

بررسی ترکیب‌های شیمیایی و خواص ضد میکروبی اسانس حاصل از گیاه آویشن تالشی (*Thymus trautvetteri* Klokov & Desj. – Shost.)

سحر شهنازی^{۱*}، فرحناز خلیقی سیگارودی^۲، یوسف اجنی^۳، داراب یزدانی^۴، مریم اهوازی^۵، رحیم تقی‌زادفرید^۶

- ۱- مربی پژوهش، گروه بیوتکنولوژی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی
 - ۲- استادیار پژوهش، گروه فارماکوگنوزی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی
 - ۳- مربی پژوهش، گروه فارماکوگنوزی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی
 - ۴- استادیار پژوهش، گروه بیوتکنولوژی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی
 - ۵- مربی پژوهش، گروه کشت و توسعه، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی
 - ۶- کارشناس شیمی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی
- * آدرس مکاتبه: کیلومتر ۵۵ آزادراه تهران - قزوین، بعد از عوارضی، جنب سوپا، بلوار کاوش، مجتمع تحقیقاتی جهاددانشگاهی، پژوهشکده گیاهان دارویی، صندوق پستی: ۱۳۶۹ - ۳۱۳۷۵
تلفن و نمابر: ۴۷۰۲۴۹۹، ۴۷۰۲۵۰۵، ۴۷۰۲۶۱۱ (۰۲۶۱)
پست الکترونیک: Shahnazi@imp.ac.ir

تاریخ دریافت: ۸۵/۲/۱۳

تاریخ تصویب: ۸۵/۱۱/۲۹

چکیده

مقدمه: جنس تیموس متعلق به خانواده Lamiaceae بوده و تقریباً ۳۵۰ گونه مختلف از آن در سراسر جهان یافت می‌شود این جنس در ایران ۱۴ گونه گیاه معطر و چند ساله دارد که از میان آن‌ها ۴ گونه انحصاری ایران هستند.
هدف: شناسایی ترکیب‌های موجود در اسانس آویشن تالشی و بررسی خواص ضد میکروبی آن بود.

روش بررسی: گیاه مورد بررسی از ارتفاعات استان اردبیل در خردادماه سال ۸۵ جمع‌آوری و در سایه خشک گردید. سپس اسانس آن به روش تقطیر با آب توسط دستگاه کلونجر استخراج و توسط دستگاه گاز کروماتوگرافی متصل به شناساگر جرمی بررسی و اجزای آن شناسایی شد. جهت بررسی خواص ضد میکروبی از روش دیسک - دیفیوژن، استفاده شد و MIC، MBC اسانس در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌های مختلف تعیین گردید.

نتایج: در اسانس مورد بررسی تعداد ۴۹ ترکیب (۹۹/۷۶ درصد) شناسایی شد که در این میان تیمول (۲۴/۴۳ درصد)، بورنئول (۱۱/۳۶ درصد)، پاراسیمن (۱۰/۰۹ درصد)، گاماترپنین (۷/۷۸ درصد)، آلفاپینن (۵/۲۹ درصد) و کارواکرول (۵/۰۷ درصد) ترکیب‌های عمده بودند. نتایج بررسی اثرات ضدباکتریایی اسانس این گیاه روی ۷ باکتری نشان داد که حساس‌ترین باکتری استافیلوکوک اورئوس با MIC برابر ۱۲۵ µg/ml است و اثرات مهارکنندگی و بازدارندگی رشد اسانس، روی باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت بسیار خوب است.

نتیجه‌گیری: شناسایی مواد متشکله اسانس این گونه نشان داد که ترکیب عمده اسانس این گیاه همانند سایر گونه‌های جنس تیموس، تیمول است و اثرات ضد میکروبی اسانس این گونه، احتمالاً به دلیل وجود تیمول و سایر ترکیب‌های ترپنوئیدی موجود در اسانس است.

کل واژگان: آویشن، اسانس، اثرات ضد میکروبی، آویشن تالشی



مقدمه

درمان با آنتی‌بیوتیک‌ها همواره نگرانی عوارض جانبی دارو را به همراه دارد. گیاهان دارویی که مزیت‌های متعددی از قبیل ارزان و قابل دسترس بودن و سازگاری با طبع و پذیرش بهتر توسط بیماران را دارند امروزه برای درمان بیماری‌ها از جمله عفونت‌ها مورد توجه قرار گرفته‌اند [۱].

با پیدایش داروهای شیمیایی، این داروها به تدریج جایگزین داروهای گیاهی شدند و نقش اصلی را در درمان بیماری‌ها به عهده گرفتند. در سال‌های اخیر استفاده از گیاه درمانی و داروهای گیاهی رو به افزایش بوده به طوری که در حال حاضر تقریباً یک سوم حتی نیمی از فرآورده‌های دارویی موجود در امریکا دارای منشای گیاهی هستند [۲].

