

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

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

- ۱- مریم پژوهش، گروه بیوتکنولوژی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی
- ۲- استادیار پژوهش، گروه فارماکوگنوزی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی
- ۳- مریم پژوهش، گروه فارماکوگنوزی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی
- ۴- استادیار پژوهش، گروه بیوتکنولوژی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی
- ۵- مریم 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 کاوشن، مجتمع تحقیقاتی جهاددانشگاهی، پژوهشکده گیاهان دارویی، صندوق پستی: ۳۱۳۷۵ - ۱۳۶۹

تلفن و نمایر: ۰۲۶۱ (۴۷۰۲۶۱۱)، ۰۲۶۱ (۴۷۰۲۵۰۵)، ۰۲۶۱ (۴۷۰۲۴۹۹)

پست الکترونیک: Shahnazi@imp.ac.ir

تاریخ تصویب: ۸۵/۱۱/۲۹

تاریخ دریافت: ۸۵/۲/۱۳

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 ضدمیکروبی آن بود.

روش بررسی: گیاه مورد بررسی از ارتفاعات استان اردبیل در خردآدماه 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 ضدمیکروبی از روش دیسک - دیفیوژن، استفاده شد و MIC 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)، بورئول (۱۱/۳۶ درصد)، پاراسیمن (۱۰/۰۹ درصد)، گاما‌تریپین (۷/۷۸ درصد)، آلفاپین (۵/۲۹ درصد) و کارواکرول (۵/۰۷ درصد) ترکیب‌های عمدۀ بودند. نتایج بررسی اثرات ضدبacterیایی اسانس این گیاه روی ۷ باکتری نشان داد که حساس‌ترین باکتری استافیلوکوک اورئوس با MIC برابر ۱۲۵ $\mu\text{g}/\text{ml}$ است و اثرات مهارکنندگی و بازدارندگی رشد اسانس، روی باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت بسیار خوب است.

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

گل واژگان: آویشن، اسانس، اثرات ضدمیکروبی، آویشن تالشی



مقدمه

خاصیت ضدباکتری و ضدقارچی دارد و همچنین سیستم ایمنی را تحریک می‌کند. از این گیاه برای درمان دردهای روماتیسمی، کشیدگی عضلات، گزیدگی حشرات، ضدغوفونی کردن زخم‌ها، سرفهای مزمن و ناراحتی‌های ریوی، زخم‌های گلو، سردی معده و تحریک روده‌ها و شکم استفاده می‌شود. همچنین از روغن این گیاه در روش‌های رایج‌درمانی، 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 *Th. carmanicus* *Th. traутvetteri* *Th. persicus* *Th. daenensis* گونه انحصاری آن شامل:

[۵].

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری گیاه مورد بررسی

گونه *Thymus traутvetteri* 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 "۲۱°۴۸'۰" - "۳۰°۴۸'۰" غربی، "۳۸°۰'۰" شمالی و از ارتفاع ۹۵۰ متری از سطح دریا، در دهم خرداد ۱۳۸۵ جمع‌آوری گردید و در هر باریوم پژوهشکده گیاهان دارویی شناسایی و نام علمی آن تأیید شد.

از صفات کلیدی این گونه می‌توان به حاشیه برگ غیربرگشته، پهنهای برگ بیش از ۱/۵ میلی‌متر، برگ‌های دمبرگ‌دار، بیضوی، کرک‌دار، قاعده گوهای رگه‌های جانبی نامعلوم، طول کاسه ۴ - ۳ میلی‌متر، استکانی، دندانه‌های بالایی ۰/۸ - ۰/۴ میلی‌متر، برآکه و کاسه سیز 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 درسته تیره‌رنگ، دور از نور و در یخچال نگهداری گردید.

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

با پیداکشی داروهای شیمیابی، 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 فرآوردهای دارویی موجود در امریکا دارای مشتای گیاهی هستند [۲].

