

دانشور

پژوهشی

ترکیب اسانس و آثار آنتی باکتریال عصاره هیدرولکلی و اسانس گیاه آویشن باریک (Ziziphora clinopodioides: LAM) بر باکتری‌های منتخب

نویسنده‌گان: دکتر محسن چیتساز^{۱*}، دکتر محسن ناصری^۲، مهندس محمد کمالی‌تزاد^۴، مریم بازرجان^۵، صادق منصوری^۶ و فربا انصاری^۷

۱. استادیار گروه میکروبیولوژی دانشکده پژوهشی دانشگاه شاهد
۲. دانش آموخته رشته پژوهشی دانشگاه شاهد
۳. استادیار گروه فارماکولوژی دانشکده پژوهشی دانشگاه شاهد
۴. کارشناس گروه فارماکوگنوزی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
۵. کارشناس ارشد گروه فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی تهران
۶. کارشناس گروه میکروبیولوژی دانشگاه شاهد
۷. کارشناس گروه فارماکولوژی دانشکده پژوهشی دانشگاه شاهد

* نویسنده مسئول:

Email: chitsaz@shahed.ac.ir

چکیده

مقدمه: آویشن باریک یکی از گیاهان دارویی است که به نام علمی Ziziphora clinopodioides شناخته شود. در کتب طب سنتی، خاصیت ضدغذنی کننده و استفاده درمانی در بعضی بیماری‌های عفونی برای آن ذکر شده است. به دنبال جستجوی مواد ضد میکروبی مؤثرانه منابع گیاهی در این تحقیق اثر ضد میکروبی مواد مستخرجه از گیاه آویشن باریک در شرایط آزمایشگاهی مورد مطالعه قرار گرفته و اسانس آن برای شناسایی ترکیبات مشتمله تجزیه شده است.

مواد و روش‌ها: عصاره هیدرولکلی 50 گرم از گیاه با حلال متابولی 70 درصد به روش خیساندن استخراج گردید و اسانس به روش تقطیر با آب از 100 گرم پودر خشک گیاه گرفته شد. بهره اسانس ۰/۹۶w/w درصد بود. میکروارکانیسم‌های مورد بررسی، شامل استافیلوکوکوس ارثوس (ATCC25923)، استرپتوکوکوس پیوژن (PTCC1470)، اشريشياکاکي (PTCC1269)، کلبيسلا پنومونيه (PTCC1053)، سالمونلاتيفي موريوم (PTCC1609) و سودوموناس آفروجینوزا (PTCC1430) بودند. اثر ضد میکروبی عصاره، ابتدا با روش آگار دیفیوژن از چاهک و اسانس به روش دیسک دیفیوژن در محیط مولر-هیبنون آگار مورد آزمایش قرار گرفت. سپس MIC و MBC مواد استخراج شده به روش استاندارد ماکروبراث دایلوشن در محیط مولر-هیبنون براث تعیین گردید. ترکیبات مشتمله اسانس با استفاده از دستگاه‌های GC و سنتون-5 DB-5 متری جداسازی و شناسایی شد.

