



دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهر
فصلنامه‌ی کاربرد شیمی در محیط زیست

سال دهم، شماره‌ی ۳۷
زمستان ۱۳۹۷، صفحات ۳۷-۲۷

بررسی اجزای تشکیل دهنده اسانس گیاه دارویی پنیرک (Malva sylvestris) جمع آوری شده از مشکین شهر و خاصیت آنتی باکتریال آن در مقایسه با کلرگزیدین بر روی باکتری‌های شایع عفونت دهانی

حجت اقبال

گروه فیتوشیمی، مرکز تحقیقات علوم پایه، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
Email: hojat.eg@gmail.com

ندا جهانی

گروه دندانپزشکی، شرکت دانش بنیان پژوهشگران داروی سبز، مشکین شهر، ایران
Email: nedajh1368@gmail.com

نیما محمدنژاد خیای

گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، شرکت دانش بنیان پژوهشگران داروی سبز، مشکین شهر، ایران
Email: nimanejad7@yahoo.com

مرضیه مهرزاده

گروه فارماکونوزی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران
Email: marziemehrzade@yahoo.com

چکیده

پنیرک با نام علمی *Malva sylvestris*، یکی از مهم‌ترین گیاهان مورد استفاده در صنایع داروسازی، آرایشی و بهداشتی بیش تر کشورهای توسعه یافته است. پنیرک یک ضد عفونی کننده قوی با خاصیت آنتی اکسیدانی مناسب است. برگ و گل این گیاه کاربرد وسیعی در تهیه دارو و درمان انسان در طب سنتی دارد. در این تحقیق گیاه دارویی پنیرک از منطقه اتران مشکین شهر واقع در شمال غرب ایران جمع آوری گردید. اسانس گیری توسط دستگاه کلونجر انجام و جهت تجزیه نمونه‌های اسانس و اندازه گیری دقیق ترکیبات از دستگاه‌های GC/MS و GC استفاده شد. سپس تاثیر اسانس پنیرک بر باکتری‌های شایع عفونت دهانی به دو روش بررسی قطر هاله عدم رشد (Disk deffusion) و حداقل غلظت مهار کنندگی (MIC) انجام شد. نتایج حاصل از آزمایشات ضد میکروبی اسانس گیاه دارویی پنیرک نشان داد که این گیاه، دارای اثرات مهار کنندگی قابل توجهی بر روی انواع باکتری‌های گرم منفی و مثبت می‌باشد. هم‌چنین در مقایسه قطر هاله عدم رشد پنیرک با کلرگزیدین، مشخص شد که اسانس گیاه دارویی پنیرک نتایج نسبتاً مشابهی را نسبت به دهان‌شویه کلرگزیدین از خود نشان می‌دهد. طبق یافته‌ها اسانس گیاه دارویی پنیرک آثار ضد میکروبی مناسبی علیه باکتری‌های شایع عفونت دهانی دارد. در نتیجه اسانس این گیاه با غلظت‌های مختلف، پس از انجام مطالعات تکمیل تر می‌تواند جایگزین مناسبی برای داروها و دهان‌شویه‌های شیمیایی در درمان باکتری‌های شایع عفونت دهانی باشد.

کلیدواژه: پنیرک، اسانس، GC/MS، آنتی باکتریال، کلرگزیدین.

مقدمه

گیاهان دارویی، یکی از منابع مهم تولید دارو هستند که ارزش اقتصادی و درمانی آن‌ها را در مدیریت توسعه گیاه درمانی، بیش از پیش نمایان می‌کند [۱]. پنیرک با نام علمی *Malva sylvestris* در عربی خبازی نامیده می‌شود. گیاهی است علفی، به ارتفاع تا ۶۰ سانتی‌متر و پایا به صورت خودرو، در بسیاری از نقاط می‌روید و برای مصارف کاربردی نیز کشت می‌گردد. قسمت مورد استفاده پنیرک برگ و گل می‌باشند. البته در اکثر نواحی، گل پنیرک مورد استفاده قرار می‌گیرد. برگ‌ها دارای حالت دایره‌ای و دنداندار و گل‌ها، بنفش رنگ و کوچک هستند. قسمت مورد استفاده پنیرک در ایران، گل‌های بنفش رنگ خشک شده آن می‌باشد. محل رویش این گیاه در ایران، نواحی البرز، اطراف تهران، شمال غرب ایران، آذربایجان، آستارا، اصفهان، نواحی مرکزی ایران، خراسان، دامغان، سمنان، جنوب ایران، کرمان و سایر نقاط می‌باشند.

از نظر طب سنتی گیاه پنیرک را معتدل می‌دانند، اخلاط غلیظ را رقیق و اخلاط خیلی رقیق را معتدل می‌کند. سایدگی برگ آن برای شکستگی اعضاء مفید است، ترکیب آن با روغن زیتون برای سوختگی و عقرب گزیدگی مفید است، دم کرده ساقه و برگ آن با شکر، گرفتگی صدا را برطرف می‌سازد [۲].

در درمان التهاب‌های تنفسی و جوش‌های پوستی کاربرد دارد، دارای ویتامین A و B و C است و در درمان بیماری‌های کلیه و مثانه بسیار مؤثر است، ضدسرفه و مرهم سینه است.

