

بررسی اثرات ضدباکتریایی و مروری بر ۱۰ گونه گیاهی علیه سوش‌های بیماری‌زای نوکاردیا

سیدسعید اشراقی^{۱*}, غلامرضا امین^۲, اعظم اطاری^۳

۱- دانشیار، گروه پاتوبیولوژی، بخش میکروب‌شناسی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران
۲- استاد، گروه فارماکوگنوزی، دانشکده داروسازی و مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی
تهران، تهران

۳- دانشجوی دکترای داروسازی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران، تهران

*آدرس مکاتبه: تهران، خیابان انقلاب، خیابان قدس، خیابان پورسینا، دانشگاه علوم پزشکی تهران،
دانشکده بهداشت، گروه پاتوبیولوژی، صندوق پستی: ۱۴۱۵۵ - ۷۴۴۶، تلفن: ۸۸۹۹۴۸۲۳ (۰۲۱)،
نمبر: ۸۸۹۵۴۹۱۳ (۰۲۱)

پست الکترونیک: eshraghs@tums.ac.ir

تاریخ تصویب: ۸۸/۴/۳۱

تاریخ دریافت: ۸۶/۴/۲۵

چکیده

مقدمه: یکی از کاربردهای گیاهان دارویی استفاده آنها به عنوان عوامل ضدمیکروبی است. مطالعات انجام شده حاکی از این است که عصاره بسیاری از گیاهان قادر به مهار رشد میکروارگانیزم‌ها است. یکی از باکتری‌های بیماری‌زای نوکاردیا می‌باشد که از خانواده مایکوباکتریوم‌ها بوده و قادر است عفونت‌های مزمن خطراً ناک به صورت فرستاده تفسی، پوست و بافت‌های نرم ایجاد نماید. هدف: بررسی اثرات ضدباکتریایی عصاره تام ۱۰ گونه گیاهی شامل: خوشاریزه، اکالیپتوس، فریفون، هوفاریقون، علف چای زوفائی، علف چای دیهیمی، ارس، اسپند، بارهنگ کبیر و پیزر بر سوش‌های بیماری‌زای نوکاردیا.

روش بررسی: جهت بررسی اثر ضدباکتریایی، ابتدا گیاهان مورد نظر جمع‌آوری و نام علمی آنها تعیین شد و پس از تهیه عصاره متنالی بروش پرکولاسانیون، غلظت‌های انتخابی عصاره‌های گیاهی شامل ۵/۲، ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ درصد با (g/100mL) تهیه و با استفاده از روش‌های انتشار در آگار، تأثیر آنها در مهار رشد نوکاردیاها مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش‌های فیتوشیمیایی مقدماتی نیز به منظور بررسی وجود کیفی آکالولید، تانن، ساپونین و فلاونوئید بر روی عصاره تام گیاهان انجام گرفت.

نتایج: نتایج به دست آمده نشان می‌دهد که عصاره متنالی حداقل ۵ گیاه مورد مطالعه شامل هوفاریقون، علف چای زوفائی، علف چای دیهیمی (هر سه گونه از تیره علف چای)، ارس و پیزر، تأثیر ضدمیکروبی قابل توجهی در جلوگیری از رشد نوکاردیا استروئیدس و نوکاردیا برازیلینسیس دارند.

نتیجه‌گیری: اگرچه نتایج به دست آمده از بررسی حاضر، اثرات ضدمیکروبی عصاره تام گیاهان مورد مطالعه را نشان می‌دهد، لیکن از میان ۱۰ گونه گیاهی ۵ گونه آنها دارای اثرات مهارکنندگی قابل توجه بر علیه سوش‌های نوکاردیا نشان دادند. با مقایسه هاله عدم رشد عصاره گیاهان مورد مطالعه با غلظت ۱۵ درصد به روش دیسک پلیت و غلظت ۱۰ درصد بروش چاهک پلیت، با هاله عدم رشد دیسک‌های آنتی‌بیوتیک استاندارد، به این نتیجه می‌رسیم که اثرات مهارکنندگی عصاره تام این گیاهان، مشابه تأثیر آنتی‌بیوتیک‌های آمیکاسین، آموکسیسلین، سفتازیدیم، سفتی زوکسیم (برای نوکاردیا استروئیدس) و سفووتاکسیم (برای نوکاردیا برازیلینسیس)، سفالوتین و کوتريموکسازول بر باکتری‌های مورد مطالعه می‌باشد. با توجه به بررسی نتایج فیتوشیمیایی مقدماتی این گونه‌ها به نظر می‌رسد که اثرات ضدباکتریایی گیاهان دارویی فوق مربوط به وجود مواد مؤثره‌ای مانند فلاونوئید، ساپونین و تانن موجود در عصاره متنالی آنها است.