نتایج: عصاره متابولی در غلظت 25 mg/well موجب توقف رشد دو باکتری گرم مثبت مورد آزمایش گردید، ولی بر چهار باکتری گرم منقی، اثر بازدارنده نداشت. قطر منطقه توقف رشد برای استافیلوکوکوس ارثوس ۲۰mm و در مورد استرپتوکوکوس پیوژن 22mm بود. MIC و MBC به ترتیب ۱۵mg/ml و ۳۱mg/ml بودند. اسانس موجب توقف رشد همه باکتری‌های مورد آزمایش گردید و اثر آن بر سالمونلاتيفي موريوم و استرپتوکوکوس پیوژن ۲۴mm استرپتوکوکوس پیوژن: ۲۷mm، اشريشياکاکي: ۱۷mm، کلبيسلا پنومونие: ۲۱mm، سالمونلاتيفي موريوم: ۲۸mm و سودوموناس آفروجینوزا: ۱۳mm بودند. همچنین MIC اسانس برای استافیلوکوکوس ارثوس (900 µg/ml)، استرپتوکوکوس پیوژن (450µg/ml)، اشريشياکاکي (1800µg/ml)، کلبيسلاپنومونие (900µg/ml)، سالمونلاتيفي موريوم (225µg/ml) و سودوموناس آفروجینوزا (1800µg/ml) تعیین شد. دستگاه‌های گازکروماتوگرافی و گازکروماتوگرافی متصل به طیف نگار چرمی، ۲۲ ترکیب متأثر را در اسانس جداسازی و شناسایی کرد که از بين آن‌ها ۵ ترکیب بیش از 73 درصد اسانس را تشکیل می‌داد که به ترتیب، شامل پولکون (29/3)، پارامتا - ۳- آن-۸- اول (19/1)، نشو-متتول (11/6)، پیپرید، بیپرید، تون (9/4)، ۴/۵ درصد) و ۱۰/۸ سیتول (4/5 درصد) است.

بحث و نتیجه‌گیری: یافته‌های تحقیق حاضر نشان می‌دهد که گیاه آویشن باریک، دارای اثر ضد میکروبی علیه انواعی از باکتری‌های گرم مثبت و گرم منقی است و تأثیر آن بر سالمونلات اثبات شدیدتر است. این نتیجه‌گیری می‌تواند برای استفاده‌های گیاه در طب سنتی، صنایع غذایی و کابرد های درمانی جدید مورد توجه قرار گیرد.

دوما هنامه علمی -
پژوهشی
دانشگاه شاهد
سال چهاردهم - شماره
68
ارديبهشت 1386

وصول:	84/12/24
ارسال اصلاحات:	85/2/9
دریافت اصلاحات:	85/3/13
پذیرش:	85/4/24

مقدمه

ستی احتمال وجود آثار ضد میکروبی را در آن نشان می دهد. هرچند که وجود اثر ضد میکروبی در انواع دیگر آویشن مانند آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*) [13] و آویشن معمولی (*Thymus koschyanus*) [14] و آویشن [15] نشان داده شده، ولی وجود این خصوصیت در آویشن باریک، قبل از این مورد مطالعه قرار نگرفته و نیاز داشت بررسی و روشن شود. در این تحقیق، اثر ضد میکروبی دو نوع ماده استخراج شده از گیاه آویشن باریک (عصاره متابولی و اسانس) بر دو نوع باکتری گرم مثبت و چهارگونه باکتری گرم منفی در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفته است. همچنین اسانس برای آگاهی از ترکیبات تشکیل دهنده تجزیه شده است.

مواد و روش ها

۱. تهیه گیاه: گیاه آویشن باریک به مقدار مورد نیاز از مناطق کوهستانی لار و لواسان در استان تهران در خرداد و تیر ماه جمع آوری گردید. سرشاخه های تمیز در جریان هوای آزاد، خشک و برای آزمایش ها مورد استفاده قرار گرفت. یک پایه کامل و گلدار گیاه توسط بخش فارماکوگنوزی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی بررسی و مشخصات آن با *Ziziphora clinopodioides* هرباریومی نگهداری شد.

۲. سویه های میکروبی: سویه های میکروبی در این برسی عبارت بودند از *S. aureus* (ATCC25923) *P. aeruginosa* (PTCC1430) *S. pyogenes* (PTCC1470) *S. typhimurium* (PTCC 1609) *E. coli* (PTCC1269) *Klebsiella pneumoniae* (PTCC 1053) پژوهش های علمی و صنعتی ایران و شرکت دیفکسو (Difco) تهیه شدند.