جنس آویشن متعلق به تیره نعنائیان است. نام علمی آن از واژه یونانی *Thuo* به معنای عطر گرفته شده است. گونه‌های آویشن از گیاهان دارویی بسیار مهمی هستند که به طور فراوان استفاده می‌شوند [۳]. از جنس تیموس تقریباً ۳۵۰ گونه مختلف در سراسر جهان یافت می‌شود. گیاهان این خانواده به نحو عمده در بن چوبی، معطر، همیشه سبز، بادوام و بوته‌ای هستند که معمولاً در خاک‌های آهکی و در چمن‌زارها و در سراسر اروپا و آسیا یافت می‌شوند. از میان بسیاری از گیاهان خوشبو، تیموس را مظهر و نماد مرگ می‌دانند چون اعتقاد بر این است که ارواح مردگان در گل‌های این گیاه به آرامش می‌رسند. از این گل در بسیاری از مراسم عبادی و تشریفاتی استفاده می‌شود [۴]. کارواکرول و تیمول از عمده‌ترین ترکیب‌های انواع آویشن و منشای اصلی خواص آن به شمار می‌روند. اسانس گل و برگ‌های آویشن، دارای اثر ضداسپاسم، ضدنفخ، ضدروماتیسم و ضدسیاتیک و ضدعفونی‌کننده قوی است. در داروسازی برای تهیه محلول‌های دهان‌شویه و شربت‌های سرفه به کار می‌رود [۳].

در مصارف خوراکی از گونه‌های مختلف آویشن به عنوان معطرکننده استفاده می‌کنند. با وجود این که گونه دارویی این جنس را *Th. vulgaris* می‌دانند اما تمام تیموس‌ها از نظر ترکیب‌های فرار غنی هستند و شامل تیمول و کارواکرول به حساب می‌آیند که ضدعفونی‌کننده‌های قوی به شمار می‌روند [۴].

اندام‌های هوایی این گیاه یک خلط‌آور و ضدعفونی‌کننده است و برای درد سینه مزمن از آن استفاده می‌شود. هم‌چنین برای درمان سوء هاضمه، سردی معده کودکان و اسهال مفید هستند. روغن این گیاه

خاصیت ضدباکتری و ضدقارچی دارد و هم‌چنین سیستم ایمنی را تحریک می‌کند. از این گیاه برای درمان دردهای روماتیسمی، کشیدگی عضلات، گزیدگی حشرات، ضدعفونی کردن زخم‌ها، سرفه‌های مزمن و ناراحتی‌های ریوی، زخم‌های گلو، سردی معده و تحریک روده‌ها و شکم استفاده می‌شود. هم‌چنین از روغن این گیاه در روش‌های رایحه‌درمانی، خستگی مفرط، افسردگی و ناراحتی‌های پوست بدن و پوست سر استفاده می‌شود [۴].

این جنس در ایران ۱۴ گونه معطر و چند ساله دارد. که چهار گونه انحصاری آن شامل: *Th. carmanicus*, *Th. trautvetteri*, *Th. persicus*, *Th. daenensis* هستند [۵].

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری گیاه مورد بررسی

گونه *Thymus trautvetteri* Klokov & Desj – Shost. اندمیک ایران بوده و در استان‌های آذربایجان شرقی و غربی پراکنش دارد [۶]. این گیاه از ۲۱ کیلومتری رضی به گرمی واقع در استان اردبیل در طول و عرض جغرافیائی "۲۵° ۲۱' ۴۸" غربی، "۳۰' ۴۸' ۳۸" شمالی و از ارتفاع ۱۹۵۰ متری از سطح دریا، در دهم خرداد ۱۳۸۵ جمع‌آوری گردید و در هرباریوم پژوهشگاه گیاهان دارویی شناسایی و نام علمی آن تایید شد.

از صفات کلیدی این گونه می‌توان به حاشیه برگ غیربرگشته، پهنای برگ بیش از ۱/۵ میلی‌متر، برگ‌های دمبرگ‌دار، بیضوی، کرک‌دار، قاعده گوه‌ای، رگ‌های جانبی نامعلوم، طول کاسه ۴ – ۳ میلی‌متر، استکانی، دندان‌های بالایی ۸/۰ – ۴/۰ میلی‌متر، براکته و کاسه سبز رنگ و جام رنگ پریده اشاره کرد [۵].

تهیه اسانس

ابتدا اندام‌های هوایی گیاه خشک شده و توسط آسیاب برقی خرد شد. ۱۰۰ گرم از پودر گیاه خشک پس از توزین، توسط دستگاه کلونجر به مدت ۴ ساعت اسانس‌گیری شد. بازده اسانس ۱ درصد وزنی – وزنی پودر خشک گیاه محاسبه گردید. اسانس توسط سولفات سدیم بدون آب، آب‌گیری شد و در ظرف دربسته تیره‌رنگ، دور از نور و در یخچال نگهداری گردید.



