مجله بوم شناسی آبزیان

Journal homepage: http://jae.hormozgan.ac.ir

Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir at 19:18 +0430 on Friday May 25th 2018

اثرات ضدباکتریایی عصاره گونه‌هایی از جنس علف بید در ایران

رضا شیخ اکبری مهر*، پرویز ملک زاده

گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه قم، قم، ایران

نوع مقاله:
پژوهشی

تاریخچه مقاله:
دریافت: ۹۳/۰۵/۲۰
اصلاح: ۹۳/۰۸/۲۸
پذیرش: ۹۳/۰۹/۰۱

کلمات کلیدی:
باکتری گرم مثبت
ضدباکتری
طب سنتی
علف بید

چکیده

علیرغم کشف و تولید تعداد زیادی از آنتی‌بیوتیک ها، همچنان مشکلات عمده‌ای در درمان عفونت‌های میکروبی به دلیل مقاوم شدن سویه‌های باکتری به داروهای ساختگی، وجود دارد. بنابراین شناخت و معرفی منابع دارویی جایگزین از قبیل ترکیبات طبیعی موجود در گیاهان از اهمیت بیشتری برخوردار می‌باشد. از آنجا که کشور ایران دارای اقلیم متنوعی بوده و غنی از گیاهان مختلف می باشد، تصمیم گرفته شد تا از میان این منبع عظیم طبیعی به بررسی اثرات ضدباکتریایی گیاه علف بید پرداخته شود. این جنس در ایران شامل ۱۸ گونه می باشد که در تحقیق حاضر عصاره الکلی ۹ گونه از نظر فعالیت ضدباکتریایی مورد ارزیابی قرار گرفت. پس از جمع آوری و شناسایی گونه‌ها، بخش‌های هوایی گیاه خشک و عصاره‌گیری گردیده و تست حساسیت باکتری به عصاره و تعیین کمترین غلظت بازدارندهٔ رشد (MIC) انجام شد. نتایج حاصل نشان داد که به جز یک گونه، عصاره بخش‌های هوایی گونه‌های مطالعه شده دارای فعالیت ضدمیکروبی قابل مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌های رایج بر روی طیف وسیعی از باکتری‌های گرم مثبت و منفی می باشند. نتایج این تحقیق نشان می دهد که باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی در برابر عصاره علف بید حساس‌تر هستند.

مقدمــه

یافتن ترکیباتی با قدرت شفابخش از طبیعت، همواره یکی از قدیمی‌ترین ایده‌های بشر بوده است. با توجه به شواهد و اطلاعات به دست آمده، استفاده از گیاهان دارویی به صورت دم‌نوش و یا به صورت مرهم برای زخم‌ها، در سراسر جهان و حتی در ادوار ماقبل تاریخ مرسوم بوده، و مورد توجه اقوام بسیاری از تمدن‌های بشری به ویژه در کشورهای مصر و چین می‌باشد. تخمین زده می شود که حدود ۲۵۰۰۰۰ تا ۳۰۰۰۰۰ گونهٔ گیاهی بر روی زمین وجود داشته باشد. تنها درصد کمی از این تعداد (حدود ۱۰٪) به عنوان غذا برای انسان و حیوانات کاربرد دارد. البته درصد بیشتری از این تعداد به عنوان گیاه دارویی مورد استفاده قرار می گیرد و این نشانهٔ وجود قدرت نهفته بسیار مفید در طبیعت است (Cowan, 1999). به نظر می رسد که از زمان کشف آنتی بیوتیکها در دههٔ ۱۹۵۰ میلادی، استفاده از مشتقات گیاهی به عنوان ترکیبات ضد میکروبی کاملاً کنار گذاشته شده باشد، اما امروزه پس از آگاهی محققان و عموم مردم از اثرات جانبی آنتی‌بیوتیک‌ها و همچنین هزینهٔ سنگین تولید آنها، استفاده از داروهای گیاهی به‌عنوان مواد ضدمیکروبی دوباره رونق گرفته است (Borchardt *et al*., 2008). همچنین در سالهای اخیر، ظهور پاتوژن‌های جدید و سویه‌های مقاوم به آنتی بیوتیک‌های مرسوم و متداول، موجب بروز نگرانی عمومی و محدود شدن مصرف این داروها برای درمان عفونت‌های باکتریایی شده است (Larson, 2007, Raei *et al*., 2014). کشور ایران به دلیل برخورداری از تنوع اقلیمی، غنی از گونه های مختلف گیاهی بوده (Ghahraman, 1992-96) و طب سنتی و استفاده از