۳. تهیه عصاره گیاه: پودر ۱۰۰ گرم از بخش های هوایی خشک شده گیاه را در ۵۰۰ میلی لیتر حلال

شیوع بالای بیماری های عفونی مقاوم به درمان به علت افزایش مقاومت به آنتی بیوتیک ها و مشکلات موجود در کاربرد داروهای سنتیک، از جمله هزینه بالای دستیابی به داروهای جدید و عوارض جانبی داروهای موجود، توجه بسیاری از محققین را به طب سنتی معطوف کرده است [12,3]. شواهد موجود در طب سنتی خصوصاً طب سنتی ایران که از غنای محکم علمی و دیرینه طولانی در استفاده از گیاهان دارویی برای درمان بیماری ها برخوردار است، می تواند مبنای ارزشمندی برای دستیابی به داروهای مؤثرتر باشد [4,5].

یکی از این گیاهان دارویی، گیاه کاکوتی کوهی یا آویشن باریک است که به نام علمی *Ziziphora clinopodioides* شناخته می شود [6] و احتمالاً یکی از انواع گیاهان دارویی است که در کتب طب سنتی ایران به نام "مشک طرامشک" و "صعتر" از آن نام برده شده و خواص و کاربردهای متعددی برای آن ذکر گردیده است [7,8] که از آن جمله می توان به کاربرد برگ ها و گل های این گیاه در درمان سرماخوردگی به علت آثار ضد عفونی کننده و ضد التهاب آن اشاره کرد [10]. در پاکستان، این گیاه در درمان تب تیفوئید مصرف می شود و گونه *Z. tenuior* در درمان دیسانتری و تب به کار می رود. گونه مذکور، همچنین در ترکیب ۲ داروی طب سنتی پاکستان به نام های *Dawa-I-Abzan* و *Muffareh kabir* کاربرد دارد [11,12]. در هند، جوشانده گیاه خشک را برای معالجه تیفوس می نوشند و در گرمای زیاد از دم کرده برگ های گیاه به عنوان نوشابه خنک کننده استفاده می کنند و از گونه *Z. tenuior* در درمان عفونت های رحمی استفاده می شود [11]. گیاه آویشن باریک که یکی از انواع آویشن محسوب می شود به فراوانی در مناطق کوهستانی شمال غرب ایران و البرز مرکزی می روید و به عنوان معطر کننده در مواد غذایی و ادویه های استفاده می شود [6]. شواهد ذکر شده از کاربردهای این گیاه در طب

100 μm (25mg/well) ریخته می‌شد. در مورد اسانس، دیسک‌های کاغذی محتوی 10ml و 20ml اسانس در پلیت‌های خالی جداگانه تهیه شده، به روی پلیت‌های تلقیح شده منتقل می‌گردید. پلیت‌ها به گرمانخه 37°C منتقل و 24 ساعت اجازه رشد داده می‌شدند. سپس آن‌ها برای توقف رشد میکروبی در اطراف چاهک‌ها و دیسک‌ها برسی می‌شدند و قطره‌های توقف رشد، اندازه‌گیری و ثبت می‌شد. برای اطمینان از نتیجه، هر آزمایش سه بار تکرار می‌گردید.

2-5. تعیین حداقل غلظت مهاری (MIC) و کشنندگی (MBC): در محیط مولر-هیتون براث، رقت‌های سریال دو مرتبه‌ای از عصاره متابولیک تهیه می‌شد. در ادامه آزمایش، از کشت‌های 24 ساعته سویه‌های میکروبی سوسپانسیون با غلظت 10^6 CFU/ml در محیط مولر-هیتون براث تهیه و یک میلی‌لیتر از آن به هریک از لوله‌های آزمایش تست افزوده می‌شد. مقدار نهایی اینوکلوم در هریک از لوله‌ها 10^5 CFU/ml و غلظت نهایی عصاره در لوله‌های آزمایش به ترتیب زیر بود:

3/12, 1/56, 0/78, 0/39, 0/19, 0/097(mg/ml)