شناسایی ترکیب‌های شیمیایی اسانس

اسانس گیاه موردنظر پس از آماده‌سازی، به دستگاه GC/MS تزریق گردید تا نوع ترکیب‌های تشکیل‌دهنده آن مشخص شود. دستگاه گاز کروماتوگرافی استفاده شده از نوع Hewlet Packard 6890N با ستون به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه ۰/۲۵ میکرومتر از نوع HP-5MS بود. برنامه دمایی ستون به این نحو تنظیم گردید: دمای ابتدایی آن ۵۰ درجه سانتی‌گراد، دمای انتهایی ۱۵۰ درجه سانتی‌گراد و گرادیان حرارتی ۲/۵ درجه سانتی‌گراد در هر دقیقه، افزایش دما تا ۲۶۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۱۰ درجه در هر دقیقه و توقف در این دما به مدت ۵ دقیقه، افزایش دما تا ۳۲۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۱۵ درجه سانتی‌گراد در دقیقه و سه دقیقه توقف در این دما. دمای اتاقک تزریق ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد بود و از گاز هلیوم به عنوان گاز حامل با سرعت جریان ۱/۲ میلی‌متر در دقیقه استفاده گردید. طیف‌نگار جرمی مورد استفاده مدل Hewlet Packard 5973N با ولتاژ یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت، روش یونیزاسیون EI و دمای منبع یونیزاسیون ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد بود. شناسایی طیف‌ها به کمک شاخص بازداري آنها و مقایسه آن با شاخص‌های موجود در کتب مرجع و مقالات و با استفاده از طیف‌های جرمی ترکیبات استاندارد و استفاده از اطلاعات موجود در کتابخانه کامپیوتری صورت گرفت [۳، ۷۸]. نتایج آنالیز اسانس در جدول شماره ۱ آورده شده است.

باکتری‌های مورد بررسی

باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس ATCC 6538^۱، اشرشیاکولی ATCC 8739^۲، باسیلوس سابیلیس ATCC 12711^۳ و سودوموناس آئروژینوزا ATCC 9027^۴ از دانشکده داروسازی دانشگاه تهران تهیه گردیدند. باکتری‌های استریتوکوکوس پیورنز PTCC 1447^۵، سالمونلاتیفی PTCC 1639^۶ از مرکز کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه شدند و باکتری

پروتئوس میرابلیس^۱ از بخش میکروپشناسی انستیتو پاستور ایران تهیه گردید.

تعیین قطر هاله عدم رشد با استفاده از روش دیسک دیفیوژن

برای تعیین اثرات ضدمیکروبی، حجم‌های مشخصی از اسانس گیاه را به دیسک‌های بلانک اضافه کرده و پس از کشت باکتری‌های مورد نظر، دیسک‌ها را روی محیط کشت مولر هیتون آگار قرار داده و سپس این مجموعه را در انکوباتور با دمای مناسب (۳۷ - ۳۵ درجه سانتی‌گراد) گذارده و بعد از گذشت مدت زمان لازم برای رشد میکروارگانیسم (۲۴ - ۱۸ ساعت) آنها را بیرون آورده و بررسی کردیم. میزان هاله عدم رشد توسط خط‌کش میلی‌متری اندازه‌گیری شد. جهت مقایسه میزان قدرت ضدمیکروبی اسانس، از دیسک‌های شاهد مثبت (جنتامایسین، آموکسی‌سیلین و آمپی‌سیلین) هم که به طور آماده و با غلظت مشخص (در مورد جنتامایسین، پنی‌سیلین و آمپی‌سیلین با غلظت ۱۰ μg و در مورد آموکسی‌سیلین با غلظت ۲۵ μg) موجود هستند استفاده گردید. آزمایش‌ها سه بار تکرار شدند و نتایج آنها به صورت میانگین در جداول شماره ۲ و ۳ آورده شده است.

تعیین MIC (حداقل غلظت مهارکنندگی رشد) و MBC (حداقل غلظت کشندگی)

جهت تعیین میزان MIC^۲ ابتدا ۱ میلی‌لیتر محیط نوترینت برات به لوله‌های آزمایش اضافه شده، اتوکلاو گردیدند سپس از سوسپانسیون باکتری‌های مورد بررسی، با غلظت ۱۰^۷ به میزان ۱ میلی‌لیتر به هر یک از لوله‌های آزمایش افزوده شد. در مرحله بعد از محلول‌های Stock تهیه شده از اسانس توسط DMSO (محلول‌های ۱۰۰mg/ml)، مقدار ۲۰ میکرولیتر برداشته و طبق روش Broth dilution به محتویات لوله‌های آزمایش اضافه شد. پس از اضافه‌کردن غلظت‌های موردنظر اسانس‌های مورد بررسی، به لوله‌های آزمایش و قراردادن آنها در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت، حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) آنها تعیین گردید، در واقع کدرشدن محیط داخل لوله‌ها نشان‌دهنده رشد