جنس آویشن متعلق به تیره نعناعیان 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، بادام 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، ضدانفخ، ضدروماتیسم و ضدسیاتیک و ضدغوفونی‌کننده 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 می‌آید که ضدغوفونی‌کننده‌های قوی به شمار می‌روند [۴]. اندام‌های هوایی این گیاه یک خلط‌آور و ضدغوفونی‌کننده 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



پروتئوس میرالبیس^۱ از بخش میکروب‌شناسی انتیتو پاستور ایران تهیه گردید.

تعیین قطرهاله عدم رشد با استفاده از روش دیسک دیفیوژن
 برای تعیین اثرات ضدمیکروبی، حجم‌های مشخصی از انسانس 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) گذازده 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 انسانس، از دیسک‌های شاهد مثبت (جتامايسین، آموکسی‌سیلین و آمپی‌سیلین) هم که به طور آماده و با غلظت مشخص (در مورد جتامايسین، پنی‌سیلین و آمپی‌سیلین با غلظت ۰.۰۵ 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 براث به لوله‌های آزمایش اضافه شده، اتوکلاو گردیدند سپس از سوسپانسیون باکتری‌های مورد بررسی، با غلظت ^۳۱۰ به میزان ۱ میلی‌لیتر به هر یک از لوله‌های آزمایش افزوده شد. در مرحله بعد از محلول‌های Stock تهیه شده از انسانس توسط DMSO (محلول‌های Broth ۱۰۰mg/ml)، مقدار ۲۰ میکرولیتر برداشته و طبق روش dilution به محتويات لوله‌های آزمایش اضافه شد. پس از اضافه کردن غلظت‌های موردنظر انسانس‌های 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 *Proteus mirabilis*

² Minimum Inhibitory Concentration

شناسایی ترکیب‌های شیمیایی انسانس
 انسانس 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 ۰/۰۲۵ میکرومتر از نوع HP-5MS بود. برنامه دمایی ستون به این نحو تنظیم گردید: دمای ابتدایی آون ۵۰ درجه سانتی‌گراد، دمای انتهایی ۱۵۰ درجه سانتی‌گراد و گردایان 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 اتفاق 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 موردن استفاده مدل 5973N Hewlet Packard با ولتاژ یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت، روش یونیزاسیون EI و دمای منع یونیزاسیون ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد بود. شناسایی طیف‌ها به کمک شاخص بازداری آن‌ها و مقایسه آن با شاخص‌های موجود در کتاب مرجع و مقالات و با استفاده از طیف‌های جرمی ترکیبات استاندارد و استفاده از اطلاعات موجود در کتابخانه کامپیوتری صورت گرفت [۳]. نتایج آنالیز انسانس در جدول شماره ۱ آورده شده است.

باکتری‌های مورد بررسی

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

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



ترکیب موجود در اسانس آویشن تالشی را تشکیل می‌دهند و از ترکیب‌های مهم این اسانس می‌توان تیمول (۲۴/۴۳ درصد)، بورنول (۷/۷۸) درصد، پاراسیمن (۱۰/۰۹ درصد)، گاماتریپین (۱۱/۳۶ درصد)، آلفاپین (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 عمدت‌ترین 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* و *Thymus kotschyanus* subsp. *daenensis* و *Th. daenensis* GC/MS آنالیز گردیدند. ۲۶ ترکیب در اسانس *Th. daenensis* subsp. *daenensis* تعیین شد که ترکیب‌های عمدی 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 عمدی آن تیمول (۳۸/۶ درصد)، کارواکرول (۳۳/۹ درصد)، گاماتریپین (۸/۲ درصد) و پاراسیمن (۷/۳ درصد) بودند. هر دوی اسانس‌ها از نظر ترکیب‌های فلئی مونوتربینی 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 عمدی اسانس *Th. pubescens* تیمول (۳۷/۹ درصد)، کارواکرول (۱۴/۱ درصد)، پاراسیمن (۱۳/۱ درصد) و گاماتریپین (۸/۷ درصد) بوده و ترکیب‌های عمدی اسانس *Th. kotschyamus* تیمول (۳۵/۵ درصد)، پاراسیمن (۱۷/۷ درصد)، کارواکرول (۱۱/۷ درصد)، آلفاپین (۸/۸ درصد) و آلفاتریپنول (۷/۵ درصد) است. همچنین اسانس *Volasco - Negueruela* (*Th. carnosus*) در اسپانیا (۱۹۹۰) بررسی شده و ترکیب‌های عمدی آن بورنول (۲۷/۳ درصد)، کامفن (۱۷/۱ درصد)، تریپن - ۴ - ال (۱۱/۱ درصد) و گاماتریپین (۷/۷ درصد) گزارش شده است [۳].