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: r.sheikhakbari@qom.ac.ir

Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir at 19:18 +0430 on Friday May 25th 2018

داروهای مشتق شده از گیاهان در کشور مرسوم بوده است (Zargari, 1997). جنس *Epilobium* L. (علف بید) متعلق به خانواده گیاهی گل مغربی و از گیاهانی است که در رویشگاه‌های آبی مناطق مختلفی از آسیا، اروپا و آمریکا حضور دارد. این گیاه علفی، در دنیا حدود ۲۰۰ گونه و در ایران دارای ۲۰ گونه می باشد (Azizian, 2005). استفاده از برخی گونه‌های *Epilobium* جهت اهداف درمانی، به زمان‌های بسیار قدیم بر می‌گردد، به ویژه استفاده از گونهٔ *E. angustifolium* جهت رفع آفت و التهاب مخاط دهان و همچنین به عنوان التیام دهندهٔ زخم و جراحات، متداول بوده است (Zargari, 1997). برگ‌های جوان و فاقد کرک برخی از گونه های *Epilobium* مانند گونهٔ *E. montanum* به صورت خام در سالاد مصرف می شود. در طب سنتی بسیاری از کشورها از گونه‌ای از گیاه علف بید (*E. angustifolium*) در درمان پروستات، عفونت های خونی ناشی از زخم، درمان التهاب مفصلی و تسکین درد، استفاده می شود (Kilic *et al*., 2001). برخی از پژوهشگران در مطالعات اخیر، به اهمیت دارویی و ضدمیکروبی جنس *Epilobium* پی برده اند (Battinelli *et al*., 2001; Tita *et al*., 2001; Vitalone *et al*., 2003; Bartfay *et al*., 2011). علف اپی‌لوبیوم حاوی فلاونوئیدها به ویژه Myricitrin، Guaiaverin، Quercitin، D-glucuronide، استروئیدها به ویژه بتا- سیتواسترول و استرهای آن و تانن‌ها می باشد (Battinelli *et al*., 2001).از تانن‌های مهم در جنس *Epilobium*، تانن‌های Oenothein A, B می باشند (Vitalone *et al*., 2003). این دو ترکیب با جلوگیری از آزاد شدن پروستاگلاندین‌ها، سبب ایجاد فعالیت ضد التهابی در عصارهٔ *E. angustifolium* و *E. parviflorum* می‌شوند (Ducrey *et al*., 1997). Voynova (1991) و همکاران، طی آزمایشی نشان دادند که عصارهٔ بخش‌های هوایی *E. hirsutum* دارای فعالیت ضدتوموری در موش مبتلا به تومور می باشد. در مطالعه ای که اخیراً بر روی اثرات عصاره یکی از گونه های این جنس در بهبود کیفیت تغذیه و رشد و همچنین تقویت سیستم ایمنی ماهی کپور انجام شد، اثر ضدباکتریایی عصاره علف بید روی باکتری فرصت طلب و بیماریزای این ماهی (*Aeromonas hydrophyila*) تأیید گردید (Pakravan *et al*., 2012). با توجه به محدودیت های ایجاد شده در اثر مصرف آنتی بیوتیک ها، دانشمندان جهت تولید ترکیبات ضد میکروبی، به گیاهان روی آورده‌اند. از سوی دیگر اطلاعات حاصل از تحقیقات پایه‌ای بر روی ترکیبات گیاهی می تواند سرمنشاء تولید داروهای جایگزین برای آنتی بیوتیک‌های سنتزی باشد. بنابراین هدف از تحقیق حاضر، ارزیابی فعالیت ضدباکتریایی عصاره بخش‌های هوایی برخی از گونه‌های علف بید در ایران و مقایسه آن با نمونه‌هایی از آنتی بیوتیک‌های مرسوم می باشد.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق عصاره ۸ گونه از بخش Section *Epilobium* (*E.parviflorum, E.montanum, E.hirsutum, E.minutiflorum*, *E.confusum, E.algidum, E.gemmascens* و *E.roseum* subsp. *subsessile*) و یک گونه از بخش Sect. *Chamaenerion* (*E.dodonaei*) از نظر فعالیت ضد میکروبی مورد بررسی قرار گرفتند.