¹ *Staphylococcus aureus* ATCC 6538

² *Escherichia coli* ATCC 8739

³ *Bacillus subtilis* ATCC 12711

⁴ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027

⁵ *Streptococcus pyogenes* PTCC 1447

⁶ *Salmonella typhi* PTCC 1639

¹ *Proteus mirabilis*

² Minimum Inhibitory Concentration



ترکیب موجود در اسانس آویشن تالشی را تشکیل می‌دهند و از ترکیب‌های مهم این اسانس می‌توان تیمول (۲۴/۴۳ درصد)، بورنتول (۷/۷۸ درصد)، آلفا پینن (۱۰/۰۹ درصد)، پاراسیمن (۵/۲۹ درصد) و کارواکرول (۵/۰۷ درصد) را نام برد. نتایج سایر تحقیقات که در ذیل به آن‌ها اشاره شده است نیز وجود ماده تیمول را به عنوان عمده‌ترین ترکیب موجود در انواع گونه‌های جنس آویشن اثبات می‌کند.

طبق گزارش نیک‌آور و همکاران (۲۰۰۵)، روغن‌های فرار به دست آمده از بخش‌های هوایی دو گونه *Thymus daenensis* subsp. *daenensis* و *Thymus kotschyanus* توسط GC و GC/MS آنالیز گردیدند. ۲۶ ترکیب در اسانس *Th. daenensis* subsp. *daenensis* تعیین شد که ترکیب‌های عمده آن شامل تیمول (۷۴/۷ درصد)، پاراسیمن (۶/۵ درصد)، بتاکاریوفیلن^۱ (۳/۸ درصد) و متیل کارواکرول (۳/۶ درصد) هستند. ۳۱ ترکیب هم در اسانس *Th. kotschyanus* تعیین گردید که ترکیب‌های عمده آن تیمول (۳۸/۶ درصد)، کارواکرول (۳۳/۹ درصد)، گاماترپینن (۸/۲ درصد) و پاراسیمن (۷/۳ درصد) بودند. هر دوی اسانس‌ها از نظر ترکیب‌های فنلی مونوتروپنی به خصوص تیمول و کارواکرول غنی هستند [۷].

طبق تحقیقات سفیدکن و همکارانش (۱۳۸۱) در مقایسه کمی و کیفی اسانس چند گونه آویشن مشخص شد که ترکیب‌های عمده اسانس *Th. pubescens* تیمول (۳۷/۹ درصد)، کارواکرول (۱۴/۱ درصد)، پاراسیمن (۱۳/۱ درصد) و گاماترپینن (۸/۷ درصد) بوده و ترکیب‌های عمده اسانس *Th. kotschyamus* تیمول (۳۵/۵ درصد)، پاراسیمن (۱۷/۷ درصد)، کارواکرول (۱۱/۷ درصد)، آلفا پینن (۸/۸ درصد) و آلفاترپینول (۶/۵ درصد) است. هم‌چنین اسانس *Th. carnosus* در اسپانیا (Volasco - Negueruela, ۱۹۹۰) بررسی شده و ترکیب‌های عمده آن بورنتول (۲۷/۳ درصد)، کامفن (۱۷/۱ درصد)، ترپینن - ۴ - ال (۱۱/۱ درصد) و گاماترپینن (۷/۷ درصد) گزارش شده است [۳].

ترکیب‌های شیمیایی روغن فرار حاصل از بخش‌های گل‌دهنده *Thymus revolutus* که گیاه بومی ترکیه است توسط GC/MS آنالیز گردید طبق این آنالیز کارامان^۲ و همکارانش (۲۰۰۱) بیست و دو ترکیب از آن گزارش کردند که کارواکرول ترکیب غالب این اسانس بود [۹].

باکتری‌ها بوده و اولین لوله‌ای که در آن کدورت مشاهده نگردید و کاملاً شفاف بود به عنوان MIC در نظر گرفته شد. پس از تعیین MIC، جهت تعیین میزان MBC^۱ در شرایط کاملاً استریل از محتویات لوله‌های آزمایشی که مدت ۲۴ ساعت انکوبه شده و میزان MIC آن‌ها تعیین گردیده و فاقد کدورت بودند، میزان ۱ میلی‌لیتر برداشته و در پلیت‌های حاوی محیط کشت، کشت سطحی کرده و مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس رشد و عدم رشد باکتری‌ها بررسی شد. اولین غلظتی که در آن عدم رشد مشاهده گردید به عنوان MBC در نظر گرفته شد. آزمایش‌ها سه بار تکرار شدند و نتایج آن‌ها به صورت میانگین در جدول شماره ۴ آورده شده است.