ترکیب‌های شیمیابی روغن فرار حاصل از بخش‌های گل دهنده *Thymus revolutus* که گیاه یومی ترکیب است توسط GC/MS 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 دورت مشاهده نگردید و کاملاً شفاف بود به عنوان MIC در نظر گرفته شد. پس از تعیین MIC، جهت تعیین میزان MBC^۳ در شرایط کاملاً استریل از محتويات لوله‌های آزمایشی که مدت ۲۴ ساعت انکوبه شده و میزان MIC آن‌ها تعیین گردیده و قادر 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 غلطی 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 بازداری 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)، بورنول^۳ (۱۱/۳۶ درصد)، پاراسیمن^۴ (۱۰/۰۹ درصد)، گاماتریپین^۵ (۷/۷۸ درصد)، آلفاپین^۶ (۵/۲۹ درصد) و کارواکرول^۷ (۵/۰۷ درصد) ترکیب‌های عمدی بودند. در اسانس این گیاه مونوتربین‌های اکسیژن‌دار (۵۳/۴۱ درصد)، مونوتربین‌های هیدروکربنی (۳۷/۹۷ درصد)، سزکوبی‌ترین‌های هیدروکربنی (۷/۷۷ درصد) و سزکوبی‌ترین‌های اکسیژن‌دار (۱/۹ درصد) با میزان کمتری در اسانس یافت شدند. سایر ترکیب‌ها نیز (۰/۷ درصد) بودند. ترکیب‌های زیر ۱ درصد هم به عنوان «ذره»^۸ در نظر گرفته شدند.

بحث

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

^۱ Minimum Bactericide Concentration

^۲ Thymol ^۳ Borneol

^۴ para-Cymene ^۵ gamma-Terpinene

^۶ alpha-Pinene ^۷ Carvacrol

^۸ Trace

^۱ β -caryophyllene

² Karaman

جدول شماره ۱- ترکیب‌های تشکیل دهنده اسانس آویشن تالشی

ردیف	نام ترکیب	شاخص بازداری	درصد
۱	alpha-Thujene	۹۳۱	۱/۵۳
۲	alpha-Pinene	۹۴۱	۰/۲۹
۳	alpha-Fenchene	۹۴۹	۰/۱۱
۴	Camphepane	۹۰۰	۲/۴۱
۵	Thuja-2,4(10)-diene	۹۰۹	۰/۱۶
۶	beta-Pinene	۹۸۲	۰/۸۹
۷	3-Octanone	۹۸۷	۰/۰۵
۸	Myrcene	۹۹۰	۲/۵۲
۹	3-Octanol	۱۰۰۳	۰/۱۰
۱۰	alpha-Phellandrene	۱۰۰۹	۰/۰۲
۱۱	delta-3-Carene	۱۰۱۰	۰/۱۳
۱۲	alpha-Terpinene	۱۰۲۴	۲/۰۷
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	۱۱۰۰	۰/۴۹
۲۱	cis-Verbenol	۱۱۰۰	۰/۱۲
۲۲	Camphor	۱۱۰۴	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	۱۲۹۰	۰/۲۴
۳۰	Thymol	۱۳۱۲	۲۴/۴۳
۳۱	Carvacrol	۱۳۳۰	۰/۰۷
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	۱۴۸۰	۰/۲۴
۳۸	Clovene	۱۴۶۲	۰/۱۰
۳۹	alpha-Humulene	۱۴۷۲	۰/۱۴
۴۰	cis-Muurola-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		۷/۷۷
	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 بر حسب میلی‌متر

نام میکروارگانیسم	قطر هاله بر حسب 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 مقدار ۰/۰۵ μL، از مقدار ۰/۱ μL استفاده شد.

