جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

بررسی ترکیبهای تشکیل دهنده اسانس و اثرات ضد میکروبی اسانس و عصاره الکلی *Artemisia sieberi* از منطقه فیروزکوه

المیرا طایفه هندی[۱]، فاطمه سفیدکن[۲*]، مهدی یوسفی[۳] و مریم تیموری[٤]

[۱] نجف آباد، دانشگاه پیام نور واحد نجف آباد

[۲] تهران، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، بخش تحقیقات گیاهان دارویی

[۳] اصفهان، دانشگاه پیام نور

[٤] تهران، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، بخش تحقیقات جنگل

تاریخ دریافت: ۸۸/۱۱/۱۰ تاریخ پذیرش: ۸۹/۸/۱۸

چکیده

این تحقیق به منظور استخراج و بررسی کمی وکیفی اسانس و همچنین بررسی اثرات ضد میکروبی اسانس، عصاره متانولی و فراکسیونهای مختلف *Artemisia sieberi* در مرحله گل دهی صورت گرفت. اندامهای هوایی *A. sieberi* از منطقه فیروزکوه جمع آوری شده و پس از خشک شدن سر شاخه های سبز برای اسانس گیری و عصاره گیری مورد استفاده قرار گرفت. اسانس گیری به روش تقطیر با آب و آنالیز اسانسها توسط دستگاههای GC و GC/MS صورت گرفت. در آنالیز اسانس مجموعاً ۲۰ ترکیب شناسایی شد که عمده ترین این ترکیبات در اسانس *A. sieberi* عبارت بودند از۸،۱-سینئول (٤٧/٦ درصد)، کامفور (۳۵/۵ درصد) و کامفن (۸/۳ درصد). همچنین عصاره متانولی و از این عصاره فراکسیونهای کلروفرمی، بوتانولی و آبی تهیه شد و نهایتاً اثرات ضدمیکروبی اسانس و عصاره و فراکسیونهای آنها بر علیه ۸ نوع باکتری گرم مثبت و گرم منفی مورد بررسی قرار گرفت . باکتریهای مورد مطالعه عبارت بودند از: *Bacillus cereus*، *Bacillus subtilis*، *Kelebsiella penomonia*، *Pseudomonas aeruginosa*، *Escherchia coli*، *Yersinia entrocolitica*، *Staphylococcus aureus* و *Micrococcus luteus*. مطالعه اثر ضد میکروبی اسانس بر علیه باکتریهای گرم مثبت نشان داد که اسانس باعث ایجاد هاله های عدم رشد بیش از ۲۰ میلی متر روی باکتریهای گرم مثبت شده و بنابراین اثر قوی بر علیه این باکتریها داشته است. به نحوی که میزان این اثر با اثر تتراسایکلین و اریترومایسین برابر بوده است. مقایسه اثر ضد میکروبی اسانس بر علیه باکتریهای گرم منفی نشان داد که اثر اسانس بر باکتریهای مختلف شباهتها و تفاوتهایی داشته است. اسانس بر علیه *P. aeruginosa* بی‌اثر بود، در حالی که بر *K. pneumonia* اثرقوی داشت. مقایسه اثر اسانس بر *E. coli* با آنتی بیوتیکهای جنتامایسین و کربنیسیلین نشان داد که اسانس اثر قوی تری از آنتی بیوتیکهای سنتزی داشته است. اثر اسانس *A. sieberi* از اثر جنتامایسین و کربنیسیلین بر *Y. entrocolitica* کمتر بود. نتایج به دست آمده از بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره و فراکسیونهای آن نشان دادکه هاله های عدم رشد ایجاد شده بر علیه باکتریهای مذکور یکسان نبوده است . بیشترین هاله عدم رشد ناشی از عصاره متانولی بر روی *Y. entrocolitica* ایجاد شد در حالی که این عصاره هیچ اثری بر روی *E. coli* نداشت. به نظر می رسد از اسانس و عصاره *A. sieberi* یا فراکسیونهای خاصی از آن می توان برای درمان برخی از بیماریها استفاده کرد.

واژه های کلیدی: *Artemisia sieberi*، اسانس، عصاره متانولی، فراکسیون گیری، اثر ضد میکروبی.

* نویسنده مسئول، تلفن: ٤٤٥٨٠٢٢١ ، پست الکترونیکی: sefidkon@rifr-ac.ir

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقدمه

جنس درمنه با نام علمی *Artemisia* قبل از هر چیز به لحاظ اهمیت دارویی آن در طول تاریخ شناخته شده است برای مثال *A. annua* به عنوان یک داروی مؤثر ضد مالاریا در اروپا مطرح بوده است (۱۲).

درمنه گیاهی است از خانواده Asteraceae با جنسهای متنوع که ۲۰۰ الی ٤۰۰ گونه را شامل می‌شود. بسیاری از گونه های درمنه دارای اسانسهای فرار می‌باشند گونه های مختلف این گیاه از شمال تا جنوب گسترش داشته و گسترهٔ دمایی بالایی را تحمل می‌کنند (۸).