5. 26

در مورد اسانس رقت‌های سریال دو مرتبه‌ای در محدوده غلظتی 0-0/03-4 درصد در محیط مولر-هیتون براث دارای یک درصد DMSO در غلظت نهایی تهیه می‌شد. همچنین یک لوله به عنوان کنترل مثبت (دارای سوسپانسیون میکروبی و فاقد عصاره یا اسانس) و یک لوله به عنوان کنترل منفی (دارای محیط کشت، بدون سوسپانسیون میکروبی) به سری آزمایش افزوده می‌شد. لوله‌ها به گرمانخه 37°C منتقل می‌شد و بعد از 24 ساعت برای رشد میکروبی مورد برسی قرار می‌گرفت. کمترین غلظت عصاره و اسانس که مانع از رشد باکتری شده بود (محیط شفاف باقی مانده بود) به عنوان MIC در نظر گرفته می‌شد. برای اطمینان از نتیجه، آزمایش‌ها برای هر سویه باکتری، سه مرتبه تکرار می‌شد.

(مخلوط متابول 70 درصد در آب مقطر) خیسانده، بعد از 72 ساعت توسط کاغذ صافی واتمن شماره 1 Rotary Evaporator (IKA labortechnic) متابول را از محلول صاف شده در دمای 50°C و فشار پایین جدا کرده، سپس عصاره را لیوفیلیزه کردیم و پودر خشک را برای آزمایش‌ها مورد استفاده قراردادیم [17].

4. تهیه اسانس: 100 گرم از سرشاخه‌های خشک گیاه را با دستگاه خردکن، آسیاب کرده، سپس روغن اسانسی را به روش تقطیر با آب در دستگاه کلوونجر مدل دارونامه بریتانیا به مدت 2 ساعت استخراج و جمع آوری کردیم. نسبت اسانس به وزن خشک گیاه 0/96w/w درصد اندازه‌گیری شد. اسانس در شیشه‌های رنگی در بسته در یخچال برای استفاده نگهداری می‌شد [18].

5. تست‌های فعالیت ضدمیکروبی: فعالیت آنتی‌باکتریال اسانس به روش دیسک دیفیوژن و عصاره به روش انتشار از چاهک مورد آزمایش قرار گرفت [19]. سپس MIC و MBC با روش ماکروبراث دایلوشن استاندارد NCCLS تعیین شد؛ با این تغییر که از DMSO با غلظت نهایی 1 درصد به عنوان امولسیفایر در محیط مولر-هیتون براث استفاده شد [20].

5-1. آزمایش‌های Diffusion: چاهک‌هایی به قطر 6mm در پلیت‌های مولر-هیتون آگار (Merck) به ضخامت 4mm ایجاد می‌شد. از کشت 24 ساعته هر یک از سویه‌های میکروبی، سوسپانسیونی با کدورت معادل 5/0 مک فارلند (108cfu/ml) در سرم فیزیولوژی (0/85NaCl) تهیه می‌گردید و با سوآب‌های پنبه‌ای استریل به صورت یکنواخت در پلیت‌ها تلقیح می‌شد. محلول عصاره که با غلظت 250mg/ml در آب مقطر حل، و با عبور دادن از صافی‌های میلی‌پور با قطر 0/2 μm استریل شده بود، به هر چاهک مقدار

نتایج

عصاره متانلی تنها توانست دو گونه گرم مثبت (استافیلوکوکوس ارئوس، و استرپتوکوکوس پیوژن) را مهار کند، درحالی که اسانس انواع گرم مثبت و گرم منفی را مهار کرد و بیشترین تأثیر را بر دو گونه سالمونلا تیفی موریوم و استرپتوکوکوس پیوژن داشت. اختلاف هاله‌های توقف رشد در جدول 1 نشان داده شده است. بیشترین بازدارندگی اسانس علیه سالمونلا تیفی موریوم مشاهده گردید [MIC = (225 $\mu\text{g/ml}$] معادل ۰.۲۵% (v/v) اسانس] و اثر آن به صورت کشنده ظاهر شد [MBC MIC = ۰.۲۵% (v/v)]. مقادیر MBC MIC و شد است. ۲۲ ترکیب متفاوت در اسانس شناسایی گردید که ۵ ترکیب، شامل پولگون (۲۹/۳ درصد)، پارامتا - ۳-ان-۸-اول (۱۹/۱ درصد)، نئو-مت-تول ۱۱/۶ درصد)، پیپری تون (۹/۴ درصد) و او ۸ سینثول (۴/۵ درصد)، درصد، بیش از ۷۳ درصد آن را تشکیل می‌داد. پولگون با ۲۹/۳ درصد بیشترین ترکیب موجود در اسانس بود. در جدول 3 اجزای تشکیل دهنده اسانس با نسبت هر یک ارائه شده است.