جمع آوری گیاهان تازه از رویشگاه‌های طبیعی

به منظور بررسی فعالیت ضد میکروبی عصاره، بایستی گیاهان به صورت تازه از مناطق خاص رویشگاهی جمع آوری گردیده و بدون آبگیری، خشک شوند. ۹ گونهٔ گیاهی مختلف از جنس *Epilobium* (که اکثر آنها برای اولین بار مورد ارزیابی ضدباکتریایی قرار می گیرند) از مناطق مختلف ایران جمع آوری و خشک گردید. پس از شناسایی گونه های جمع آوری شده و مقایسه آنها با نمونه های شناخته شدهٔ هرباریومی، از هر گونه یک نمونه به عنوان سند، در هرباریوم گروه زیست شناسی دانشگاه قم قرار داده شد.

تهیهٔ عصارهٔ متانولی

برای تهیهٔ عصاره، قسمتهای هوایی ۹ گونهٔ *Epilobium* خشک شده و توسط آسیاب برقی، به صورت پودر در آورده شد. خرد کردن نمونه های گیاهی دارای دو مزیت می باشد: اولاً سطح تماس گیاه با حلال افزایش می یابد که این امر سبب بهبودی در امر عصاره گیری می شود و ثانیاً در مصرف حلال نیز صرفه جویی می شود (Sharifa *et al*., 2008).

پودر گیاهان را درون لوله های بزرگ شیشه ای که نام و شماره هر گونه بر روی آنها حک شده ریخته، و روی آنها با متانول خالص پوشانده شد. سپس دهانه لوله‌ها کاملاً با پنبه مسدود گردید تا از ورود احتمالی حشرات و گرد و غبار به داخل لوله

Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir at 19:18 +0430 on Friday May 25th 2018

جلوگیری شود. لوله‌های فوق به مدت ۴۸-۷۲ ساعت در دمای اتاق قرار داده شدند تا ترکیبات موجود در گیاه به وسیلهٔ متانول استخراج شوند. سپس لوله ها را به مدت ۲۴ ساعت در فریزر و در دمای ۱۵- درجهٔ سانتی گراد قرار داده تا چربی‌ها، هیدروکربن‌های سنگین و مواد غیر ضروری (ترکیبات اولیهٔ گیاه) رسوب کرده و جدا شوند (آنچه در عصاره برای آزمایش مهم است، وجود ترکیبات ثانویه می باشد). پس از جداکردن عصاره از ترکیبات رسوبی توسط کاغذ صافی، محلول عصاره را درون لوله‌های دیگری که با برچسب مشخص شده بودند ریخته و پس از تبخیر حلال و تغلیظ عصاره، وزن خشک مواد گیاهی محاسبه و یادداشت گردید. سپس غلظت ٪۱۰ عصاره در متانول، تهیه و برای آزمایشات ضد میکروبی مورد استفاده قرار گرفت.

باکتری‌های مورد استفاده

در این تحقیق به منظور ارزیابی فعالیت ضد میکروبی عصاره های ۹ گونهٔ مختلف از *Epilobium*، از هفت گونه باکتری استاندارد آزمایشگاهی ATCC (American Type Collection Culture)، شامل ۴ باکتری گرم مثبت و ۳ باکتری گرم منفی استفاده شد. نام و مشخصات این باکتری‌ها به این ترتیب می باشد:

Bacillus subtilis (ATCC 465), *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 10031), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 85327).

تعیین خاصیت ضدمیکروبی عصاره ها

الف) *تست حساسیت نسبت به دیسک آغشته به عصارهٔ متانولی*

برای این منظور از روش استاندارد Kirby-Bauer استفاده شد (Bauer *et al.*, 1966). ابتدا کمی از کشت فریز شدهٔ هر باکتری توسط یک سوآپ استریل در شرایط استریل به پلیت‌های حاوی نوترینت آگار (NA)، انتقال داده شد و پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور (۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد) قرار گرفتند تا باکتری‌ها کاملاً رشد کرده و کلنی‌های منفرد از آنها به دست آید. چند کلنی از کشت هر باکتری به وسیلهٔ سوآپ استریل، به ۵ میلی لیتر از محیط کشت مایع مولر هینتون (MH)، در شرایط استریل و در کنار شعله انتقال داده شد و در انکوباتورِ ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴-۶ ساعت، گرماگذاری گردید تا باکتری‌ها به مرحلهٔ فاز لگاریتمی برسند. سپس کدورت هر لوله با استانداردِ ۰/۵ مک فارلند مقایسه شد. استاندارد ۰/۵ مک فارلند، در حقیقت یک سوسپانسیون حاصل از مخلوط ۹/۹۵ میلی لیتر اسید سولفوریک ۰/۱ نرمال و ۰/۰۵ میلی لیتر کلرید باریم آبدار ٪۱ است (کدورت این سوسپانسیون معادل ۱۰×۱/۵ باکتری در سی‌سی از اشریشیاکلی می باشد). در صورت کدر بودن هر کدام از کشت‌ها با اضافه کردن محیط کشت استریل، آنها را با استاندارد ۰/۵ مک فارلند سنجیده و تطبیق کدورت دوبار انجام می شود. سپس به کمک یک سوآپ استریل مقداری از هر کشت بر روی محیط مولر هینتون آگار برده شد و به طور یکنواخت در سه جهت مختلف بر روی تمام سطح آگار در پلیت پخش گردید.