یکی از گونه های این جنس که در سراسر ایران پراکندگی دارد *Artemisia sieberi* است. این گونه درمنه گیاهی است بوته‌ای (خشبی) بالشتکی یا کپه‌ای، با ارتفاع ۳۰-۱۰ سانتیمتر بیخ ساقه (ساقه زیر زمینی) عمودی، چوبی، ضخیم و در بالا شاخه شاخه است. ساقه‌ها گلدار چند تایی یا متعدد، شکننده راست، گاه گاهی مورب که تقریباً به طور ستاره ای قرار گرفته اند. برگها دارای کرکهای نمدی، خاکستری برگهای ساقه‌های عقیم دمبرگ دار، برگهای پایینی و میانی ساقه تقریباً بدون دمبرگ، با بریدگیهای کوچک و قاعده ای گوشک دار (۳ و ٤).

Artemisia sieberi به عنوان علوفه در استپها و مناطق بیابانی آسیا مطرح می باشد. وجود بعضی از ترکیبات شیمیایی در گونه‌های جنس درمنه فعالیتهای میکروبی را مختل کرده و این خاصیت کمابیش می‌تواند در این جنس عمومیت داشته باشد (۹). درمنه از دوران گذشته در طب سنتی دارای اهمیت و مصارف گوناگون بوده است (۲). برگهای بسیاری از گونه‌های درمنه خواص دارویی داشته و اغلب تلخ مزه اند (۸ و ١٦).

گونه های درمنه از دیر باز به عنوان منبع روغنهای اسانسی شناخته شده اند (۱۰). برازنده (۱۳۸۰) ترکیبهای موجود در روغن اسانس درمنه معطر (*Aetemisia Fragrans*) را شناسایی کرد (۱).

ترکیب شیمیایی و اثرات ضد میکروبی اسانس *A. sieberi*(جمع‌آوری شده از منطقه چهار باغ ۷۰ کیلومتری شرق گرگان در گلستان) مورد بررسی قرار گرفته است. آنالیز اسانس توسط GC/MS و بررسیهای میکروبی بر علیه باکتریهای *Pseudomonas aeroginosa* ، Staphylococcus aureus، Escherichia coli به روش کشت و دیسک انجام شده است. آرتمیزیا کتون (٤۸/۵ درصد)، ۸،۱-سینئول (۱۹/۷ درصد) ، آلفا-سلینن-٤-اول (٤/٦ درصد) و لاواندولون (۲/۸ درصد) به عنوان ترکیبات اصلی اسانس گزارش شده‌اند (۵).

در این مطالعه اسانس اندام هوایی *A. sieberi* به روش تقطیر با آب و عصاره آن با سیال فوق بحرانی دی اکسید کربن (SFE) تحت شرایط مختلف به دست آمد و اجزای تشکیل دهنده آنها مورد بررسی قرار گرفته است. آزمایشات با استفاده از سیال فوق بحرانی در فشار Mpa ۳۰/٤ – ۱۰/۱، دمای ۳۳۸k-۳۰۸ زمان '۳۵-۱۵ و استفاده از حجم ۵۰۰ml-۰ اصلاح کننده انجام شد. بالاترین راندمان عصاره در فشار ۳۰/٤Mpa دمای ۳۱۸ k زمان '۲۵ و عدم استفاده از اصلاح گر به دست آمد. از طرف دیگر تحت همان شرایط به استثنای کمی دمای بالاتر از ۳۲۸ k بالاترین مقدار کامفور در عصاره به دست می آید. ترکیبات اصلی اسانس شامل کامفور (٥٤/۷ درصد)، کامفن (۱۱/۸ درصد)، ۸،۱- سینئول (۹/۹ درصد)، بتا-توژون (۵/۷ درصد) و آلفا-پینن (۲/۵ درصد) بودند. در حالی که با استفاده از شرایط بهینه استخراج با سیال فوق بحرانی، فقط دو ترکیب، بیش از ۸۰ درصد عصاره را شامل می شدند (٦).

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

در تحقیق دیگری در اسانس *A. sieberi*، بیش از ۱۶۰ ترکیب شناخته شده که حدود ۹۹ درصد مقدار کل را شامل می‌شود. اسانس شامل ۱۵ درصد منوترپنهای هیدروکربنی، ۷۸ درصد منوترپنهای اکسیژن دار، ٤ درصد سسکوئی‌ترپنهای اکسیژن دار و ۱ درصد سسکوئی‌ترپنهای هیدروکربنی بوده است (۱۳).

طی تحقیقاتی ثابت شده که عصاره درمنه می تواند در درمان آلرژی مؤثر باشد. همچنین ثابت شده که این گیاه دارای خواص درمانی بوده و از بروز نشانه های آلرژیک جلوگیری می کند و می تواند تا حدی مانع بروز آسم شود. همین طور می تواند بر علیه ورم ملتحمه و ورم ناشی از نیش حشرات مؤثر باشد (۷ و ۱۳). گونه هایی از آرتمیزیا که دارای ویژگیهای مؤثر ذکر شده فوق بوده‌اند عبارت از: *A. pallens, A. abrotanum, A. lerchiana, A. thuscula, A. rehan, A. persica, A. Glabella, A. rupestris* بودند.