مهم‌ترین اثرات گزارش شده پنیرک عبارتند از: ضد درد، ضد التهاب، ضد عفونی‌کننده، قابض، ملین، ادرار آور، خلط‌آور و مقوی رحم.

مقاومت‌های دارویی روزافزون و بنابراین افزایش دز مصرفی داروهای متداول و به دنبال آن افزایش عوارض جانبی اثر داروها، موجب شده است تا امروزه بیش‌ترین

توجه به عواملی با پایه طبیعی مانند گیاهان دارویی با عوارض جانبی بسیار کم‌تر معطوف شود [۳،۴،۵]. بر این اساس سعی شده است تا اثر ضد میکروبی اسانس پنیرک مورد مطالعه قرار گیرد و این خود مقدمه‌ای جهت مطالعات بعدی و زیربنایی برای امکان کاربرد آن بعنوان یک داروی ضد میکروب مستقل یا همراه با دیگر ترکیبات ضد میکروبی می‌باشد.

در تحقیق حاضر، نقش اسانس پنیرک بعنوان یک گیاه دارویی مهم بر علیه باکتری‌های عامل عفونت دهان، مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه از کلر هگزیدین که اثرات ضد میکروبی دارد و به عنوان دهان‌شوویه استفاده می‌شود، برای مقایسه عملکرد ضد میکروبی اسانس استفاده شد.

مواد و روش‌ها**- جمع‌آوری و شناسایی گیاه**

پس از انتخاب منطقه که انزان در بخش مشکین غربی شهرستان مشکین شهر واقع در شمال غرب ایران بود، در فصل بهار، زمان رویش و گل‌دهی جهت جمع‌آوری گیاه به محل مورد نظر مراجعه شد. تعداد سه جمعیت به‌طور تصادفی از محل جمع‌آوری گردید. در هنگام جمع‌آوری اندام مورد مصرف که شامل سرشاخه‌ها با گل همراه برگ بود، از بقیه قسمت‌های گیاه توسط دست جدا گردید و شماره‌گذاری شد. پس از انتقال نمونه‌های جمع‌آوری شده به آزمایشگاه تحقیقات گیاهان دارویی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اردبیل و با استناد به کلیدهای گیاه‌شناسی و فلور ایران و منابع موجود و تأیید متخصصین گیاه‌شناسی شناسایی شد.

- تمیز و خشک کردن

پس از جمع‌آوری و شناسایی گیاه مورد نظر، اندام‌های هوایی گیاه تمیز شده و در شرایط سایه در گرمخانه مجهز به تهویه، در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد، خشکانده شدند.

- آسیاب، الک و توزین کردن

بعد از خشک شدن، به وسیله دستگاه آسیاب مدل مولینکس ساخت کشور اسپانیا اقدام به خرد کردن اندام‌های گیاه مورد نظر در قطعات ریز گردید. پس از الک کردن بوسیله الک آزمایشگاهی پارس (Testsieve-Mesh No.) یک گرم از هر کدام با ترازوی دیجیتال مدل ساتریوس (Sartorius) ساخت کشور آلمان با دقت 0.001 g توزین شدند.

- خصوصیات جغرافیایی

هنگام جمع‌آوری گیاه در محل، مختصات جغرافیایی شامل طول و عرض جغرافیایی و ارتفاع محل توسط دستگاه موقعیت‌سنج جغرافیایی مدل گارمین ویستا (Garmin Vista GPS) ثبت گردید.

- روش بررسی فیتوشیمیایی گیاه

اسانس گیاه (۵۰ گرم) به روش تقطیر با آب به کمک دستگاه اسانس‌گیری تیپ کلونجر استخراج گردید (سه بار مجزا) و پس از آب‌گیری توسط سولفات سدیم بدون آب تا زمان آنالیز در ظرف شیشه‌ای تیره در دمای یخچال نگهداری شد.

- آنالیز اسانس

برای شناسایی اجزای تشکیل دهنده اسانس از روش‌های تجزیه‌ای GC/MS و GC/FID استفاده شد. برای آنالیز GC/FID از دستگاه گاز کروماتوگراف HP-6890 با ستون موین DB-5 (به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت فیلم ۰/۲۵ میکرومتر) مجهز به دتکتور FID استفاده گردید. حرارت اجاق از ۵۰ تا ۲۶۵ درجه سانتی‌گراد با گرادیان حرارتی $2/5^{\circ}\text{C/ml}$ برنامه‌ریزی شد. سایر شرایط آنالیز عبارت بود از: گاز حامل N_2 با سرعت $1/5^{\circ}\text{C/ml}$ ، دمای محفظه تزریق ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد، دمای دتکتور ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد، نسبت اسپیلیت ۱:۱۰ و حجم

تزریق ۰/۱ میکرولیتر، جهت آنالیز GC/MS از دستگاه GC مدل Thermoquest 2000 متصل به طیف نگار جرمی مدل Thermofinnigan Mass مجهز به ستون موین DB-1 (به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت فیلم ۰/۲۵ میکرومتر) استفاده شد. شرایط آنالیز مشابه شرایط آنالیز GC/FID بود با این تفاوت که از گاز حامل He به- عنوان حامل استفاده گردید. ولتاژ یونیزاسیون 70eV بود و محدوده جرمی جهت ردیابی ۳۵-۳۵۰ amu تنظیم گردید.