برای تهیهٔ دیسک‌های حاوی عصاره از غلظت ٪۱۰ هر عصاره، ۲۵ میکرولیتر به دیسک‌های کاغذی استریل به قطر ۶ میلی متر منتقل شد. سپس دیسک‌ها در دمای اتاق و زیر هود خشک شدند تا حلال اضافی تبخیر شود. دیسک‌های استریل حاوی عصاره، با فواصل مناسب روی محیط کشت قرار داده شدند و پلیت ها به مدت ۱۸-۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجهٔ سانتی گراد قرار داده شدند. در پایان مدت گرما گذاری، فعالیت ضد میکروبی عصاره‌ها، با تشکیل هالهٔ عدم رشد (Growth Inhibition Zone) مشخص شد. قطر هاله ها با خط کش بر حسب میلی متر اندازه گیری و با جدول حساسیت باکتری ها به آنتی بیوتیک‌های معمول سنجیده شد.

ب) اندازه گیری کمترین غلظت بازدارندهٔ رشد یا MIC

عصارهٔ گیاهانی که در تست انتشار به وسیلهٔ دیسک، اثر ضد میکروبی مناسب نشان داده بودند، مورد استفاده در تست MIC قرار گرفتند (NCCLS, 1999) تا میزان حساسیت باکتری های مورد آزمایش نسبت به آنها تعیین شود. در این روش از میکروپلیت‌های ۹۶ چاهکی استفاده شد. به چاهک اول هر ردیف ۱۲ تایی، ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت مایع مولر هینتون در شرایط استریل ریخته شد (هر میکروپلیت از ۱۲ ردیف عمودی و ۸ ردیف افقی تشکیل شده است). سپس در بقیهٔ چاهک‌ها،

Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir at 19:18 +0430 on Friday May 25th 2018

۵۰ میکرولیتر محیط کشت مایع اضافه شد. در مرحلهٔ بعد به چاهک‌های ردیف اول ۱۰۰ میکرولیتر عصاره ٪۱۰ اضافه شد. سپس ۵۰ میکرولیتر از چاهک اول به چاهک دوم انتقال داده شد و به همین روش عصاره به صورت ۲ برابر تا چاهک آخر رقیق شد. در نهایت ۵۰ میکرولیتر از چاهک آخر به خارج از آن ریخته شد تا رقت های سریال با حجم یکسان تهیه شود. در مرحلهٔ آخر به تمام ۹۶ چاهک ۵۰ میکرولیتر از هر باکتری در ردیف های ویژه ریخته و به مدت ۲۴ ساعت، میکروپلیت در انکوباتور قرار داده شد. درضمن از ترکیب محیط کشت و عصاره‌های گیاهی، بدون افزودن باکتری، به عنوان شاهد استفاده شد. در پایان مدت گرما گذاری نتایج با بررسی رشد باکتری و شفافیت عدم رشد، مینیمم غلظت بازدارندهٔ رشد (MIC) برای هر عصاره گزارش شد.

ج) *تعیین حساسیت باکتریها نسبت به آنتی بیوتیکهای معمول به روش انتشار در دیسک*

به منظور مقایسه و ارزیابی اثرات به دست آمده از عصاره های گیاهی با آنتی بیوتیک‌های رایج، هاله‌های عدم رشد در حضور این آنتی بیوتیک‌ها در شرایطی مشابه با تست عصاره‌ها، اندازه‌گیری شدند.

نتایج

عصارهٔ متانولی ۹ گونهٔ *Epilobium* بر روی ۷ سویه باکتری استاندارد، از نظر فعالیت ضد میکروبی، تست شد. اندازهٔ هالهٔ عدم رشد و نتایج حاصله در جدول شمارهٔ ۱ نشان داده شده است. در این آزمایش از متانول خالص به عنوان شاهد استفاده شد، که کلیهٔ باکتریها نسبت به این حلال آلی مقاوم بودند و لذا اثر ضد میکروبی به دست آمده، مربوط به عصاره های گیاهی می باشد. همان طور که در جدول ۱ دیده می شود، تقریباً هیچیک از عصاره‌ها اثر قابل توجهی روی باکتری‌های سودوموناس آئروجینوزا (P.ae) و انتروکوکوس فکالیس (Ent.) نداشتند.