خواص ضد میکروبی گیاه آرتمیزیا (درمنه) گونه *orientalis* مورد بررسی قرار گرفت و مشخص شد که عمل جوانه‌زنی و طویل شدن ریشه‌چه، توسط مواد فراری که از برگ این گیاه خارج می شده ممانعت می‌شده است. این مواد فرار عمل جوانه‌زنی و رشد و طویل شدن آن را ممانعت می کنند، با اعمال بازداری بر روی رسپتور گیاهان، در شرایطی که *E. coli* نسبت به این ترکیبات فرار (اسانسها) مقاوم بود. رشد *Aspergillus nidulans, Bacillus subtilis ,pleurotus ostreatus , fusarium solani* به شدت ممانعت شد (۱٦).

ترکیبات شیمیایی اسانس ۷ گونه درمنه از کانادا مورد بررسی قرار گرفته است. این ۷ گونه عبارت بودند از *A. biennis, A. absinthium, A. frigida, A. dracunculus A .ludoviciana, A. canapursh* و *A. longifolia* . در مجموع ۱۱۰ ترکیب در این اسانسها شناسایی شدند. بالاترین غلظت مربوط به ۸،۱-سینئول بود که ۲۱/۵ الی ۲۷/٦ درصد از اسانسها را به خود اختصاص می داد و همین طور کامفور که به میزان ۱۵/۹ الی ۳۷/۳ در *A. cana* و *A. longifolia* , *A. A. frigida, ludoviciana* یافت شد (۱۱).

اسانس گونه‌های یاد شده درمنه اثرات ضد میکروبی را دارا بودند و بر علیه باکتریهایی همچون *Staphylococcus oureus, E. coli* و *Staphylococcus epidermidis* اثرات ممانعتی خود را اعمال داشتند. همچنین برعلیه مخمرهایی همچون *Candida albicans*, *Crypto coccus neoformans* و درماتوفیت هایی همچون *Microsporum canis, Microsporum gypseum, Fonsecaea pedrosoi, Trichophyton rubrum , Aspergillus niger* اثرات ممانعت از رشد را اعمال می‌ساختند (۱۱). اسانس *A. biennis* بیشترین فعالیت را بر علیه *Dermatophytes* و *Cryptococcus neoforman Fonsecaea pedrosoi* و *Aspergillus niger* و اسانس *A. absinthium* بیشترین فعالیت را بر علیه *Syaphylococcus* ها داشت (۱۱).

هدف از تحقیق حاضر بررسی اثر ضدمیکروبی اسانس، عصاره و فراکسیونهای مختلف تهیه شده از عصاره *A. sieberi* بر روی باکتریهای گرم مثبت و منفی بود.

مواد و روشها

جمع آوری و آماده سازی گیاه: اندامهای هوایی گیاه . *A. Sieberi*در مرحله گل دهی کامل از منطقه فیروزکوه، محمودآباد و سیمین دشت از ارتفاع ۱٤۵۰ متری، محله حصاربون از ارتفاع ۱۵۰۰ متری جمع آوری شد. شیب این منطقه ۱۰ درصد و محل جمع آوری دامنه جنوبی بوده است. *dhihk'* در سایه و محیط آزمایشگاه خشک گردید.

اسانس گیری: برای اسانس گیری نمونه خشک شده آسیاب گردید و به صورت پودر درآمد. سپس به روش تقطیر با آب (طبق فارماکوپه اروپا) اسانس‌گیری شد. دستگاه مورد استفاده، یک دستگاه تمام شیشه‌ای طرح کلونجر بود. برای هر اسانس گیری، ۸۰ گرم از اندام هوایی

خشک شده گیاهان مورد بررسی آسیاب شده و مورد تقطیر قرار گرفت. اسانس حاصله با سولفات سدیم رطوبت زدایی شد. برای تعیین بازده اسانس نسبت به وزن خشک، رطوبت نمونه در زمان اسانس گیری نیز تعیین شد.

عصاره گیری : جهت عصاره گیری از این گونه درمنه ابتدا سرشاخه های سبز گیاهان مورد نظر بعد از خشک شدن در سایه و دمای محیط توسط آسیاب به صورت پودر درآمد. ۱۰۰ گرم از پودر گیاه وزن شده و در داخل یک بشر قرار گرفت. سپس مقداری متانول به آن اضافه کرده تا حدی که روی گیاه را بپوشاند پس از ۲٤ ساعت نمونه موجود در داخل بالن به کمک کاغذ صافی و قیف صاف شد. سپس توسط دستگاه روتاری متانول تبخیر شده و عصاره جدا گردید.

فراکسیون گیری از عصاره متانولی: ۵ گرم از عصاره متانولی ابتدا در ۷۵ میلی لیتر آب مقطر حل شد، سپس محلول مورد نظر در داخل دکانتور ریخته شد. جهت تهیه فراکسیون کلروفرمی ۱۵ میلی لیتر کلروفرم به محلول مورد نظر اضافه شد و پس از هم زدن و جدا شدن دو فاز، فاز کلروفرمی جدا شد. این عمل پنج مرتبه تکرار شد و در نهایت فاز کلروفرمی جدا شده، توسط دستگاه روتاری تغلیظ گردید. بدین ترتیب فراکسیون کلروفرمی از عصاره جدا شد. سپس با اضافه کردن بوتانول به روش مشابه، فراکسیون بوتانولی به دست آمد باقیمانده محلول پس از تبخیر آب به نام فراکسیون آبی نگهداری شد.