نتایج

جدول شماره ۱ ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس آویشن تالشی، شاخص بازدارندگی و درصد کمی آن‌ها را نشان می‌دهد. در اسانس مورد بررسی تعداد ۴۹ ترکیب (۹۹/۷۶ درصد) شناسایی شد که در این میان تیمول^۲ (۲۴/۴۳ درصد)، بورنتول^۳ (۱۱/۳۶ درصد)، پاراسیمن^۴ (۱۰/۰۹ درصد)، گاماترپینن^۵ (۷/۷۸ درصد)، آلفا پینن^۶ (۵/۲۹ درصد) و کارواکرول^۷ (۵/۰۷ درصد) ترکیب‌های عمده بودند. در اسانس این گیاه مونوتروپن‌های اکسیژن‌دار (۵۳/۴۱ درصد)، مونوتروپن‌های هیدروکربنی (۳۷/۹۷ درصد)، سزکویی‌ترین‌های هیدروکربنی (۶۷/۷ درصد) و سزکویی‌ترین‌های اکسیژن‌دار (۱/۹ درصد) با میزان کمتری در اسانس یافت شدند. سایر ترکیب‌ها نیز ۰/۷ درصد بودند. ترکیب‌های زیر ۰/۱ درصد هم به عنوان «ذره»^۸ در نظر گرفته شدند.

بحث

همان‌طور که نتایج مربوط به شناسایی مواد متشکله (جدول شماره ۱) نشان می‌دهد ۴۹ ترکیب (۹۹/۷۶ درصد) در این اسانس وجود دارد که مونوتروپن‌های اکسیژن‌دار (۵۳/۴۱ درصد) عمده‌ترین

^۱ Minimum Bactericide Concentration

^۲ Thymol ^۳ Borneol

^۴ para-Cymene ^۵ gamma-Terpinene

^۶ alpha-Pinene ^۷ Carvacrol

^۸ Trace

^۱ β -caryophyllene

^۲ Karaman



جدول شماره ۱- ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس آویشن تالشی

ردیف	نام ترکیب	شاخص بازداري	درصد
۱	alpha-Thujene	۹۳۱	۱/۵۳
۲	alpha-Pinene	۹۴۱	۵/۲۹
۳	alpha-Fenchene	۹۴۹	۰/۱۱
۴	Camphene	۹۵۵	۲/۴۱
۵	Thuja-2,4(10)-diene	۹۵۹	۰/۱۶
۶	beta-Pinene	۹۸۲	۰/۸۹
۷	3-Octanone	۹۸۷	۰/۵۵
۸	Myrcene	۹۹۵	۲/۵۲
۹	3-Octanol	۱۰۰۳	۰/۱۵
۱۰	alpha-Phellandrene	۱۰۰۹	۰/۵۲
۱۱	delta-3-Carene	۱۰۱۵	۰/۱۳
۱۲	alpha-Terpinene	۱۰۲۴	۳/۰۷
۱۳	para-Cymene	۱۰۳۶	۱۰/۰۹
۱۴	Limonene	۱۰۳۱	۱/۳۴
۱۵	1,8-Cineole	۱۰۴۳	۲/۷۳
۱۶	trans-Ocimene	۱۰۵۳	۰/۵۶
۱۷	gamma-Terpinene	۱۰۷۱	۷/۷۸
۱۸	cis-Sabinene hydrate	۱۰۷۷	۲/۵۸
۱۹	Terpinolene	۱۰۹۴	۰/۵۶
۲۰	trans-Sabinene hydrate	۱۱۰۵	۰/۴۹
۲۱	cis-Verbenol	۱۱۵۰	۰/۱۲
۲۲	Camphor	۱۱۵۴	۱/۴۳
۲۳	Borneol	۱۱۸۷	۱۱/۳۶
۲۴	Terpinen-4-ol	۱۲۰۶	۰/۶۶
۲۵	para-Cymen-8-ol	۱۲۱۷	۰/۳۳
۲۶	alpha-Terpineol	۱۲۲۷	۰/۷۸
۲۷	Methyl Ether Thymol	۱۲۴۳	۲/۹۹
۲۸	Methyl Ether Carvacrol	۱۲۵۱	۰/۳۵
۲۹	NI	۱۲۹۵	۰/۲۴
۳۰	Thymol	۱۳۱۲	۲۴/۴۳
۳۱	Carvacrol	۱۳۳۵	۵/۰۷
۳۲	Eugenol	۱۳۷۵	۰/۱۰
۳۳	alpha-Copaene	۱۳۹۲	۰/۱۳
۳۴	beta-Bourbonene	۱۴۰۳	۰/۳۲
۳۵	trans-Caryophyllene	۱۴۴۱	۲/۵۱
۳۶	beta-Gurjunene	۱۴۴۶	۰/۱۷
۳۷	Aromadendrene	۱۴۸۵	۰/۲۴
۳۸	Clovene	۱۴۶۲	۰/۱۵
۳۹	alpha-Humulene	۱۴۷۲	۰/۱۴
۴۰	cis-Muurolo-4(14),5-diene	۱۴۸۰	۰/۱۱
۴۱	Valencene	۱۴۹۱	۰/۴۴
۴۲	trans-beta-Guaiene	۱۵۱۲	۰/۵۲



