.
4. Ghasemi, E., Yamini, Y., Bahramifar, N., Sefidkon, F. (2007) J. Food Enginering, **79**:306-311.
  5. Juteau, F., Masotti, V., Bessiene, J.M., Viano, J. (2002) Compositional characteristics of essential oil of Artemisia campestris var. glutinosa. Biochem systematic and ecology, **30**:1063-1070.
  6. Kordali, S., Kotan, R., Mavi, A. (2005) Determination of the chemical composition and anti oxidant activity of the essential oil of Artemisia dracunculus and A. annuae J. Agri food chem, **30**, **53**(24):9452-9458.
  7. Mashhadian NV, Rakhshandeh H. (2005) Antibacterial and antifungal effects of Nigella sativa extracts against S. aureus, P. aeruginosa. Pak Med Sci, **21**(1):47-52.
  8. Negahban, M., Moharramipour, S., Sefidkon, F. (2007) Fumigant toxicity of essential oil from A. sieberi Besser against three stored product insects, stored product research, **43**:123-128.
  9. Nostro A, Ger MP, Angelo VD, Cannatelli MAC. (2000) Extraction method and bioautography for evaluation plant antimicrobial activity. Applied Microbiology, **15**:379-385.
  10. Orav, A., Raal, A., Arak, E., Kailas, T. (2006) Composition of essential oil of Artemisia absinthium L. of different geographical origin. Estonian Acad. Sci. Chem, **55**(3):155-165.
  11. Semnani, M., Akbarzadeh, M., Moshiri, K. (2004) Essential oil composition of Artemisia fragrance wild. From Iran. Flavour and fragrance journal, **20**: 330-331.
  12. Thao, N.T.P., Thuy, T.N., Hoi, H.M. (2004) J. Essent oil Res, **16**: 358.