بررسی فعالیت های ضدمیکروبی: در این تحقیق جهت انجام فعالیتهای میکروبی از دو محیط کشت Tryptic soy agar و Tryptic soy broth استفاده شد. برای انجام عمل ضدعفونی از دو دستگاه فور و اتوکلاو استفاده گردید. باکتریهای به کار رفته طی این تحقیق شامل: *Bacillus cereus (1247)*، *Bacillus subtilis (1023)*، *Klebsiella pneumonia (1053)*، *Pseudomonas aeruginosa (1430)*، *Escherichia coli (1399)*، *Yersinia entrocolitica (1151)*، *Staphylococcus aureus (1431)* و *Micrococcus luteus (1169)* بودند که از کلکسیون میکروبی مرکز پژوهشهای علمی و صنعتی ایران تهیه شدند.

به منظور بررسی اثر ضد میکروبی، از روش انتشار در آگار (Disk diffusion method) استفاده شد. از کشت ۱۸ ساعته باکتریها مایه تلقیح با غلظت ۱ استاندارد مک فارلند معادل ۳×۱۰^{۸} cfu/ ml در محیط کشت تریپتوکیس سوی برات (شرکت مرک) تهیه گردید و ۵۰۰ میکرولیتر به سطح محیط کشت تریپتوکیس سوی آگار (شرکت مرک) تلقیح و با استفاده از سواپ پنبه‌ای استریل به شکل یکنواخت در سطح محیط پخش شد. بر روی محیط کشت دیسکهای بلانک با قطر ٦ میلی متر (شرکت پادتن طب) حاوی ۳۰ میکرولیتر از عصاره‌های مختلف رقیق شده توسط دی متیل سولفوکساید (DMSO) بر روی پلیت قرار گرفت. از دیسک بلانک حاوی ۳۰ میکرولیتر دی متیل سولفوکساید به عنوان شاهد منفی استفاده گردید. برای مقایسه اثرات ضد میکروبی از دیسکهای جنتامایسین و کربنی سیلین استفاده شد. پس از ۲٤ ساعت گرمخانه گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قطر هاله های عدم رشد اندازه گیری شد.

جداسازی و شناسایی ترکیبهای اسانس توسط GC و GC/MS : برای شناسایی ترکیبهای اسانسها از دستگاههای گاز کروماتوگرافی (GC) و گاز کروماتوگرافی متصل به طیف سنج جرمی (GC/MS) استفاده گردید.

مشخصات گاز کروماتوگرافی (GC) : کروماتوگراف گازی مدل Shimadzu – 9A مجهز به دتکتور F.I.D (یونیزاسیون شعله هیدروژن) و داده پرداز Chromatepac استفاده شد. ستون دستگاه DB–5 به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۲۵ میکرون و ضخامت لایه فاز ساکن برابر ۰/۲۵ میکرون بود. سرعت جریان گاز حامل هلیم ۲۲/۷ cm/s بود. دمای محفظه تزریق ۲٦۵ درجه سانتی‌گراد، برنامه

ریزی حرارتی ستون از دمای اولیه ۵۰ درجه سانتی گراد تا دمای نهایی ۲۵۰ درجه سانتی گراد که در هر دقیقه ٤ درجه سانتی گراد به آن افزوده شد.

مشخصات گاز کروماتوگرافی متصل به طیف سنج جرمی (GC/MS): کروماتوگراف گازی Varian – 3400 متصل شده با طیف سنج جرمی، ستون مشابه با ستون مورد استفاده در دستگاه GC بود. دتکتور "Ion Trap" گاز حامل هلیم، سرعت جریان گاز حامل ml/min ۵۰ و انرژی یونیزاسیون در طیف سنج جرمی معادل ۷۰ الکترون ولت بود. برنامه حرارتی ستون از ٤۰ تا۲۲۰ درجه سانتی گراد با سرعت ٤°C /min (٤ درجه در دقیقه) تنظیم شد. دمای محفظه تزریق ۲۳۰ درجه سانتی گراد بود.

محاسبه شاخص بازداری و شناسایی ترکیبها: برای محاسبه اندیسهای بازداری ترکیبات، آلکانهای نرمال – C9 C22 به دستگاه GC تزریق گردید. شناسایی ترکیبها با مطالعه طیفهای جرمی و مقایسه با طیف جرمی ترکیبهای استاندارد، با استفاده از اطلاعات موجود در کتابخانه ترپنوئیدها در کامپیوتر و به کمک شاخصهای بازداری محاسبه شد و مقایسه آنها با شاخصهای بازداری استاندارد که در منابع مختلف منتشر گردیده، انجام شد. محاسبات کمی (تعیین درصد هر ترکیب) به کمک داده پرداز R3A Chromatepac – به روش نرمال کردن سطح (Area normalization method) و نادیده گرفتن ضرایب پاسخ (Response factors) مربوط به طیفها انجام شد.

نتایج

تعیین بازده اسانس *Artemisia sieberi* : درصد رطوبت و وزن خشک گیاه، بعد از طی زمان ٢٤ ساعت از قرار گرفتن نمونه ۵ گرمی گیاه در زمان اسانس‌گیری در آون، تعیین شد. درصد رطوبت گیاه در زمان اسانس گیری ۱۲/۸ درصد بود. سپس بازده اسانس بر حسب وزن خشک محاسبه شد. میانگین بازده اسانس (حاصل از سه تکرار) برای *A. sieberi* ۲/۲۸ درصد بود.