جدول شماره ۳ - قطر هاله‌های عدم رشد آنتی‌بیوتیک‌های مختلف بر حسب میلی‌متر

نام میکروارگانیسم	آموکسی سیلین	آمپی سیلین	جنتاما سیلین
<i>Staphylococcus aureus</i>	۲۰	۲۱	۳۳
<i>Streptococcus pyogenes</i>	۱۶	—	—
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	۱۹	—	—
<i>Salmonella typhi</i>	۱۸	۱۰	۲۰
<i>Escherichia coli</i>	۱۸	۱۱	۱۴
<i>Bacillus subtilis</i>	۲۳	۱۲	۹
<i>Proteus mirabilis</i>	۱۵	۱۰	۱۸



جدول شماره ۴- میزان MIC و MBC اسانس آویشن تالشی بر حسب $\mu\text{g}/\text{ml}$

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

طبق گزارش کارمان^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 ضدبacterی و ضدقارچی عمدہ‌ای دارد [۹].

در یک بررسی توسط سوکمن^۲ و همکارانش (۲۰۰۴)، خواص ضدمیکروبی و آنتیاکسیدانی اسانس و عصاره متانولی ضدmیکروبی *Thymus spathulifolius* در شرایط آزمایشگاهی^۳ ارزیابی شد. *Th. spathulifolius* نتایج آزمون ضدmیکروبی نشان داد که اسانس خاصیت بازدارندگی قوی روی رشد میکروارگانیسم‌های مورد بررسی به غیر از چهارگونه قارچ داشته ولی عصاره متانولی آن اثر ضدبacterی متوسط داشته و هیچ‌گونه اثر ضدقارچی و ضدبacterیایی 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 آرچنیوزا، کلبسیلا پنومونی، استرپتوكوک پنومونی، استافیلوکوک اورئوس، استافیلوکوک کوآگلаз) 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 و لگاریس^۵ و سیناموم وروم^۶، ارگانوم و لگار^۷ اثرات ضدبacterیایی بسیاری از خود نشان دادند [۱۱].

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

در این بررسی، آزمون ضدmیکروبی اسانس آویشن تالشی 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 آئروژنیوزا کمترین تاثیر را داشته است. هم‌چنین مقایسه تاثیر اسانس آویشن تالشی با آنتی‌بیوتیک‌های به کار برده شده در این پژوهش، نشان می‌دهد که تاثیر این اسانس در حجم‌های پایین، مشابه اثر آنتی‌بیوتیک‌های آمپیسیلین و آموکسیسیلین (جداول شماره ۲ و ۳) است همان‌طور که جداول نشان می‌دهند باکتری استافیلوکوکوس پیوژنر در مقابل این آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم بوده ولی اسانس مذکور روی این باکتری موثر بوده است. از طرفی جتامايسین، یک آنتی‌بیوتیک وسیع‌الطیف است به همین دلیل روی همه باکتری‌ها موثر بوده است. نتایج سایر پژوهش‌ها نیز خاصیت ضدmیکروبی این گیاه را تایید می‌کنند.