درصد نسبی هر یک از ترکیبات با توجه به سطح زیر منحنی هر ترکیب در طیف کروماتوگراف گازی (GC/FID) محاسبه گردید.

شناسایی اجزا با کمک پارامتراندیس بازداري و طیف‌های جرمی و مقایسه آن‌ها با ترکیبات استاندارد و اطلاعات موجود در بانک اطلاعات جرمی و مقایسه آن‌ها با ترکیبات استاندارد و اطلاعات موجود در بانک اطلاعات جرمی Wiley275.L صورت گرفت [۶].

به‌منظور تعیین میزان اسانس در گیاه، مقدار ۵۰ گرم از سرشاخه خشک شده به صورت تصادفی انتخاب شد. هر نمونه بعد از آسیاب شدن، به درون یک بالن یک لیتری ریخته شد و مقدار ۳۰۰ میلی لیتر آب به آن اضافه شد. سپس به مدت ۴ ساعت، با استفاده از روش تقطیر با آب به- وسیله دستگاه کلونجر (Clevenger)، اسانس‌گیری صورت گرفت. اسانس به‌دست آمده توسط سولفات سدیم بدون آب، آب‌گیری شد و در نهایت، درصد و عملکرد اسانس تعیین شد. اسانس مورد نظر پس از آماده‌سازی به دستگاه گاز کروماتوگرافی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC/MS) تزریق شد.

شناسایی نوع ترکیبات اسانس با کمک طیف نرمال آلکان‌ها و به‌دست آوردن شاخص بازداري آن‌ها و مقایسه آن با شاخص بازداري گزارش شده در کتاب Adams و مقایسه طیف جرمی هر یک از اجزای اسانس با طیف جرمی

استرپتوکوکوس سویرینوس، کلبسیلا نمونیه، اشیشیا کلی، سودوموناس آئروژینوزا و ایکنلا کوردنس می‌باشند.

- تهیه دیسک‌های حاوی اسانس

در این آزمایش دیسک‌های استریل با غلظت ۱۰۰ mg/ml از اسانس تهیه شد، جهت تهیه دیسک‌های حاوی اسانس، از دیسک‌های بلاتک ساخت پادتن طب استفاده شد. بدین ترتیب که دیسک‌های بلاتک را در لوله‌های حاوی رقت‌های تعیین شده اسانس 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.

- بررسی فعالیت ضد میکروبی

جهت بررسی فعالیت‌های ضد میکروبی اسانس گیاه دارویی پنیرک از روش بررسی قطر هاله عدم رشد (Diskdiffusion) و حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) استفاده شد.

جهت انجام این آزمایش باکتری‌های مورد مطالعه روی محیط کشت Tryptic Soy Broth جهت تکثیر اولیه کشت داده شدند، از محیط کشت مولر هینتون آگار برای داشتن تک کلنی و از روش‌های انتشار دیسک و حداقل غلظت مهارکنندگی رشد باکتری (MIC) جهت تعیین حساسیت باکتریایی استفاده شد. در روش Disk diffusion از باکتری‌هایی که در محیط کشت رشد کرده‌اند، سوسپانسیونی در سرم فیزیولوژیک به تعداد 3×10^8 باکتری در میلی‌لیتر تهیه شد.

سپس ۵۰ میکرولیتر از این سوسپانسیون را روی محیط مولر هینتون آگار حاوی ۵ درصد خون تلقیح گردید. سپس دیسک‌های تهیه شده را روی پلیت قرار داده شد و به مدت دو روز در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. سپس پلیت‌ها را از نظر وجود هاله عدم رشد بررسی گردید. از دیسک‌های استاندارد آموکسی‌سیلین به منظور کنترل مثبت استفاده شد. با اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد

موجود در کتابخانه Willy نرم‌افزار GC/MS انجام پذیرفت. همچنین با استفاده از دستگاه GC درصد ترکیبات اسانس تعیین شد [۶-۷-۸].

- مشخصات دستگاه GC/MS

دستگاه GC از مدل Agilent 6890 و دستگاه MS از مدل Agilent 5973 با ستونی به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی بود و ضخامت لایه ۰/۲۵ میکرومتر از مدل HP-MS ۵ بود. برنامه دمایی آن به این صورت تنظیم شد که دمای ابتدایی آن ۵۰ درجه سانتی‌گراد و توقف در این دما به مدت ۵ دقیقه، دمای انتهایی ۲۴۰ درجه سانتی‌گراد و گرادیان حرارتی ۳ درجه سانتی‌گراد در هر دقیقه، افزایش دما تا ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۱۵ درجه در هر دقیقه و سه دقیقه توقف در این دما بود.