جدول ۱. حساسیت باکتری‌ها نسبت به عصاره‌های گیاهی (اعداد مربوط به قطر هاله عدم رشد بر حسب میلی‌متر می باشد)

عصاره	باکتری						
	B.su	S.au	S.ep	Ent.	E.coli	Klb.	P.ae
E.montanum	۲۰	۲۲	۲۵	۰	۱۱	۰	۰
E.parviflorum	۲۰	۱۵	۲۰	۰	۱۵	۱۰	۰
E.algidum	۱۲	۱۰	۱۴	۰	۱۲	۹	۰
E.hirsutum	۱۸	۱۶	۲۵	۸	۱۳	۱۱	۸
E.dodonaei	۲۰	۱۸	۲۲	۰	۱۱	۱۰	۰
E.minutiflorum	۱۴	۱۳	۱۵	۸	۹	۸	۰
E.roseum subsp. *subsessile*	۰	۰	۰	۰	۸	۰	۰
E.gemmascens	۱۶	۱۳	۲۰	۰	۱۶	۱۳	۸
E.confusum	۱۲	۱۶	۱۸	۰	۱۰	۱۰	۰

در بین عصاره‌های تست شده، مؤثرترین عصاره روی باکتری‌های گرم مثبت، عصارهٔ مربوط به *E.montanum* و پس از آن *E.dodonaei* و مؤثرترین عصاره روی باکتری‌های گرم منفی، عصارهٔ گونهٔ *E.gemmascens* و *E.hirsutum* می‌باشد. با توجه به نتایج به دست آمده، عصارهٔ *E.roseum* subsp. *subsessile* هیچ اثر قابل توجهی روی باکتری‌ها نداشته است. نتایج مربوط به تست حساسیت باکتری‌ها به آنتی بیوتیک‌های مرسوم به روش انتشار در دیسک، در جدول ۲ ارائه شده است. چهار آنتی بیوتیک اول در این جدول، فقط روی باکتری‌های گرم مثبت، سه آنتی بیوتیک بعدی هم روی باکتری‌های گرم مثبت و هم گرم منفی و دو آنتی بیوتیک باقیمانده، تنها روی باکتری‌های گرم منفی مؤثرند. مقایسهٔ دو جدول ۱ و ۲ نشان می‌دهد که در برخی از عصاره‌ها، هاله‌هایی در حد آنتی بیوتیک‌های معمول به دست آمده است؛ مثلاً عصارهٔ *E.montanum* قابل مقایسه با آنتی بیوتیک‌هایی از قبیل اریترومایسین، سفالوتین، پنی سیلین و کلوگزاسیلین می باشد.

Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir at 19:18 +0430 on Friday May 25th 2018

جدول ۲. حساسیت باکتری‌ها نسبت به آنتی بیوتیک‌های معمول (اعداد مربوط به قطر هاله رشد بر حسب میلی‌متر می باشد)

آنتی بیوتیک	باکتـــری						
	B.su	S.au	S.ep	Ent.	E.coli	Klb.	P.ae
Erythromycin	۲۵	۲۳	۳۰	۱۶	-	-	-
Cephalothin	۲۱	۲۲	۳۴	۰	-	-	-
Penicillin	۱۵	۱۷	۰	۰	-	-	-
Cloxacillin	۱۶	۱۸	۱۸	۰	-	-	-
Ampicillin	۱۵	۱۳	۱۹	۱۱	۰	۰	۰
Tetracycline	۲۲	۲۰	۳۴	۹	۰	۰	۰
Chloramphenicol	۲۵	۲۱	۳۱	۲۳	۲۰	۳۰	۰
Gentamycin	-	-	-	-	۲۳	۳۰	۱۲
Ciprofloxacin	-	-	-	-	۳۰	۳۴	۲۲

عصاره های مربوط به ۸ نمونه از ۹ عصارهٔ تست شدهٔ اولیه، بر روی ۵ باکتری از ۷ باکتری استفاده شده، تعیین MIC شدند (جدول ۳). پائین‌ترین MIC به دست آمده مربوط به عصارهٔ *E.montanum* و *E.hirsutum*، به میزان $^{mg}/_{ml}$ ۰/۹۳ می باشد که این غلظت مطابق با هاله‌های به دست آمده در تست تعیین حساسیت می‌باشد. مقادیر MIC به دست آمده برای باکتری‌های گرم منفی بالاتر از MIC به دست آمده برای باکتری‌های گرم مثبت می باشد که این موضوع نشان‌دهندهٔ حساسیت بیشتر باکتری‌های گرم مثبت نسبت به عصاره های *Epilobium* می باشد.