برای مشخص کردن MBC، مقدار ۱۰ میکرولیتر از لوله‌های مولر- هیلتون آگار به صورت سطحی کشت داده می‌شد. در مورد استرپتوکوکوس پیوژن از محیط بلادآگار استفاده گردید. پلیت‌ها ۲۴ ساعت در ۳۷°C گذشتند و بعد از ۲۴ ساعت، کلنی‌های هر پلیت شمارش و تعداد در واحد حجم محاسبه می‌شد. کم‌ترین غلظتی از عصاره/اسانس که در آن، بیش از ۹/۹ درصد از کل سلول‌های قابل زیست موجود در واحد حجم اینوکلوم اولیه کشته شده بودند، به عنوان MBC در نظر گرفته می‌شد.

6. تجزیه اسانس: اجزای موجود در اسانس توسط دستگاه گازکروماتوگرافی و گازکروماتوگرافی متصل به طیفنگار جرمی (GC, 9-A-Shimadzu) و (GCMS, Varian) با استفاده از ستون DB-5 ۳۴۰۰ می‌تری جداسازی و شناسایی گردید. شناسایی اجزای تشکیل دهنده اسانس با مقایسه طیف جرمی آن‌ها با طیف ترکیب‌های موجود در حافظه کامپیوتر و ترکیب‌های معتبر صورت گرفت.

جدول ۱ اثر مهاری عصاره متانلی و اسانس آویشن باریک بر باکتری‌های منتخب در آزمایش آگار دیفیوژن (نتایج به صورت میانگین قطره‌های هاله‌های توقف رشد (به میلی‌متر بیان شده است)

قطر منطقه‌های توقف رشد (به میلی‌متر) در انفر			نام باکتری
عصاره متنالی	اسانس ۱۰ $\mu\text{l}/\text{disk}$	اسانس ۲۰ $\mu\text{l}/\text{disk}$	
20/0±0/0	20/0±0/0	23/6±0/6	استافیلوکوکوس ارئوس (ATCC25923)
21/7±0/6	22/0±2/0	27/0±0/0	استرپتوکوکوس پیوژن (PTCC1470)
—	13/0±2/0	17/0±2/0	اشریشیاکلی (PTCC1269)
—	18/3±0/6	21/0±1/0	کلبسیلا پنومونیه (PTCC1053)
—	23/0±1/0	27/7±0/5	سالمونلاتیفی موریوم (PTCC1609)
—	8/0±0/0	13/0±1/0	سودوموناس آروجینوزا (PTCC1430)

انحراف معیار \pm میانگین

علامت "—" به معنای عدم تأثیر ماده مورد آزمایش و تشکیل نشدن منطقه توقف رشد است.

جدول 2 کمترین غلظت‌های بازدارنده رشد (MBCs) و کمترین غلظت‌های کشنده (MICs) عصاره متانلی (بر حسب mg/ml) و اسانس (بر حسب درصد و µg/ml) گیاه آویشن باریک (*Ziziphora clinopodioides*) بر باکتری‌های منتخب در آزمایش ماکروبراث دایلوشن

عصاره متانلی		اسانس		نام ارگانیسم
MIC (mg/ml)	MBC (mg/ml)	MIC (% v/v) (µg/ml)	MBC (% v/v) (µg/ml)	
15/0	31/0	/1/0 900	/1/0 900	استافیلوکوکوس ارئوس
15/0	31/0	/0/5 450	/0/5 450	استرپتوکوکوس پیوژنز
-	-	/2 1800	/2 1800	اشریشیاکلی
-	-	/1 900	/1 900	کلبیسلا پنومونیه
-	-	/0/25 225	/0/25 225	سالموناتیفی موریوم
-	-	/2 1800	/2 1800	سودوموناس آروجینوza

عفونت ثانوی باکتریال یا تأثیر بر عفونت ثانوی

باکتریال موجود باشد.