دمای اتاقک تزریق ۲۹۰ درجه سانتی‌گراد بود و از گاز هلیوم به عنوان گاز حامل با سرعت جریان ۰/۸ میلی‌لیتر در دقیقه استفاده شد. طیف‌نگار جرمی مورد استفاده مدل Agilent ۵۹۷۳ با ولتاژ یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت، روش یونیزاسیون EI و دمای منبع یونیزاسیون ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد بود.

- تعیین غلظت اسانس پنیرک

برای تعیین غلظت اسانس، به مقدار یک میلی‌لیتر از اسانس در داخل ظرفی از قبل توزین شده ریخته و پس از طی ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد و خشک شدن اسانس، وزن آن مجدداً تعیین شد. میانگین سه بار تکرار آزمایش به عنوان وزن خشک اسانس در نظر گرفته شد و غلظت آن در میلی‌لیتر محاسبه شد.

- سویه‌های باکتریایی

در این مطالعه تاثیر اسانس گیاه دارویی پنیرک بر باکتری‌های شایع عفونت دهانی که از مجموعه باکتری‌ها و قارچ‌های صنعتی و عفونی ایران تهیه شده بودند مورد بررسی قرار گرفت. این باکتری‌ها شامل: استرپتوکوکوس موتانس، استرپتوکوکوس سانگویس، استرپتوکوکوس سالیواریس،

این آزمایش در سه تکرار جداگانه انجام و میانگین سه تکرار برای هر چاهک برای تعیین کمترین غلظت بازدارنده مورد استفاده قرار گرفت.

- آنالیز آماری داده‌ها

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نسخه بیست و چهارم نرم افزار SPSS و آزمون تحلیل واریانس داده‌ها (ANOVA) انجام گرفت. مرز معنی داری در $P < 0.05$ قرار داده شد.

بحث و یافته‌ها

اسانس حاصل از پنیرک، به رنگ زرد کم‌رنگ (مایل به نارنجی) و با بوی مشخص و تند، به میزان ۰/۶ درصد بود. در اسانس گیاه دارویی پنیرک برداشت شده از منطقه انزان مشکین شهر، مواد عمده زیر شناسایی شدند (جدول ۱). با توجه به جدول ۱، اسانس گیاه دارویی پنیرک دارای ترکیبات فنلی و ضد میکروبی زیادی می‌باشد که از مهم ترین این ترکیبات می‌توان به ۲-متوکسیل-۴-وینیل فنول (ترکیب فنلی) و اوژنول (ترکیب ضد میکروبی) اشاره کرد. نتایج حاصل از آنالیز GC برای اسانس گیاه دارویی پنیرک نیز در شکل ۱ آورده شده است.

اطراف دیسک‌ها به وسیله‌ی خط کش میلی‌متری انجام شد و نتایج مورد بررسی قرار گرفت. علاوه بر روش دیسک گذاری، حساسیت هرسویه از باکتری‌های مورد نظر نسبت به اسانس به دست آمده از گیاه پنیرک با استفاده از روش رقیق‌سازی در محیط مایع در پلیت‌های ۹۶ خانه‌ای ته‌گرد مورد بررسی قرار گرفت. به‌خانه‌های ردیف اول پلیت فقط محیط کشت و سوسپانسیون باکتری اضافه گردید. در ردیف بعدی به ۶ خانه از پلیت‌ها، مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از محیط مایع مغذی مولر هیتون اضافه شد.

به چاهک اول ۱۰۰ میکرولیتر از اسانس گیاه به غلظت ۱۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر اضافه شده و تا چاهک ششم به ترتیب غلظت‌های ۲-۶-۹-۱۲-۱۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر اسانس که با روش رقیق‌سازی تهیه شده بود اضافه گردید. به هر چاهک مقدار ۲۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری معادل ۰/۵ مک‌فارلند اضافه شد. از داروی آموکسی‌سیلین برای کنترل مثبت استفاده شد محتویات هر چاهک ۲ دقیقه بوسیله دستگاه Plate Reader مجهز به تکان دهنده با هم مخلوط شده و در زمان صفر عمل طیف سنجی با طول موج ۶۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌داری شدند و کدورت و یا عدم کدورت چاهک‌ها به صورت چشمی مورد ارزیابی قرار گرفتند. اولین رقتی که توانست کم‌ترین میزان کدورت را نشان دهد به عنوان حداقل غلظت کشنده تعیین گردید.

جدول ۱- ترکیبات تشکیل دهنده اسانس گیاه دارویی پنیرک *Malva sylvestris*

ردیف	نام ترکیب	شاخص بازداری	درصد ماده موجود	ردیف	نام ترکیب	شاخص بازداری	درصد ماده موجود
۱	Hexanol	799	0.13	۷۲	Caryophyllene oxide	1582	0.12
۲	Furfural	830	0.10	۷۳	1-Hexadecene	1588	0.07
۳	(2E)- Hexanol	853	0.09	۷۴	Globulol	1591	0.22