پائین‌ترین MICهای به دست آمده، عمدتاً روی باکتری‌های گرم مثبتِ استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس می‌باشند (جدول ۳). کمترین MICهای به دست آمده، روی باکتری‌های گرم منفی، مربوط به عصارهٔ متانولی *E.parviflorum* و *E.gemmascens* می‌باشد که بر روی باکتری اشریشیاکلی به دست آمده است. باکتری گرم منفی کلبسیلا، مقاومت بیشتری را در برابر عصاره‌های گیاهی از خود نشان می دهد.

جدول ۳. مقادیر کمترین غلظت بازدارندهٔ رشد (MIC) به دست آمده از عصارهٔ گونه‌های مختلف مطالعه شدهٔ اپی‌لوبیوم (اعداد برحسب میلی گرم بر میلی‌لیتر می باشند). هر چه عدد به دست آمده کمتر باشد، فعالیت عصارهٔ مربوطه در جهت جلوگیری از رشد باکتری بیشتر خواهد بود.

عصاره	باکتـــری				
	B.su	S.au	S.ep	E.coli	Klb.
E.montanum	۱/۸۷	۱/۸۷	۰/۹۳	-	-
E.parviflorum	۱/۸۷	۳/۷۵	۱/۸۷	۳/۷۵	-
E.algidum	-	-	۷/۵	۱۵	-
E.hirsutum	۳/۷۵	۳/۷۵	۰/۹۳	۷/۵	>۱۵
E.dodonaei	۱/۸۷	۱/۸۷	۱/۸۷	-	-
E.minutiflorum	۳/۷۵	-	۳/۷۵	-	-
E.gemmascens	۳/۷۵	-	۱/۸۷	۳/۷۵	۷/۵
E.confusum	-	۳/۷۵	۱/۸۷	-	-

بحث

استفاده از گیاه *Epilobium* به عنوان یک گیاه شفابخش، از دیر باز مورد توجه بوده است؛ به همین دلیل با پیشرفت تکنولوژی و علوم پزشکی در عصر حاضر نیز توجه به این گیاه مدنظر محققان مختلف می‌باشد. مواد موجود در عصارهٔ *Epilobium* آنالیز و تا حدی شناسایی شده اند. آلکالوئیدها و فلاونوئیدها به فراوانی در آن یافت می شوند. اسید الاژیک، تانن‌های مختلف و اسید الیک نیز در آنها یافت می شود (Watson and Dalwitz, 1991). مهمترین گونهٔ *Epilobium* که در زمینه های مختلف علوم،

Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir at 19:18 +0430 on Friday May 25th 2018

مورد تحقیق و پژوهش بوده است، *E.angustifolium* می باشد، به طوریکه Tita (2001) و همکاران، اثرات ضد درد عصارهٔ این گونه را روی موشی که به آن درد القاء شده بود تست کردند. در این آزمایش، تزریق عصارهٔ مذکور به موش سبب تأخیر در پاسخ حیوان به محرک درد می شود. استفاده های *Epilobium* در طب سنتی، مربوط به درمان بیماری‌های پروستات، معدی-روده ای و بی نظمی‌های قاعدگی می شود (Tita *et al*., 2001).

یکی از مهمترین کاربردهای سنتی *Epilobium* در درمان بیماریهای غدهٔ پروستات در مردان می باشد (Vitalone, 2001). همچنین عصارهٔ *E. angustifolium* و *E. parviflorum* به واسطهٔ جلوگیری از ترشح پروستاگلاندین ها، خاصیت ضد التهابی و آرام بخشی نیز دارند (Ducrey *et al*., 1997).