شناسایی ترکیبهای تشکیل دهنده اسانس *A. sieberi* : در اسانس حاصل از اندام هوایی *Artemisia sieberi* ۲۰ ترکیب شناسایی شد که در مجموع ۹۹/۷ درصد از اسانس را تشکیل می دادند. مهم ترین ترکیبهای تشکیل دهنده این اسانس ۸،۱- سینول (٤۷/٦ درصد) و کامفور (۳۱/۵ درصد) بودند سایر ترکیبهای تشکیل دهنده اسانس به همراه شاخص بازداری و درصد هر ترکیب در جدول ۱ آورده شده اند.

تعیین بازده عصاره و فراکسیونهای *A. sieberi* : بازده عصاره های آبی، متانولی و فراکسیونهای حاصل از آن برای ۱۰۰ گرم از گیاه *A. sieberi* در جدول ۲ نشان داده شده اند. قابل ذکر است که برای تعیین بازده عصاره ها نیز درصد رطوبت گیاه در زمان عصاره گیری (مشابه با عملیات انجام شده در اسانس گیری) تعیین شده و بازده عصاره نسبت به وزن خشک محاسبه گردید.

تعیین اثرات ضد میکروبی اسانس، عصاره و فراکسیونهای *A. sieberi* : نتایج ارزیابی اثرات اسانس، عصاره و فراکسیونهای کلروفرمی، بوتانولی و آبی گونه *A. sieberi*، بر روی ۸ گونه باکتری *Bacillus cereus*، *Bacillus subtilis*، *Klebsiella pneumonia*، *Pseudomonas aeruginosa*، *Escherchia coli*، *Yersinia entrocolitica*، *Staphylococcus aureus* و *Micrococcus luteus* در جدولهای ٤ الی ٦ نشان داده شده اند. در بیشتر مواقع هاله های مشخص و واضحی به خصوص از اثر اسانس رؤیت گردید که هاله های بزرگی که حد مشخصی نداشتند و بزرگی آنها در حدی بود که در هاله کناری ادغام شده بود به صورت بزرگتر از ۲۰ در

جدول مشخص شده است. تعداد آزمونها و تکرارها برای هر نمونه ۳ عدد بود که میانگین این ۳ رقم در دو جدولهای ۳ و ٤ ذکر شده است.

جدول ۱- ترکیبات شناسایی شده در اسانس *Artemisia sieberi*

ردیف	نام ترکیب	شاخص بازداری (RI)	درصد
۱	tricyclene	۹۲۱	۰/۳
۲	α-pinene	۹۳۳	۱/٦
۳	**camphene**	**۹٤۸**	**۸/۳**
٤	sabinene	۹٦۹	۱/٦
٥	ß-pinene	۹۷۳	۱/۳
٦	dehydro-1,8-cineole	۹۸۸	۰/٤
۷	α-terpinene	۱۰۱٤	۰/۲
۸	*p*-cymene	۱۰۲۲	۱/٦
۹	**1,8-cineole**	**۱۰۲۸**	**٤۷/٦**
۱۰	cis arbusculone	۱۰٥۰	۰/۳
۱۱	γ-terpinene	۱۰٥٤	۰/٤
۱۲	cis sabinene hydrate	۱۰٦۷	۰/۳
۱۳	trans arbusclone	۱۰٦۸	۰/۲
۱٤	chrysanthenone	۱۰۲٥	۰/٦
۱٥	**camphor**	**۱۱٤۳**	**۳۱/٥**
۱٦	cis chrysanthenol	۱۱٦۱	۰/۲
۱۷	pinocarvone	۱۱٦۲	۱/۱
۱۸	terpinen-4-ol	۱۱۷٤	۱/۳
۱۹	α-terpineol	۱۱۸٦	۰/٦
۲۰	myrtenol	۱۱۹۳	۰/۳
	مجموع		۹۹/۷

جدول ۲- وزن و بازده عصاره متانولی و فراکسیونهای گونه *A. sieberi*

ردیف	نوع عصاره	وزن (گرم)	بازده (٪)
۱	عصاره متانولی	۹/۷٥	۱۰/۳٦
۲	فراکسیون کلروفرمی	۱/۷۸	۱/۸۹
۳	فراکسیون بوتانولی	٥/٦۸	٦/۰۳
٤	فراکسیون آبی	۲/۲۹	۲/٤۳

جدول ۳– قطر هاله عدم رشد ناشی از اثر اسانس *A. sieberi* بر باکتریهای گرم مثبت

ردیف	باکتری	اسانس (میلی‌متر)	تتراسایکلین (میلی‌متر)	اریترومایسین (میلی‌متر)
۱	*Staphylococcus aureus*	>۲۰	>۲۰	>۲۰
۲	*Micrococcus loteus*	>۲۰	>۲۰	>۲۰
۳	*Bacillus subtilis*	>۲۰	>۲۰	>۲۰
٤	*Bacillus cereus*	>۲۰	>۲۰	>۲۰