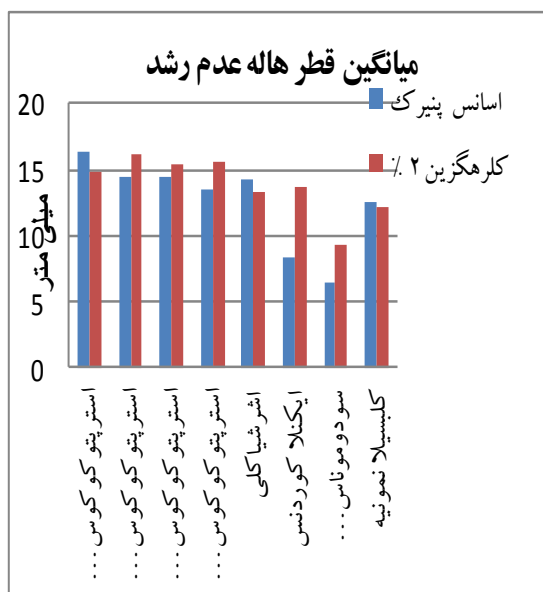
0.20	1600	Hexadecene	۷۵	0.05	958	Benzaldehyde	۴
0.12	1608	α -Humulene epoxide II	۷۶	0.93	989	2-Pentyl furan	۵
0.23	1611	β -Atlantol	۷۷	1.24	1015	Hexanoic acid	۶
0.21	1624	Megastigmatrienone	۷۸	0.17	1021	p-Cymene	۷
0.08	1627	Benzophenone	۷۹	0.36	1026	Limonene	۸
0.06	1637	Caryophylla-4(12),8(13)-dien-5 α -ol	۸۰	0.74	1042	Phenylacetaldehyde	۹
0.18	1641	epi - α - cadinol	۸۱	0.10	1056	(E)- β -ocimene	۱۰
0.16	1650	Eudesmal	۸۲	0.19	1067	2-Acetylpyrrole	۱۱
0.07	1654	t - Muurolol	۸۳	0.17	1092	(3E,5E)-Octadien-2-one	۱۲
0.08	1669	Cyclo tetradecane	۸۴	0.30	1095	1-Adamantanol	۱۳
0.09	1677	(E)- 1,2,3-trimethyl-4-propenyl-naphthalene	۸۵	0.12	1100	Linalool	۱۴
0.25	1688	Acorenone	۸۶	0.17	1102	Nonanal	۱۵
0.36	1707	2,2,5,5-tetramethylbiphenyl	۸۷	0.18	1106	2,6-Dimethyl-cyclohexanol	۱۶
0.06	1709	1-methylcyclododecene	۸۸	0.26	1114	Phenylethyl alcohol	۱۷
0.14	1720	Methyl tetradecanoate	۸۹	0.41	1119	Isophorone	۱۸
0.40	1734	9H-fluoren-9-one	۹۰	0.19	1124	3,3-dimethyl-1-butene	۱۹
0.61	1745	α -Bisabolol oxide A	۹۱	0.16	1147	Camphor	۲۰
3.1	1772	Phenanthrene	۹۲	0.37	1149	Lilac aldehyde	۲۱
0.14	1791	Tridecanoic acid	۹۳	0.07	1152	Menthone	۲۲
0.35	1811	Hexadecanal	۹۴	0.06	1158	(E)-pinocamphone	۲۳
0.20	1820	Methyl pentadecanoat	۹۵	0.21	1163	Iso- Menthone	۲۴
4.23	1842	6,10,14-trimethyl-2-pentadecanone	۹۶	0.45	1165	Borneol	۲۵
0.76	1865	Diisobutyl phthalate	۹۷	1.03	1172	Menthol	۲۶
0.26	1869	Tetradecanoic acid	۹۸	0.24	1176	Terpinen-4-ol	۲۷
0.10	1876	Hexadecanol	۹۹	0.09	1182	3-Decanone	۲۸
0.20	1883	Methyl isopalmitate	۱۰۰	0.12	1185	Cymen-8-ol	۲۹
0.37	1893	Nonadecane	۱۰۱	0.55	1190	α -terpineol	۳۰

0.61	1899	11-hexadecenoic acid methyl ester	۱۰۲	0.34	1197	Estragole	۳۱
0.50	1910	4,5 methylenephenanthrene	۱۰۳	0.09	1203	Decanal	۳۲
0.43	1914	3- methyl-2-(3,7,11-trimethyldodecyl) furan	۱۰۴	0.18	1219	β -Cyclocitral	۳۳
1.50	1921	Methyl hexadecanoate	۱۰۵	0.09	1222	Methyl nonanoate	۳۴
0.17	1943	1-methylcycloheptonal	۱۰۶	1.38	1229	2,3-Dihydro benzo furan	۳۵
0.15	1948	Cyclohexadecane	۱۰۷	0.38	1238	Cumin aldehyde	۳۶
0.55	1959	Dibutyl phthalate	۱۰۸	0.77	1243	Carvone	۳۷
10.73	1984	Hexadecanoic acid	۱۰۹	0.25	1254	Linalool acetate	۳۸
0.70	1993	Methyl heptadecanoatr	۱۱۰	0.91	1284	(E)-Anethole	۳۹
0.10	2015	16-octadecenal	۱۱۱	0.84	1292	Nonanoic acid	۴۰
0.59	2021	14-methyl-methyl ester-hexadecanoic acid	۱۱۲	1.63	1297	Ethylcarvacrol	۴۱
0.14	2026	(E,E)-Geranyl linalool	۱۱۳	0.47	1307	Carvacrol	۴۲
0.22	2035	14-methyl-8-hexadecyn-1-ol	۱۱۴	5.93	1315	2-methoxy-4-vinylphenol	۴۳
0.13	2054	Fluranthene	۱۱۵	0.10	1347	α -Terpinyl acetate	۴۴
0.08	2066	Manool	۱۱۶	0.16	1351	2,6-Dimethoxy-phenol	۴۵
0.41	2078	1-(2-Methylene-3-buanyl)-1-(methylenepropyl)-cyclopropane	۱۱۷	1.56	1358	Eugenol	۴۶
3.61	2090	(9z,12z)-octadecadienoic acid methyl ester	۱۱۸	0.24	1362	γ -Nonalactone	۴۷
1.17	2097	9,12,15-octadecadienoic acid methyl ester	۱۱۹	0.09	1373	α -Copaene	۴۸
1.98	2108	Phytol	۱۲۰	0.38	1379	Decanoic acid	۴۹
0.25	2121	Methyl octadecanoate	۱۲۱	0.05	1383	β -Damascenone	۵۰