ادامه جدول شماره ۱- ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس آویشن تالشی

ردیف	نام ترکیب	شاخص بازداری	درصد
۴۳	beta-Bisabolene	۱۵۲۰	۰/۹۹
۴۴	gamma-Cadinene	۱۵۳۱	۰/۳۵
۴۵	delta-Cadinene	۱۵۳۸	۰/۶۸
۴۶	Spathulenol	۱۵۹۹	۰/۳۶
۴۷	Caryophyllene oxide	۱۶۰۶	۰/۸۹
۴۸	1,10-di-epi-Cubenol	۱۶۳۴	۰/۲۰
۴۹	Epi-alpha-Cadinol	۱۶۵۹	۰/۲۹
۵۰	alpha-Cadinol	۱۶۷۳	۰/۱۶
	monoterpene hydrocarbons	۳۶/۹۷	
	oxygenated monoterpenes	۵۳/۴۱	
	sesquiterpene hydrocarbons	۶/۷۷	
	oxygenated sesquiterpenes	۱/۹	
	Others	۰/۱	
	not identified	۰/۲۴	
	Total identified	۹۹/۷۶	

*NI: Not Identified

جدول شماره ۲- قطر هاله‌های عدم رشد مربوط به غلظت‌های مختلف اسانس آویشن تالشی برحسب میلی‌متر

نام میکروارگانیسم	قطر هاله برحسب میلی‌متر					
	۰/۰۵ μL	۰/۱ μL	۰/۵ μL	۱ μL	۲ μL	۵ μL
<i>Staphylococcus aureus</i>	۱۳	۱۴	۱۵	۱۷		
<i>Streptococcus pyogenes</i>	۱۲	۱۴	۱۶	۱۸		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> *	—	—	—	—	۸	۹
<i>Salmonella typhi</i>	۱۱	۱۳	۱۶	۱۸		
<i>Escherichia coli</i>	۱۱	۱۲	۱۴	۱۷		
<i>Bacillus subtilis</i>	۱۱	۱۳	۱۶	۱۹		
<i>Proteus mirabilis</i>	۱۱	۱۳	۱۵	۱۶		

* در مورد باکتری *Pseudomonas aeruginosa*، به دلیل عدم مشاهده هاله در مقادیر ۱-۰/۰۵ μL، از مقادیر بالاتر یعنی ۲ و ۵ μL استفاده شد.

جدول شماره ۳- قطر هاله‌های عدم رشد آنتی‌بیوتیک‌های مختلف برحسب میلی‌متر

نام میکروارگانیسم	آمپی‌سیلین	آموکسی‌سیلین	جنتامایسین
<i>Staphylococcus aureus</i>	۳۳	۳۱	۲۰
<i>Streptococcus pyogenes</i>	—	—	۱۶
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	—	—	۱۹
<i>Salmonella typhi</i>	۲۰	۱۰	۱۸
<i>Escherichia coli</i>	۱۴	۱۱	۱۸
<i>Bacillus subtilis</i>	۹	۱۲	۲۳
<i>Proteus mirabilis</i>	۱۸	۱۰	۱۵



جدول شماره ۴- میزان MIC و MBC اسانس آویشن نالشی بر حسب µg/ml

نام میکروارگانیسم	MIC	MBC
<i>Staphylococcus aureus</i>	۱۲۵	۲۵۰
<i>Streptococcus pyogenes</i>	۲۵۰	>۱۰۰۰
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	>۱۵۰۰	>۱۵۰۰
<i>Salmonella typhi</i>	۲۵۰	>۱۰۰۰
<i>Escherichia coli</i>	۲۵۰	۲۵۰
<i>Bacillus subtilis</i>	۲۵۰	>۱۰۰۰
<i>Proteus mirabilis</i>	۲۵۰	۲۵۰

طبق گزارش کارامان^۱ و همکارانش (۲۰۰۱) غلظت‌های مختلف اسانس گیاه *Thymus revolutus* که بومی ترکیه است، علیه ۱۱ باکتری و چهار قارچ آزمون شد و نتایج نشان داد که این اسانس اثرات ضدباکتری و ضدقارچی عمده‌ای دارد [۹].

در یک بررسی توسط سوکمن^۲ و همکارانش (۲۰۰۴)، خواص ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی اسانس و عصاره متانولی *Thymus spathulifolius* در شرایط آزمایشگاهی^۳ ارزیابی شد. نتایج آزمون ضد میکروبی نشان داد که اسانس *Th. spathulifolius* خاصیت بازدارندگی قوی روی رشد میکروارگانیسم‌های مورد بررسی به غیر از چهارگونه قارچ داشته ولی عصاره متانولی آن اثر ضدباکتری متوسط داشته و هیچ‌گونه اثر ضدقارچی و ضدباکتریایی ندارد [۱۰].