جدول ٤– قطر هاله عدم رشد ناشی از اثر اسانس *A. sieberi* بر باکتریهای گرم منفی

ردیف	باکتری	اسانس (میلی‌متر)	جنتامایسین (میلی‌متر)	کربنیسیلین (میلی‌متر)
۱	*Escherchia coli*	۲٤	۲۰	۲۰
۲	*Yersinia entrocolitica*	۲۰	۲۲	۲۷
۳	*Pseudomonas aeruginosa*	–	۱٤	۱٦
٤	*Klebsiella pneumonia*	>۲۰	۲۱	۱۷

جدول ۵– قطر هاله عدم رشد ناشی از اثر عصاره و فراکسیونهای *A. sieberi* بر باکتریها (رقت ۰/۱)

ردیف	باکتری	عصاره متانولی (میلی‌متر)	فراکسیون کلروفرمی (میلی‌متر)	فراکسیون بوتانولی (میلی‌متر)	فراکسیون آبی (میلی‌متر)
۱	*K. pneumonia*	۱۲	۱۲	۱۲	۰
۲	*P. aeruginosa*	۱۲	۱۲	۱۰	۰
۳	*S. aureus*	۱۲	۱۱	۱۲	۰
٤	*B. cereus*	۱۵	۱۷	۲۱	۰
۵	*Y. entrocolitica*	۲۰	۱۲	۰	۹
٦	*E. coli*	۰	۰	۰	۰
۷	*M. loteus*	۱٤	۱۲	۱۰	۰
۸	*B. subtilis*	۱٤	۱۳	۱۲	۰

لازم به ذکر است که در اطراف گونه *Pseudomonas aeroginosa* هاله واضحی رویت نگردید و در دو گونه *B. subtilis* و *B. cereus* اسانسها همراه با دیسکهای تتراسایکلین و اریترومایسین کلاً مانع رشد دو باکتری مذکور شده بودند و در پلیتها هیچ گونه رشدی از دو نوع باکتری مشاهده نشد.

اولین رقتی که برای فعالیتهای ضد میکروبی عصاره و فراکسیونها به کار برده شد، رقت ۰/۱ در محلول دی متیل سولفوکساید (*DMSO*) بود که نتایج و اندازه هاله های مشاهده شده جدول ۵ ارائه شده‌اند.

از عصاره ها یا فراکسیونهایی که با اثرات ضد میکروبی خود توانسته بودند هاله های بزرگتر از ۱۲

میلی متر ایجاد کنند رقت ۰/۰۵ نیز تهیه و اثرات ضد میکروبی آنها بررسی شد. نتایج به دست آمده از اثر عصاره و فراکسیون‌های *A. sieberi* با رقت ۰/۰۵ به دست آمده در جدول ٦ مشاهده می شوند.

قابل ذکر است که در مورد *K. pneumonia* هاله واضحی رؤیت نگردید و در مورد عصاره متانولی *Y. entrocolitica* هاله ناواضح ٦ میلی متری مشاهده شد.

جدول ٦– قطر هاله عدم رشد ناشی از اثر عصاره و فراکسیونهای *A. sieberi* بر باکتریها (رقت ۰/۰۵)

ردیف	باکتری	عصاره متانولی (میلی‌متر)	فراکسیون کلروفرمی (میلی‌متر)	فراکسیون بوتانولی (میلی‌متر)	فراکسیون آبی (میلی‌متر)
۱	*K. pneumonia*	–	–	–	–
۲	*B. cereus*	۷	۷	۱۰	–
۳	*Y. entrocolitica*	٦	–	–	–
٤	*M. luteus*	۹	–	–	–
٥	*B. subtilis*	۹	–	–	–

بحث

مقایسه بازده اسانس *A. sieberi* (۲/۲۸ درصد) در این تحقیق، با برخی گونه های دیگر این جنس نشان داد که بازده اسانس نمونه مورد بررسی در این تحقیق نسبت به *A. aucheri* (۰/۸٤ درصد) و *A. santolina* (۰/۸۳ درصد) بالاتر بود (١٤). بازده اسانس اندام هوایی *A. sieberi* جمع‌آوری شده از سمنان (۱/۰۲ درصد) (١٤) از بازده اسانس نمونه مورد بررسی در این تحقیق کمتر است. بر اساس تحقیقات قبلی بازده اسانس اندام هوایی *A. annua* (۰/۵۱ درصد)، *A. scoparia* (۰/۸٤ درصد)، *A. spicigera* (۰/٤٦ درصد)، *A. vulgaris* (۰/۱۷ درصد) و *A. absinthinum* (۰/۹۲ درصد) نیز کمتر از بازده اسانس گونه مورد بررسی در این تحقیق یوده است (۱۵).

مقایسه ترکیبات شناسایی شده در اسانس *A. sieberi* با مطالعه انجام شده توسط سفیدکن و همکاران (۲۰۰۷) تفاوتها و شباهتهایی را نشان می‌دهد. در اسانس نمونه جمع آوری شده از سمنان ٤۹/۳ درصد کامفور، ۱۱/۱ درصد ۸،۱–سینئول و ۵/۸ درصد بورنیل استات گزارش شد، در حالیکه در اسانس مورد بررسی در این تحقیق ۸،۱– سینئول (٤۷/٦ درصد)، کامفور (۳۵/۵ درصد) و کامفن (۸/۳ درصد) به ترتیب ترکیبهای عمده اسانس بوده اند که احتمالاً این تفاوت ناشی از اختلاف شرایط رویشگاهی است. کامفور یکی از ترکیبهای عمده اسانس *A. aucheri* نیز بوده است (١٤). در یک بررسی دیگر نیز کامفور به عنوان ترکیب اصلی اسانس *A. sieberi* معرفی شده است (٦).