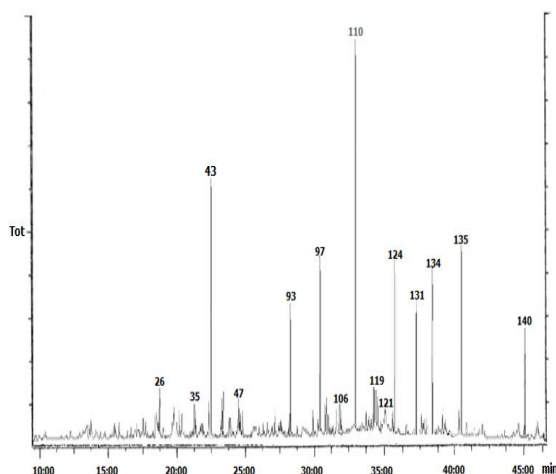
0.47	2129	(E)-Isoeugenyl benzyl ether	۱۲۲	0.06	1403	Mrthyl eugenol	۵۱
3.36	2148	Linoleic acid	۱۲۳	0.43	1415	endo-Arbozol	۵۲
0.32	2156	Linoleic acid ethyl ester	۱۲۴	0.05	1417	β -Caryophyllene	۵۳
0.50	2152	Mandenol	۱۲۵	0.22	1427	β -Cobebene	۵۴
0.30	2184	Methyl maleate	۱۲۶	0.06	1433	(E)- α - Bergamotene	۵۵
0.19	2200	Docosane	۱۲۷	0.09	1451	α -Humulene	۵۶
0.74	2213	Oleic acide	۱۲۸	0.62	1454	(E)- β -Farnesene	۵۷
0.09	2264	1-Nonadecene	۱۲۹	0.11	1458	Aromadendrene	۵۸
3.17	2300	Tricosane	۱۳۰	0.05	1461	epi- β - Caryophyllene	۵۹
0.05	2321	Methyl eicosanoate	۱۳۱	0.07	1474	(Z)-Muuroala-4 (14),5-diene	۶۰
0.35	2346	4,8,12-Trimethyltridecan-4-olide	۱۳۲	0.44	1480	ar-Curcumene	۶۱
4.23	2366	3,8-dimethyldecane	۱۳۳	0.65	1484	(E)- β -Ionone	۶۲
5.18	2494	Pentacosane	۱۳۴	0.06	1493	β -Selinene	۶۳
0.07	2541	Octyl isodecyl phthalate	۱۳۵	0.40	1495	Pentadecane	۶۴
0.10	2546	1-Nonadecanol	۱۳۶	0.18	1498	α -Muurolene	۶۵
0.23	2563	6-propyltridecane	۱۳۷	0.27	1506	β -Bisabolene	۶۶
0.27	2624	1,21-Docosadiene	۱۳۸	0.14	1521	a - Cadinene	۶۷
3.12	2700	Heptacosane	۱۳۹	0.27	1529	Dihydroactinolide	۶۸
0.43	2739	(12Z)-pentacosane	۱۴۰	0.07	1542	α -Calacorene	۶۹
0.10	2800	Octacosane	۱۴۱	0.13	1561	Geranyl butanoate	۷۰
0.15	2900	nonacosane	۱۴۲	0.16	1572	Dodecanoic acid	۷۱

کلرگزین، مشخص شد که اسانس گیاه دارویی پنیرک نتایج نسبتاً مشابهی را نسبت به دهان شویه کلرگزین از خود نشان می‌دهد.

نتایج حاصل از حداقل غلظت مهارکنندگی اسانس گیاه دارویی پنیرک (جدول ۲) نشان داد که باکتری‌های استرپتوکوکوس موتانس، استرپتوکوکوس سانگویس، اشرشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه بیشترین حساسیت را نسبت به اسانس مورد مطالعه از خود نشان دادند. همچنین می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که اثرات مهارکنندگی اسانس این گیاه بر روی باکتری‌های گرم مثبت (استرپتوکوکوس موتانس و استرپتوکوکوس سانگویس) بیش‌تر از باکتری‌های گرم منفی (سودوموناس آنروژینوزا) می‌باشد.