بیشترین تأثیر اسانس بر سالمونلا تیفی موریوم بود. از طرفی، تجزیه اسانس نشان داد که پولگون با نسبت 29/3 درصد، ترکیب اصلی اسانس گیاه را تشکیل می‌دهد و بنابراین، نقش اساسی در خواص فارماکولوژیک این گیاه خواهد داشت. نشان داده شده که پولگون دارای فعالیت بارز ضد باکتری و ضد قارچ بوده، خصوصاً بر سوش‌های مختلف سالمونلا مؤثر است [21]. این یافته از کاربرد گیاه در درمان تب تیفوئید که در هند و پاکستان متداول است حمایت می‌کند [11]، هرچند که به علت گسترش مقاومت آنتی‌بیوتیکی، خصوصاً در بین باکتری‌های گرم منفی روده‌ای، اظهار نظر مطمئن درباره میزان تأثیر گیاه در درمان تب تیفوئید نیاز به بررسی تعداد کافی از سویه‌های بالینی انواع سالمونلاهای ایجادکننده تب تیفوئید دارد. همچنین باید در نظر داشت که پولگون جدول 3 ترکیب کمی و کیفی (w/w%) روغن انسانی گیاه آویشن باریک

بحث و نتیجه گیری

نتایج به دست آمده نشان می‌دهد که گیاه آویشن باریک دارای اثر ضد میکروبی بر تعدادی از باکتری‌های گرم مثبت و انواعی از باکتری‌های گرم منفی است. عصاره متانلی آن طیف اثر محدودی داشت و فقط دو گونه گرم مثبت (استافیلوکوکوس ارئوس و استرپتوکوکوس پیوژنز) را تحت تأثیر قرار داد، در حالی که اسانس اثری کشنده بر انواع گرم مثبت و گرم منفی، هر دو، اعمال کرد. این یافته‌ها با برخی کاربردهای گیاه در طب سنتی برای درمان تعدادی از بیماری‌های عفونی، مانند استفاده از آن در درمان سرماخوردگی به علت خاصیت ضد عفونی کننده [10] و استفاده از آن به عنوان ضد عفونی کننده در تعدادی از ترکیب‌های گیاهان دارویی مانند Dawa-I-Abzan و Muffareh kabir که در پاکستان استفاده می‌شود [12] و [11] هماهنگی دارد. ممکن است نقش آن در درمان سرماخوردگی به علت جلوگیری از استفرار

ماده اصلی اسانس‌های گونه‌های *Z. hispanica* و *Z. brevicalyx* و *Z. tenuior* را تشکیل می‌دهد [26 و 25]. تحقیقات انجام شده بر روی ترکیبات متخلکه اسانس کاکوتی کوهی (آویشن باریک) که در ترکیه انجام شده نشان می‌دهد که پولگون، متون و متول، سه ترکیب عمده تشکیل دهنده اسانس کاکوتی کوهی هستند [27]. از طرف دیگر، نتایج مطالعه انجام شده بر روی اسانس کاکوتی کوهی، جمع‌آوری شده در ناحیه پلور که در مرکز تحقیقات جنگل‌ها و مراتع انجام گرفته، وجود دو ترکیب عمده پولگون و نثومتوول را ثابت کرده است [28]. همچنین سید ابراهیم سجادی و همکاران او [29] سه ماده عمده اسانس کاکوتی کوهی، جمع‌آوری شده از استان چهار محال و بختیاری را پولگون (53/2 درصد)، پارامتا - 2 ان - 1 اول (21/4 درصد) و 1 - 8 سیتوول (10/3 درصد) گزارش کرده‌اند [29]. اگر چه در هر سه مورد، پولگون، ماده اصلی اسانس کاکوتی کوهی است ولی این ماده در نمونه گیاهی بررسی شده از استان چهارمحال و بختیاری بسیار بیش تر بوده و بیش از نیمی از اسانس را شامل می‌شود. همچنین اگر چه بسیاری از اجزای تشکیل دهنده اسانس در هر سه نمونه مشابه است، ولی اجزای غیر مشابه نیز در این بین مشاهده می‌گردد. به عنوان مثال، پریتون که در اسانس نمونه گیاه مورد مطالعه ما به میزان 9/4 درصد وجود دارد، در کاکوتی کوهی جمع‌آوری شده از استان چهارمحال و بختیاری دیده نمی‌شود و یا بورنیل استات گزارش شده در نمونه جمع‌آوری شده از استان چهارمحال و بختیاری و در این تحقیق، در اسانس نمونه گزارش شده از منطقه پلور مشاهده نمی‌گردد که این موضوع می‌تواند ناشی از تأثیر عوامل محیطی بر گیاه باشد.