در تحقیقی دیگر که توسط هرش - مارتینز^۴ و همکارانش (۲۰۰۵) انجام شد، ۱۸۹ گونه گرم منفی و ۱۳۵ گونه گرم مثبت از باکتری‌های رایج محلی (اشریشیا کولی، سالمونلا انتری‌تیدیس، شیگلا سونئی، سودوموناس آئروژینوزا، کلبسیلا پنومونی، استرپتوکوک پنومونی، استافیلوکوک اورئوس، استافیلوکوک کواگولاز) که از بیماران به شدت آلوده جدا شده بودند در شرایط آزمایشگاهی با اسانس ۱۱ گونه گیاهی آزمایش شدند. تمام گونه‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های انتخاب شده مقاومت نشان دادند ولی در بین ۱۱ گونه انتخابی، گونه‌های تیموس ولگاریس^۵ و سیناموموم وروم^۶، اریگانوم ولگار^۷ اثرات ضدباکتریایی بسیاری از خود نشان دادند [۱۱].

در یک بررسی توسط سوکمن^۱ و همکارانش (۲۰۰۴)، ترکیب‌های شیمیایی اسانس *Thymus spathulifolius* توسط GC/MS و GC آنالیز گردید و ۲۸ ترکیب از آن به دست آمد که عمده ترکیب‌های آن شامل تیمول (۳۶/۵ درصد)، کارواکرول (۲۹/۸ درصد)، پاراسیمن (۱۰ درصد) و گاماترپین (۶/۳ درصد) بودند [۱۰].

در این بررسی، آزمون ضد میکروبی اسانس آویشن نالشی نشان می‌دهد که این گونه از نظر مهارکنندگی رشد و کشندگی باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی بسیار قوی بوده که به دلیل وجود تیمول و کارواکرول موجود در این اسانس است و در میان باکتری‌های مورد بررسی، بیشتر از همه روی استافیلوکوکوس اورئوس موثر بوده و روی سودوموناس آئروژینوزا کمترین تاثیر را داشته است. همچنین مقایسه تاثیر اسانس آویشن نالشی با آنتی‌بیوتیک‌های به کار برده شده در این پژوهش، نشان می‌دهد که تاثیر این اسانس در حجم‌های پایین، مشابه اثر آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین و آموکسی‌سیلین (جدول شماره ۲ و ۳) است همان‌طور که جداول نشان می‌دهند باکتری استافیلوکوکوس پیورنز در مقابل این آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم بوده ولی اسانس مذکور روی این باکتری موثر بوده است. از طرفی جنتامایسین، یک آنتی‌بیوتیک وسیع‌الطیف است به همین دلیل روی همه باکتری‌ها موثر بوده است. نتایج سایر پژوهش‌ها نیز خاصیت ضد میکروبی این گیاه را تایید می‌کنند.

^۱ Karaman^۲ Sokmen^۳ In vitro^۴ Hersch-Martinez P.^۵ *Thymus vulgaris*^۶ *Cinnamomum verum*^۷ *Origanum vulgare*^۱ Sokmen

این اسانس‌ها حتی در رقت‌های بالا، به غیر از سودوموناس آئروژینوزا روی بقیه باکتری‌ها اثرات کشندگی قوی داشته‌اند [۱۳].

در یک بررسی اسانس‌های حاصل از تیموس ولگاریس، تیموس سریپلوم، چند گونه *Eugenia caryophyllus* *Eucalyptus* و *Rosa damascena* جهت بررسی اثرات ضد میکروبی علیه باکتری‌های گرم مثبت و منفی نظیر استافیلوکوکوس اورئوس، اش‌ریشیاکولی، سودوموناس آئروژینوزا و هم‌چنین کاندیدا آلیکنس تست گردیدند. تمامی اسانس‌ها اثر ضد میکروبی علیه استافیلوکوک اورئوس، اش‌ریشیاکولی، کاندیدا آلیکنس از خود نشان دادند ولی هیچ یک از آن‌ها علیه سودوموناس آئروژینوزا موثر نبود. در این میان کاندیدا آلیکنس از همه حساس‌تر و استافیلوکوک اورئوس از همه مقاوم‌تر بود. برای تعیین MIC و MBC از روش رقت‌های سری اسانس‌ها استفاده شد و تمام اسانس‌ها در غلظت پایین اثر بازدارندگی و کشندگی روی میکروارگانیسم‌ها از خود نشان دادند [۱۴].

امروزه مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی تهدید جدی برای سلامتی موجودات زنده بوده، لذا نیاز برای یافتن مواد ضد میکروبی ارزان و موثر ضروری است بنابراین گیاهان دارویی می‌توانند جایگزینی مناسب برای داروهای شیمیایی باشند.