جدول ۲ نشان می دهد که بازده عصاره‌های تهیه شده از این گیاه بسیار بیشتر از بازده اسانس است. توزیع

عصاره متانولی در فراکسیونهای مختلف کلروفرمی، بوتانولی و آبی نشان می دهد که بخش اعظم عصاره را ترکیبهای نیمه‌قطبی تشکیل می دهند که وارد فراکسیون بوتانولی (٦/٠٣ درصد) شده اند. همچنین میزان ترکیبهای با قطبیت کم که وارد فاز کلروفرمی شده اند (١/٨٩ درصد) کمتر از ترکیبهای کاملاً قطبی است که وارد فاز آبی (٣/٤٣ درصد) شده اند.

بررسی قطرهای هاله‌های عدم رشد حاصل از اثر اسانس درمنه بر باکتریهای گرم مثبت و مقایسه با آنتی بیوتیک سنتزی تتراسیکلین و اریترومایسین (جدول ٤) نشان می دهد که اثر اسانس بر روی همه باکتریهای گرم مثبت قوی و معادل آنتی بیوتیکهای سنتزی بوده است. بنابراین با توجه به عوارض منفی و شناخته شده آنتی بیوتیکهای سنتزی اسانس *A. sieberi* می‌تواند جایگزین خوبی برای تتراسیکلین و اریترومایسین باشد.

بررسی قطرهای هاله‌های عدم رشد حاصل از اثر اسانس گیاه بر باکتریهای گرم منفی و مقایسه با آنتی بیوتیک سنتزی جنتامایسین و کربنیسیلین (جدول ٥) نشان می دهد که در حالی که اثر اسانس *A. sieberi* بر *Escherchia coli* و *Klebsiella pneumonia* بیش از جنتامایسین و کربنیسیلین بوده است، اما بر *Pseudomonas aeruginosa* اثر نداشته و اثر آن بر *Yersinia entrocolitica* کمتر از آنتی بیوتیکهای سنتزی بوده است.

مقایسه اثر عصاره متانولی و فراکسیونهای مختلف تهیه شده از آن در رقت ١٠ درصد (جدول ٦) نشان می دهد که فراکسیون آبی عصاره *A. sieberi* جز بر روی *Y. entrocolitica* بر هیچ یک از باکتریهای دیگر اثر نداشته است. عصاره متانولی و دو فراکسیون کلروفرمی و بوتانولی *A. sieberi* بر روی *K. pneumonia* و *S. aureus* اثر یکسان داشته‌اند. این عصاره و همه فراکسیونهای آن بر روی *E. coli* هیچ اثری نداشته است. عصاره و فراکسیونهای کلروفرمی و بوتانولی بر روی بقیه باکتریهای مورد بررسی اثرات یکسانی نداشتند. برای مثال اثر فراکسیون بوتانولی (حاوی ترکیبهای نیمه قطبی) بر *B. cereus* بیشتر از فراکسیون کلروفرمی (حاوی ترکیبهای غیرقطبی تا کمی قطبی) و بیشتر از عصاره متانولی (حاوی همه ترکیبهای عصاره) بوده است. از نتایج این تحقیق می‌توان در طراحی ساخت داروهای آنتی بیوتیک طبیعی از عصاره *A. sieberi* یا فراکسیونهای آن استفاده کرد.

رقیق کردن عصاره متانولی و فراکسیونهای آن باعث ضعیف تر شدن اثر ضد باکتری شده به نحوی که هیچ یک از فراکسیونها و عصاره در رقت ٠/٠٥ درصد بر *K. pneumonia* اثر نداشته و بر برخی دیگر از باکتریها نیز فقط عصاره متانولی مؤثر بوده است. اما بر روی *B. cereus* به جز فراکسیون آبی، بقیه فراکسیونها و عصاره متانولی هاله عدم رشد ایجاد کرده اند که نشان دهنده اثر قوی تر عصاره *A. sieberi* یا فراکسیونهای آن بر روی این باکتری نسبت به سایر باکتریهای مورد بررسی است.

منابع

١- برازنده، م.م.، ١٣٨٠. بررسی ترکیبات موجود در روغن اسانس درمنه معطر ،پژوهش و سازندگی، ٥٢: شماره صفحه.

٢- گزانچیان، ع.، ١٣٧٥. گزارش نهایی طرح تحقیقاتی تعیین مناسب ترین زمان جمع آوری بذر درمنه در استان خراسان.

۳- مظفریان، و.، ۱۳۷۳. رده بندی گیاهی. کتاب دوم: دولپه ای ها، انتشارات نشر دانش آموز.

٤- - قاسمی، ف.، ۱۳۸۳. بررسی اکولوژیکی گونه های جنس درمنه در شهرستان کاشان، پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده علوم گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور.