شکل ۲: نتایج حاصل از میانگین قطر هاله عدم رشد اسانس پنیرک علیه باکتری‌های جدا شده از بیماران بر حسب میلی‌متر در سه تکرار



شکل ۱: کروماتوگرام GC اسانس گیاه دارویی پنیرک Malva sylvestris

نتایج حاصل از آزمایشات ضد میکروبی در شکل ۲ و مقادیر MIC اسانس گیاه دارویی پنیرک بر باکتری‌های عامل عفونت دهانی در جدول ۲ نمایش داده شده است. پس از انجام آزمون آنتی‌باکتریال مشخص گردید که اسانس گیاه دارویی پنیرک دارای اثرات مهارکنندگی قابل توجهی بر روی انواع باکتری‌های گرم منفی و مثبت می‌باشد. نتایج حاصل از آنالیز آماری نشان داد در مورد اسانس گیاه پنیرک، اختلاف معناداری در میزان هاله عدم رشد در باکتری‌های مورد مطالعه مشاهده گردید ($P < 0.05$), که نشان دهنده این است که اسانس گیاه پنیرک بر روی باکتری‌های مختلف اثر مهارکنندگی متفاوتی دارد.

در بررسی اثر اسانس گیاهی بر قطر ممانعت از رشد باکتری‌ها مشخص شد که بیش‌ترین قطر هاله ممانعت از رشد توسط اسانس گیاه دارویی پنیرک مربوط به استرپتوکوکوس موتانس با قطر هاله‌ی ۱۶/۴ میلی‌متر و پس از آن استرپتوکوکوس سانگویس با قطر هاله‌ی ۱۴/۵ میلی‌متر و کم‌ترین قطر هاله عدم رشد مربوط به باکتری سودوموناس آنروژینوزا با ایجاد هاله‌ی ۶/۴ میلی‌متری می‌باشد. همچنین در مقایسه قطر هاله عدم رشد پنیرک با

جدول ۲- مقادیر MIC اسانس گیاه دارویی پنیرک بر باکتری‌های عامل عفونت دهانی

Mg/ml	میکروب‌های مورد آزمایش	ردیف
۲±۱	استرپتوکوکوس موتانس	۱
۲±۱	استرپتوکوکوس سانگویس	۲
۶±۱	استرپتوکوکوس سالیواریس	۳
۶±۱	استرپتوکوکوس سوپرینوس	۴
۲±۱	اشرشیاکلی	۵
۶±۱	ایکنلا کوردنس	۶
۹±۱	سودوموناس آنروژینوزا	۷
۲±۱	کلبسیلا پنومونیه	۸

های ضدباکتریایی چندین گیاه از جمله پنیرک را بر روی باکتری‌های گرم مثبت و منفی بررسی نمودند. مطالعات آن-ها نشان داد که این گیاهان دارای خواص آنتی باکتریال به ویژه در برابر باکتری اشرشیا کلی می‌باشند. این یافته‌ها نیز با نتایج به دست آمده از در مطالعه حاضر همخوانی دارد. رضوی و همکاران [۱۱] فعالیت زیستی گیاه پنیرک را ارزیابی کردند و نشان دادند که عصاره متانولی برگ‌ها و گل‌های این گیاه دارای خواص ضدباکتریایی قوی می‌باشند.

در مطالعه‌ای که توسط Ferrazzano و همکارانش [۱۲] انجام گردید، خواص ترکیبات پلی فنلی و ضد میکروبی مواد گیاهی از جمله پنیرک مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه مشخص شد که پلی فنل‌ها فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها از طریق کاهش رشد باکتری و اختلال در چسبندگی باکتری به سطح دندان و تاثیر در فعالیت آنزیمی باکتری‌هایی نظیر استرپتوکوکوس موتانس، اثرات ضد پوسیدگی خود را اعمال می‌کنند.

در این مطالعه خواص ضد باکتریایی گیاه پنیرک در شرایط آزمایشگاهی روی باکتری‌های استرپتوکوکوس موتانس، استرپتوکوکوس سانگویس، سودوموناس آنروژناز، اشرشیاکلی و غیره بررسی و اثبات شد. بنابراین نتایج مطالعات انجام شده روی خواص ضد میکروبی پنیرک حاکی از آن است که این گیاه علاوه بر فعالیت‌های ضد باکتریایی، دارای اثرات ضد قارچی و ضد ویروسی علیه بسیاری از پاتوژن‌های انسانی می‌باشد.