در یک بررسی توسط عثمان ساگدیک^۱ (۲۰۰۳)، عرق‌های^۲ دو گونه تیموس ولگاریس و تیموس سریپلوم^۳ و سه گونه *Oregano* (*O. vulgare*, *O. onites*, *O. majorana*) که به میزان زیاد در فرآورده‌های غذایی و به عنوان نوشیدنی کاربرد دارند جهت بررسی میزان اثرات بازدارندگی آن‌ها روی رشد باکتری‌های ای‌کولای^۴، ای‌کولای 0157:H7^۵، استافیلوکوکوس اورئوس^۶ و یرسینیا انتروکولیتیکا^۷ آزمایش شدند. برای این کار از روش دیسک دیفیوژن استفاده گردید و برای تعیین میزان کشندگی باکتری‌ها از روش رقت‌های سری^۸ استفاده گردید در روش دیسک دیفیوژن نتیجه تمام آزمون‌های عرق روی بازدارندگی رشد، مثبت بود و در روش رقت‌های سری، کشندگی باکتری‌ها مشاهده شد. حساس‌ترین باکتری نسبت به این عرق‌ها، استافیلوکوکوس اورئوس گزارش شده علاوه بر این بیشترین بازدارندگی را *O. onites* و *O. majorana* داشته‌اند [۱۲].

در یک تحقیق خواص ضدباکتریایی روغن‌های فرار دو گونه تیموس پابسنس^۹ و تیموس سریپلوم^{۱۰} در مراحل قبل و بعد از گل‌دهی روی باکتری‌های ای‌کولای، استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس ساب‌تیلیس و سودوموناس آئروژینوزا ارزیابی شدند و اثرات ضدباکتریایی آن‌ها توسط رسولی و همکارانش (۲۰۰۲) تایید گردید

¹ Osman sagdic

³ *Thymus serpyllum*

⁵ *E. coli* 0157:H7

⁷ *Yersinia enterocolitica*

⁹ *Thymus pubescens*

² hydrosol

⁴ *E. coli*

⁶ *Staphylococcus aureus*

⁸ Serial dilution method

¹⁰ *Thymus serpyllum*

منابع

1. WHO Traditional Medicine Strategy. 2002-2005. Geneva 2002, PP: 1 - 3, 43 - 47.
2. Clark AM. Natural Products as a resource from new drugs. *Pharm. Res.* 1996; 13: 1133 - 1144.
3. Sefidkon F. and Askari F. Essential Oil Composition of 5 *Thymus* species. Research Institute of Forests and Rangelands. *Iranian Medicinal and Aromatic Plants Research.* 2002; 12: 29 - 51.
4. Sefidkon F. and Rahimi-Bidgoli A. Quantitative and qualitative variation of essential oil of *Thymus kotschyanus* by different methods of distillation and stage of plant growth. Research Institute of Forests and

- Rangelands. *Iranian Medicinal and Aromatic Plants Research.* 2003; 15: 1 - 22.
5. Rechinger KH. Flora Iranica. Labiatae. Akademische Druck-u. Verlagsanstalt, Graz.-Austria. 1982; 150: 39 - 43.
6. Mozaffarian V. A Dictionary of Iranian Plant Names. Farhang Moaser, Tehran, Iran. 1996, PP: 548.
7. Nickavar B. Analysis of the essential oils of two *Thymus* species from Iran. *Food Chemistry.* 2005; 90: 609 - 611.



8. Adams RP. Identification of essential oil components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy. Allured: Carol Stream, IL, 2001.
9. Karaman S. Antibacterial and antifungal activity of the essential oils of *Thymus re-olustus* Celak from Turkey. *Journal of Ethnopharmacology* 2001; 76: 183 – 186.
10. Sokmen A. The in vitro antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts of endemic *Thymus spathulifolius*. *Food Control* 2004; 15: 627 – 634.
11. Hersch - Martinez P. and et al. Antibacterial effects of commercial essential oils over locally prevalent pathogenic strains in Mexico. *Fitoterapia*. 2005; 76: 453 - 457.
12. Sagdic Osman. Sensitivity of four pathogenic bacteria to Turkish thyme and oregano hydrosols. *Lebensm. Wiss. u. -Technol.* 2003; 36: 467 – 473.
13. Rasooli I., Mirmostafa S. A. Antibacterial properties of *Thymus pubescens* and *Thymus serpyllum* essential oils (Short report). *Fitoterapia*. 2002; 73: 244 - 250.
14. Lisin G. and et al. Antimicrobial activity of some essential oils. *ISHS Acta horticulturae*. II WOCMAP Congress Medicinal and Aromatic Plants, Part 2: Pharmacognosy, Pharmacology, Phytomedicine, Toxicology. *ISHS Acta Horticulturae* 501. 1999; 1: 283 - 288.