5- Behmanesh, B., Heshmati, G.A., Mazandarani, M., Rezaei, M.B., Ahmadi, A.R., Ghaemi, E.O. and Bakhshandeh Nosrat, S., 2007. Chemical composition and Antibacterial Activity from Essential oil of *Artemisia sieberi* Besser subsp. Sieberi in North of Iran. Journal of Plant Sciences, 6(3): 562-564.

6- Ghasemi, E.,Yamini, y., Bahrami F., and Sefidkon, F., 2007. Comparative analysis of the oil and supercritical CO2 extract of *Artemisia sieberi*. Journal of Food Engineering, 79: 306-311.

7- Guenther, E., 2004. The Essential Oils. Vol. 2, The constituents of essential oils, I.V. Ketones: 386-387.

8- Hassawi, D. and Kharma, A., 2006. Antimicrobial activity of some medicinal plants against *Candida albicans*, Journal of Biological Sciences, 6(1): 109-114.

9- Janssen, A.M., Scheffer, J.J., Baerhein, A. and Suendsen, A.B., 1987. Antimicrobial activities of essential oils. A. 1976-1986. Literature review on possible applications. Phamacent. Weekble : 193 - 197.

10- Kelsey, R.G. and Shafizade, F., 1979. Sesquiterpene lactones and systematic of genus *Artemisia.* Phytochemistry, 18: 1591-1611.

11- Lopez- Lutz, Daise & S. alviano , Daniela & S. Alviano, Celuta & p. Kolodziejczyk, Paul , 2008. Screening of chemical composition of microbial and antioxidant activities of Artemisia essential oils. Flavour and Fragrance Journal, 8(3): 131-137.

12- Mc Groeger, I.A., 1996. Malaria. 230-247, In: Cox, F.E.G. (Ed.). The Welcome Trust History of Tropical Diseases. The welcome trust, London, total pages.

13- -Nematollahi, F., Rustaiyan, A., Larijani, K., Nadimi, M. and Masoudi, S., 2006. Essential oil composition of Artemisia biennis Willd. and Publicaria undulate (L.) C.A. Mey., two Compositae herbs growing wild in Iran. Journal of Essential Oil Research, 18: 101-105.

14- Sefidkon, F., Jalili, A. and Mirhaji, T., 2002. Essential oil composition of three *Artemisia* spp. from Iran. Flavour and Fragrance Journal, 17: 150-152.

15- Sefidkon, F., Jalili, A., Rabie, M., Hamzehee, B. and Asri, Y., 2003. Chemical composition of the essential oil of five *Artemisia* species from Iran, Journal of Essential Oil, Bearing Plants, 6(1): 41-45.

16- Yun, K.W. and Mauri M.A., 1997. Allelopatic potential of *Artemisia campestris* ssp. Journal of Botany,75: 1903-1912.

Essential oil composition and antimicrobial activities of oil, alcoholic extract of *Artemisia sieberi* from Firoozkooh region

Tayefeh Hendi E.[1], Sefidkon F.[2], Yousefi M.[3] and Teimouri M.[4]

[1] Payam e Noor University, Najaf Abad, Esfehan, I.R. of IRAN

[2] Medicinal Plant Research Division, Research Institute of Forests & Rangelands, Tehran, I.R. of IRAN

[3] Payam e Noor University, Esfehan, I.R. of IRAN

[4] Forest Research Division, Research Institute of Forests & Rangelands, Tehran, I.R. of IRAN

Abstract

In this research, essential oil content and composition of *Artemisia sieberi* was investigated. In addition, the antimicrobial effects of the essential oil, methanol extract and it's different fractions were studied. The aerial parts of *A. sieberi* were collected from Firuzkuh. The plant materials were dried in shade and powdered for extraction. The essential oil was obtained by hydro-distillation and analyzed by GC and GC/MS. The results showed presence of 20 components. The main constituents of the *A. sieberi* oil were 1,8-cineole (47.6%), camphor (35.5%) and camphene (8.3%). The methanol extract was prepared by maceration, then the butanol, chloroform and water fractions were prepared from methanol extract. Finally the antimicrobial effects of the essential oil, methanol extract and the fractions were studied against *Escherchia coli, Pseudomonas aeruginosa, Kelebsiell penomonia, Bacillus subtilis, Bacillus cereus, Micrococcus luteus, Staphylococcus aureus* and *Yersinia enterocolitica*. The antimicrobial effect of the essential oil of *Artemisia sieberi* against Gram positive bacteria showed the oil produced inhibition zone more than 20 mm on all Gram positive bacteria. So the essential oil showed strong effects against these bacteria equal to tetracycline and erythromycin. Study antimicrobial effect of the essential oil of *Artemisia sieberi* against Gram negative bacteria showed no effect on *P. aeruginosa,* but strong effect against *K. pneumonia*. Comparing the effect of essential oil on *E. coli* with synthetic antibiotics, gentamicin and carbenycilin showed that essential oil was stronger. The effect of *A. sieberi* oil on *Y. entrocolitica* was less than gentamicin and carbenycilin. The results of antimicrobial study of the extracts and fractions showed different effects. For each bacterium some fractions with special polarity showed larger inhibition zones. Methanol extract produced the biggest inhibition zone on *Y. entrocolitica*, while it has no effect on *E. coli.* So these extracts or their special fractions can be used in drug formulation for treatment of some diseases.

Keywords: *Artemisia sieberi,* essential oil, methanol extract, fractionation, antimicrobial effect.