نتیجه‌گیری

پس از تجزیه شیمیایی اسانس پنیرک منطقه انزان مشکین-شهر، شناسایی دو ترکیب اوژنول و ۲-متوکسیل-۴-وینیل فنول به کمک زمان بازداری و مقایسه آن‌ها با منحنی استاندارد و هم‌چنین مقدار آن‌ها با توجه به سطح زیر منحنی هر ترکیب در طیف کروماتوگراف گازی مشخص گردید. بیش‌ترین میزان اوژنول (۱/۵۶٪) و بیش‌ترین میزان ۲-

نتایج و بحث

به طور کلی گیاهان طیف وسیعی از فعالیت‌های زیستی مانند فعالیت‌های ضد میکروبی، آنتی اکسیدانی و فعالیت‌های دیگر را از خود نشان می‌دهند. مواد شیمیایی استخراج شده از گیاهان به‌عنوان ترکیبات ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی به دلیل عوارض جانبی کم‌تر می‌توانند جایگزین داروهای سنتتیک مطرح شوند.

تا به حال مطالعات مختلف و متعددی در خصوص بررسی و تجزیه اسانس گونه‌های مختلف پنیرک و ارزیابی خاصیت ضد میکروب آن در نقاط مختلف جهان و ایران صورت گرفته است. در بررسی حسن‌پور و همکاران [۹] مشخص گردید که عصاره غیر قطبی اندام‌های هوایی گیاه پنیرک منقطع ارسباران اثرات مهارکنندگی رشد قابل توجهی روی باکتری‌های مورد آزمایش دارند و در این بین اثرات مهاری بر روی باکتری‌های گرم مثبت بیش از باکتری‌های گرم منفی می‌باشد که کاملاً با نتایج حاصل از این تحقیق مطابقت دارد. والتر و همکاران [۱۰] در سال ۲۰۱۱ فعالیت-

[9] Taha Nezhad, M., Barzegar, M., Sahari, MA., Naghdi Badi, HA., 2012, Evaluating antiradical activity of Mallow (Malva sylvestris L.) extracts and its application in the oil system. Iranian J of Med Plants; 11 (42):86-97.

[10] Walter, C., Zabta, K., Wari, S., Afzal, I., Malik, RN., 2011, Antibacterial activity in herbal products used in Pakistan. Pak J Bot; 43: 155-162.

[11] Razavi, SM., Zarrini, Gh., Molavi, Gh., Ghasemi, Gh., 2011, Bioactivity of Malva Sylvestris L, a Medicinal Plant from Iran, Iranian Journal of Basic Medical Sciences; 14(6): 574-579.

[12] Ferrazzano, GF., Amato, I., Ingenito, A., Zarrelli, A., Pinto, G., Pollio, A., 2011, Plant polyphenols and their anti-cariogenic properties: a review; 16(2):1486-507.

متوکسیل-۴-وینیل فنول (۵/۹۳٪) می باشد. نتایج حاصل از آزمایشات ضد میکروبی اسانس گیاه دارویی پنیرک نشان داد که دارای اثرات مهارتی قابل توجهی بر روی انواع باکتری های گرم منفی و مثبت می باشد. هم چنین در مقایسه قطر هاله عدم رشد پنیرک با کلر هگزین، مشخص شد که اسانس گیاه دارویی پنیرک نتایج نسبتاً مشابهی را نسبت به دهان شویه کلر هگزین از خود نشان می دهد. در نتیجه اسانس این گیاه با غلظت های مختلف، پس از انجام مطالعات تکمیل تر می تواند جایگزین مناسبی برای داروها و دهانشویه های شیمیایی در درمان باکتری های شایع عفونت دهانی باشد.

سپاس گزاری

از بخش تحقیق و توسعه شرکت دانش بنیان پژوهشگران داروی سبز به دلیل تامین هزینه و امکانات این طرح و هم چنین از مسئولین مرکز تحقیقات علوم پایه دانشگاه تبریز به دلیل همکاری در اجرای این تحقیق تشکر و قدردانی به عمل می آید.

منابع

- [1] Attard, E., Pacioni, P., 2011, The phytochemical and in vitro pharmacological testing of Maltese Medicinal Plants. Bioactive Compounds in Phytomedicine:93-112.
- [2] Razavi, SM., Zarrini, Gh., Molavi, Gh., Ghasemi, Gh., 2011, Bioactivity of Malva Sylvestris L, a Medicinal Plant from Iran, Iranian Journal of Basic Medical Sciences; 14(6): 574-579.
- [3] Jabra-Rizk, MA., Falkler, WA., Meiller, TF., 2004, Fungal biofilms and drug resistance. Emerg Infect Dis; 10(1): 14-9.
- [4] Pfaller, MA., Diekema, DJ., 2007, Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. Clin Microbiol; 20(1): 133-63.
- [5] Kanafani, ZA., Perfect, JR., 2008, Antimicrobial resistance: resistance to antifungal agents: mechanisms and clinical impact. Clin Infect Dis; 46(1): 120-8.
- [6] Adams, RP., 2007, Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. Carol Stream, IL: Allured publishing corporation.
- [7] Nickavar, B., Mojab, F, and Dolat Abadi, R., 2005, Analysis of the essential oils of two Thymus species from Iran. Food Chem; 90: 609 - 11.
- [8] Sefidkon, F., Askari, F., 2002, Ghorbanli M. Essential oil composition of Thymus pubescens Boiss. et Kotschy ex Celak from Iran. Journal of Essential Oil Research. Mar 1;14(2):116-7.