یافته‌های این تحقیق نشان داد که گیاه دارویی آویشن باریک، اثر ضد میکروبی بر انواعی از باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی دارد و اثر آن بر

درصد	نام ترکیب
0/36	α -pinene
0/38	camphene
0/24	sabinene
0/58	β -pinene
0/47	p-cymene
0/44	limonene
4/48	1,8-cineole
0/34	p-mentha-3,8-diene
19/02	p-menth-3-en-8-ol
3/62	menthone
11/58	neo-menthol
1/06	menthol
1/78	isomenthol
0/73	neoisomenthol
1/04	cis-pulegol
29/28	pulegone
2/43	piperitone
1/17	bronylacetate
9/43	piperitenone
0/95	β -bourbonene
1/69	carvone hydrate
2/35	spathulenol

یک ترکیب سمی است که باعث صدمات کبدی حاد می‌گردد [22]. این ماده در بدن به وسیله سیستم مونواکسیژنаз میکروزومال کبدی به یک ماده هپاتوتوكسیک به نام «متوفوران» تبدیل می‌شود [23]. این ترکیب همچنین می‌تواند موجب نکروز شدید کبدی، سقط جنین و کواگولاسیون داخل رگی منتشر گردد [24].

نتایج حاصل از این تحقیق نشان می‌دهد که شباهت‌های زیادی بین ترکیبات اسانس این گیاه و سایر گونه‌های Ziziphora وجود دارد. به عنوان مثال، پولگون،

14. آخوندزاده بستی، افشنین؛ رضویلر، ودود؛ میثاقی، علی و دیگران، اثر اسانس آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*) بر روی احتمال رشد استافیلوکوک طلایی در محیط آبگوشت قلب و مغز، *فصلنامه گیاهان دارویی، شماره دهم، بهار 1383*.
15. رسولی بتول، بررسی اثرات ضدیکروبی آویشن و سنبله‌ای ارغوانی از تیره نعناع، سماق و بنه از تیره پسته به روش *in vitro* پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه ارومیه، سال 1377.
16. Rasooli Iraj, Bacterial susceptibility to and chemical composition of essential oils from *Thymus kotschyanus* and *Thymus persicus*. *J. Agric. Food Chem.* 2003, 51, 2200-2205
17. شریعت هادی صمصام، روش‌های استخراج مواد مؤثر گیاهان دارویی، انتشارات مؤسسه مسئول اصفهان، 1376.
18. جایمند، کامکار و رضایی، محمدباقر، اسانس و دستگاه‌های اسانس گیری، مجله تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، سال 1380. شماره 269، صفحه 79 تا 147.
19. Egorov N.S. Antibiotics: A Scientific approach, Translated by Alexander Rosinkin, MIR Publishers. Moscow, 1985.
20. NCCLS. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically. Approved Standards – Fifth Edition NCCLS document M7-A5. Wayne, Pennsylvania 2000.
21. Flaminii G., Cioni PL., Puleio R., Morelli I. and Panizzi L. Antimicrobial activity of the essential oil of *Calamintha nepeta* and its constituent pulegone against bacteria and fungi., *Phytother. Res.*, 1999, 139-351.
22. Nelson SD. Mechanisms of the formation and disposition of reactive metabolites that can cause acute liver injury, *Durg Metab. Rev.* 1995, 147-177
23. Gardon WP., Huitric AC., Cynthia L., Meclanahan RH. and Sidney D. The metabolism of the abortifacient terpen, (R)-(+)-pulegone, to proximate toxin menthofuran. *Drug Metab. Dispos.* 1987, 589-594
24. Sullivan JB., Rumack BH., Peterson RG. and Bryson P. Pennyroyal oil poisoning and hepatotoxicity. *J. Am. Med. Assoc.* 1979, 2873-2874.
25. Dzhumaev KH.K., Zenkwich IG., Tkachenko KG. and Tsibul Skaya IA. Essential oils from inflorescences and leaves of *Ziziphora brevicalyx*, *Khim prir. Soedin.* 1990, 122-123.
26. Velasco. Neguerula A. and Mata Rico M. The volatile oil of *Ziziphora hispanica* L. Flavour and Fragrance Journal. 1989, 111-113.