طی آزمایشی، Voynova و همکاران(1991) مشخص شد که عصارهٔ الکلی *E. hirsutum* (یکی از گونه های رایج و متداول جنس *Epilobium*)، قادر است از فعالیت و گسترش تومور ایجاد شده در موش جلوگیری نماید. همانطور که در بالا بحث شد، توجهات اخیر بیشتر روی خواص ضد توموری و ضد التهابی گیاه *Epilobium* متمرکز شده و کمتر به اثرات ضدمیکروبی آنها پرداخته شده است. گزارشات اندکی از بررسی فعالیت ضد میکروبی عصارهٔ الکلی برخی از گونه های *Epilobium* توسط برخی از پژوهشگران منتشر شده و در ایران تاکنون هیچ گزارش جامعی در این زمینه ارائه نشده است (Pakravan *et al*., 2012; Bartfay *et al*., 2012; Battinelli *et al*., 2001). با توجه به کمبود اطلاعات در مورد فعالیت آنتی بیوتیکی این گیاه، بر آن شدیم تا به ارزیابی فعالیت ضد میکروبی عصارهٔ ۹ گونه از *Epilobium* بپردازیم. تمام عصاره‌های استفاده شده، به جز عصارهٔ مربوط به گونهٔ *E. Roseum Subsp . Subsessil* ، دارای اثرات ضدمیکروبی بودند. این نتیجه، تأیید کنندهٔ علت استفاده از *Epilobium* در طب سنتی در ایران و دیگر کشورها می باشد. باکتری‌های بیماریزای استفاده شده در این تحقیق مربوط به دو گروه گرم مثبت و گرم منفی بودند. برخی از عصاره‌ها مثل *E. montanum* و *E. dodonaei* بیشتر روی باکتریهای گرم مثبت و عصاره هایی چون عصارهٔ *E. gemmascens* و *E. hirsutum* اثر قابل توجهی روی باکتریهای گرم منفی از خود نشان دادند. این موضوع می تواند مربوط به تفاوت در برخی ترکیبات موجود در عصارهٔ این گیاهان باشد که واکنش‌های متفاوتی با دیوارهٔ سلول باکتری انجام می دهند. با توجه به اینکه مقادیر MIC به دست آمده برای باکتریهای گرم منفی، بزرگتر می باشد، لذا باکتریهای گرم منفی نسبت به عصاره ها، مقاوم‌ترند. با توجه به نتایج به دست آمده در جدول MIC و هاله های عدم رشد، می‌توان گفت که اثرات ضد میکروبی در *Epilobium* های دارای گل‌های بزرگتر، نسبت به آنهایی که گل کوچک دارند، بیشتر می باشد. مقایسه بین MIC های به دست آمده از *E.dodonaei* ، *E. hirsutum* ، *E. montaum* ، *E. parviflorum* و همچنین *E. confusum* و *E. minutiflorum* این موضوع را تا حدی تأیید می‌کند. بنابراین می توان چنین حدس زد که احتمالاً ترکیبات موجود در گل‌های این گیاه از نظر فعالیت ضدمیکروبی فعال‌ترند. با توجه به مقاوم شدن روز افزون باکتری‌ها نسبت به آنتی بیوتیک‌های رایج و معمول، وجود اثرات ضد میکروبی به دست آمده در این تحقیق، سبب امیدواری ما به منظور توانایی استفاده از ترکیبات طبیعی موجود در این گیاهان به جای ترکیبات مصنوعی با عوارض جانبی آنتی بیوتیک‌های سنتزی، شده است. مقایسه بین دو جدول ۱ و ۲ (هاله های عصاره و آنتی بیوتیکها) مؤید توان رقابتی عصاره‌های گیاهی *Epilobium* با آنتی‌بیوتیک‌های متداول می باشد.

نتایج این آزمایش مشخص می کند که باکتری‌های گرم مثبت، نسبت به باکتری‌های گرم منفی در برابر عصاره گیاه علف بید، حساس‌تر هستند. از بین باکتری‌های گرم مثبت استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس (S.ep) و از بین باکتری‌های گرم منفی اشریشیا کلی (*E. coli*) بیشترین حساسیت را نشان می دهند.

با توجه به داده‌های حاصله در این تحقیق، می توان عصاره های برخی از گونه‌های *Epilobium* را دارای فعالیت آنتی بیوتیکی اعلام کرد که این نتایج مکمل دیگر اثرات *Epilobium* (از قبیل اثر ضد دردی، اثر ضد تکثیری روی سلول‌های سرطانی، اثر ضد التهابی)، بررسی شده توسط دیگر محققان می باشد. به هر حال از آنجائیکه در این مطالعه و مطالعات مشابه، عصاره خام که مرکب از مواد متفاوت و کل بخش‌های هوایی گیاه است، مورد استفاده قرار گرفته، انجام تحقیقات تکمیل کننده برای تشخیص ماده مؤثره، بخش فعال‌تر گیاه و همچنین تعیین و بررسی مکانیسم های شیمیایی اثرات ضد میکروبی عصارهٔ این گیاه، مفید و ضروری به نظر می رسد.

Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir at 19:18 +0430 on Friday May 25th 2018

منابــع

Azizian, D. 2005. Flora of Iran, Family Onagraceae. Institute of forest and rangeland research Publications. 56 p.

Bartfay, W.J., Bartfay, E., Johnson, J.G. 2011. Gram-negative and gram-positive antibacterial properties of the whole plant extract of willow herb (*Epilobium angustifolium*). Biological Research for Nursing. 14(1): 85-89.

Battinelli, L., Tita, B., Grazia, M., Mazzanti, G. 2001. Antimicrobial activity of *Epilobium* species extracts. Il Farmaco. 56: 345-348.

Bauer, A.W., Kirby, M.M., Sherris, J.C., Turck, M. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. American Journal of Pathology. 45: 493-496.

Borchardt, J.R., Wyse, D.L., Sheaffer, C.C., Kauppi, K.L., Fulcher, R.G., Ehlke, N.J., Biesboer, D.D., Bey, R.F. 2008. Antimicrobial activity of native and naturalized plants of Minnesota and Wisconsin. Journal of Medicinal Plants Research. 2(5): 98-110.

Cowan, M.M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. Clinical Moicrobiology Reviews. 12(4): 564-582.

Ducrey, B., Marston, A., Gohring, S., Hartmann, M. 1997. Inhibition of 5-a reductase and aromatase by the ellagitannins oenothein A, B from *Epilobium* species. Planta Medica. 63(2): 111-119.

Ghahraman, A. 1992-1996. Plant Systematics -Chromophytes of Iran. TehranUniversity Press. Vol. 1-4. 2778 p.

Larson, E. 2007. Community factors in the development of antibiotic resistance. Annual Review of Public Health. 28: 435-437.

Kilic, A., Kilic, A., Inandi, T. 2001. Folkloric treatment of tinea capitis with *Epilobium angustifolium*. Plastic and Reconstructive Surgery. 108: 1824-1825.

National Committee for Clinical Laboratory Standard (NCCLS). 1999. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 9th International Supplement. M100-S9. Wayne, Pennsylvania, USA.

Pakravan, S., Hajimoradloo, A., Ghorbani, R. 2012. Effect of dietary willow herb, *Epilobium hirsutum* extract on growth performance, body composition, haematological parameters and *Aeromonas hydrophila* challenge on common carp, *Cyprinus carpio*. Aquaculture Research. 43(6): 861–869.

Raei, F., Ghorbani, M., Habibi, M., Ashoori, N. 2014. Antibacterial activity of alcoholic extracts of two *Clematis* L. (Ranunculaceae) species from Iran. Journal of Medicinal Plants. 13(49): 40-46.

Sharifa, A.A, Neoh, Y.L, Iswadi, M.I, Khairul, O., Abdul Halim, M., Jamaludin, M., Mohamed zman, A.B., Hing, H.L. 2008. Effects of Methanol, Ethanol and aqueous extract of *Plantago major* on gram positive bacteria, gram negative bacteria and yeast. Annales of Microscopy. 8: 42- 44.

Vitalone, A., Bordi, F., Baldazzi, C., Saso, L., Tita, B. 2001. Anti-proliferative effect on a prostatic cell line(PZ-HPV-7) by *Epilobium angustifolium*. Il Farmaco. 56(5): 483-489.

Vitalone, A., McColl, J., Thome, D., Costac, L., Tita, B. 2003. Characterization of the effect of *Epilobium* extracts on human cell proliferation. Pharmacology. 69: 79-87.

Voynova, E., Dimitrova, S., Hortman, K. 1991. Inhibitory action of extracts of *Maclura ourantiaca* and *Epilobium hirsutum* on tumor models in mice. Acta Physiologica Pharmacologica. 17(4): 50-52.

Tita, B., Abel-Haq, H., Vitalone, A., Mazzanti, G., Saso, L. 2001. Analgesic properties of *Epilobium angustifolium* evaluated by the hot plate test and the writhing test. Il Farmaco. 56: 341-343.

Watsone, L., Dallwitz, M.J. 1991. The families of angiosperms, automated descriptions with interactive identification and information retrieval. Australian Systematic Botany. 4: 681-695.

Zargari, A. 1997. Medicinal Plants. 6th edition. Vol. 1-5. Tehran University Press. 4854 p.