¹ Karaman³ In vitro⁵ *Thymus vulgaris*⁷ *Origanum vulgare*² Sokmen⁴ Hersch-Martinez P.⁶ *Cinnamomum verum*¹ Sokmen

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

در یک بررسی اسانس‌های حاصل از تیموس و لگاریس، تیموس سرپیلوم، چند گونه *Eugenia caryophyllus* *Eucalyptus* *Rosa damascena* جهت بررسی اثرات ضدمیکروبی علیه باکتری‌های گرم مثبت و منفی نظری استافیلولکوکوس اورئوس، اشريشیاکولی، سودوموناس آثروژینوزا و همچنین کاندیدا آلبیکنس تست گردیدند. تمامی اسانس‌ها اثر ضدمیکروبی علیه استافیلولکوک اورئوس، اشريشیاکولی، کاندیدا آلبیکنس از خود نشان دادند ولی هیچ یک از آن‌ها علیه سودوموناس آثروژینوزا موثر نبود. در این میان کاندیدا آلبیکنس از همه حساس‌تر و استافیلولکوک 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 کشنده‌گی روی میکروارگانیسم‌ها از خود نشان دادند [۱۴].

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

در یک بررسی توسط عثمان ساگدیک^۱، عرق‌های^۲ دو گونه تیموس و لگاریس و تیموس سرپیلوم^۳ و سه گونه (*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 ای‌کولاوی، ای‌کولاوی ۰۱۵۷:H7^۴، استافیلولکوکوس اورئوس^۵ و یرسینیا انتروكولیتیکا^۶ آزمایش شدند. برای این کار از روش دیسک دیفیوژن استفاده گردید و برای تعیین میزان کشنده‌گی باکتری‌ها از روش رقت‌های سری^۷ استفاده گردید در روش دیسک دیفیوژن نتیجه تمام آزمون‌های عرق روی بازدارندگی رشد، مثبت بود و در روش رقت‌های سری، کشنده‌گی باکتری‌ها مشاهده شد. حساس‌ترین باکتری نسبت به این عرق‌ها، استافیلولکوکوس اورئوس گزارش شده علاوه بر این پیشترین بازدارندگی را *O. majorana* و *O. onites* داشته‌اند [۱۲].

در یک تحقیق خواص ضدباکتریایی روغن‌های فرار دو گونه تیموس پابسننس^۸ و تیموس سرپیلوم^۹ در مراحل قبل و بعد از گل‌دهی روی باکتری‌های ای‌کولاوی، استافیلولکوکوس اورئوس، باسیلوس سابتیلیس و سودوموناس آثروژینوزا ارزیابی شدند و اثرات ضدباکتریایی آن‌ها توسط رسولی و همکارانش (۲۰۰۲) تایید گردید.

¹ Osman sagdic

² hydrosol

³ *Thymus serpyllum*

⁴ *E. coli*

⁵ *E. coli* 0157:H7

⁶ *Staphylococcus aureus*

⁷ *Yersinia enterocolitica*

⁸ Serial dilution method

⁹ *Thymus pubescens*

¹⁰ *Thymus serpyllum*

منابع

- WHO Traditional Medicine Sterategy. 2002-2005. Geneva 2002, PP: 1 - 3, 43 - 47.
- Clark AM. Natural Products as a resource from new drugs. *Pharm. Res.* 1996; 13: 1133 -1144.
- Sefidkon F. and Askari F. Essential Oil Composition of 5 *Thymus* species. Research Institute of Forests and Rangelands. *Iranin Medicinal and Aromatic Plants Research.* 2002; 12: 29 - 51.
- Sefidkon F. and Rahimi-Bidgoli A. Quantitative and qualitative variation of essential oil of *Thymus kotschyanius* by different methods of distillation and stage of plant growth. Research Institute of Forests and Rangelands. *Iranin Medicinal and Aromatic Plants Research.* 2003; 15: 1 - 22.
- Rechinger KH. Flora Iranica. Labiateae. Akademische Druk-u. Verlagsanstalt, Graz.-Austria. 1982; 150: 39 - 43.
- Mozaffarian V. A Dictionary of Iranian Plant Names. Farhang Moaser, Tehran, Iran. 1996, PP: 548.
- 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-olutus* 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.