سامونلا شدیدتر است. امید است مطالعات آینده، ابعاد بیشتری از خواص درمانی این گیاه را روشن سازند.

تشکر و قدردانی

از معاونت محترم پژوهشی دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد و مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه شاهد که این تحقیق با پشتیبانی آن‌ها انجام شده است، سپاسگزاری می‌شود.

منابع

- Robert A. Weinstein. Controlling antimicrobial resistance; Infection control and use of antibiotics, Emerging Infectious Disease, Vol.7, 2001, No 2, page: 188.
- WHO Traditional Medicine Strategy 2002-2005, Geneva 2002; 1-3; 43-47.
- "The promotion & development of traditional medicine Report of a WHO meeting" WHO Report series, No. 622, switzerland, 1978:8-13, 36-9.
- Mosaddegh M., Naghibi F., Iran's Traditional Medicine; past & present.Traditional Medicine & Materia Medical, Vol.1, published by TMRC, Tehran, Iran, 2002, 2-20.
- ناصری، محسن، ضرورت احیای طب سنتی ایران، درمانگر، سال 1383، شماره 2، صفحه 4-7
- مظفریان، ولی الله، فرهنگ نام‌های گیاهان ایران، تهران، 1375.
- عقیلی خراسانی، مخزن الادویه، تهران، 1371.
- PDR for herbal Medicine Vol.3.
- Dymock William , *Pharmacographia Indica*, 1893, Vol. III, Published by Kegan Paul LD., London.
- امین، غلامرضا، گیاهان دارویی و سنتی ایران، تهران، 1370. جلد اول.
- میرحیدر، حسین، معارف گیاهی، تهران، 1380. جلد اول.
- طباطبایی نژاد، سیداحمد، اثر ضد میکروبی آویشن شیرازی بر سودوموناس آنروژینوزا، پایان نامه دکتری عمومی، دانشگاه شاهد، اسفند ماه 1382، شماره 72/106-پ

29. سجادی، سیدابراهیم؛ قاسمی، نصرالله؛ بلوچی، مریم. بررسی مواد مشتمله اسانس اندامهای گیاه کاکوتی کوهی Ziziphora clinopodioides (LAM) سازندگی، ۱۳۸۰.
27. Akgul A., De Pooter, HL. and De Buyck LF., Essential oils of *Calamintha nepeta* subsp. *Glandulosa* and *Ziziphora*. *Int J Food Microbiol*, 1991, 13(1), 81-5
28. باباخانلو، پرویز و دیگران، مجله تحقیقات گیاهان دارویی و معطر، سال ۱۳۷۷، جلد دوم، انتشارات مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع، تهران، ۱۰۷ صفحه.