گل و ارگان: گیاهان دارویی، آثار ضدباکتریایی و فیتوشیمیایی، نوکاردیا، فلاونوئید، ساپونین، تانن



مقدمه

برازیلینسین و نوکاردیا کاویه نیز از گونه دیگر دخیل در ایجاد عفونت‌های انسانی می‌باشند ولی نیاز به ضعف سیستم ایمنی میزبان نداشته و عفونت او لیه ایجاد می‌نمایند [۲۰-۲۳]. عفونت‌های نوکاردیائی معمولاً با استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های مناسب و گاهی عمل جراحی، درناژ چرک و حذف بافت‌های نکروزه درمان می‌شوند. استفاده از داروهای شیمیایی مانند سولفانامیدها ... برای درمان بیماران نوکاردیوزی بسیار مؤثر است [۲۴، ۲۵].

در یکصد سال گذشته گیاه درمانی به عنوان شاخه‌ای از طب سنتی نقش تعیین کننده در درمان بیماری‌ها ایفا می‌کرد. با پیدایش داروهای شیمیایی و صناعی و جایگزینی آنها با داروهای گیاهی به تدریج نقش این داروها کم رنگ شد و داروهای شیمیایی و آنتی‌بیوتیک‌ها به طور وسیعی در درمان بیماری‌های مختلف کاربرد پیدا کرد. در سال‌های اخیر به دلیل توجه و اقبال مردم دنیا به مصرف داروهای گیاهی به دلیل عوارض جانبی کمتر آن نسبت به داروهای شیمیایی، به نظر می‌رسد تعادل مصرف به نفع داروهای گیاهی در حال رقم خوردن است [۲۶]. تا سال ۱۹۹۶ حدود ۵۰۰/۰۰۰ گونه گیاهی در دنیا شناسایی شده است [۲۷] که از این تعداد کمتر از هزار گونه به عنوان گیاه دارویی نام‌گذاری شده است [۲۸]. گزارش کلارک در سال ۱۹۹۶ تصریح دارد که حدود نیم تا یک سوم از فرآورده‌های دارویی موجود در آمریکا منشا گیاهی دارند [۲۹]. از طرف مقاومت دارویی تهدیدی جدی برای سلامتی انسان تلقی می‌شود، ضمن اینکه افراد واجد ضعف ایمنی از آسیب‌پذیری بیشتری برخوردارند. تحقیقات انجام شده در سال‌های اخیر نشان می‌دهد که عصاره تعداد زیادی از گیاهان دارویی سنتی اثرات بازدارنده و گاهی کشنده‌گی کامل بر میکرووارگانیزم‌های مختلف دارند [۳۰-۳۵].

در مطالعه حاضر اثرات ضدباکتریایی و فیتوشیمیایی عصاره تام ده گونه گیاهی که هر کدام مصارف آنتی‌باکتریال جالب توجهی تاکنون از خود نشان داده‌اند، بر علیه ۴ سوش نوکاردیای بیماری‌زا بررسی شد. در این بررسی ابتدا روی عصاره تام گیاهان مورد مطالعه آزمایش‌های فیتوشیمیایی مقدماتی انجام شد تا ارتباط اثرات ضدباکتریایی عصاره‌ها و

مطالعات انجام شده در دنیا حاکی از آن است که عصاره بسیاری از گیاهان توانایی مهار رشد میکرووارگانیزم‌ها را دارد و به این لحاظ گیاهان دارویی به عنوان عوامل ضدمیکروبی کاربردهای زیادی پیدا نموده‌اند. از طرفی بازگشت دوباره بیماری‌های عفونی که در گذشته مهار شده بودند مانند سل [۱، ۲] و شیوع غیرمنتظره بیماری‌های نقص ایمنی و نیز ویروسی مانند ایدز و هپاتیت C [۳، ۴]، مصرف مداوم کورتیکوستروئیدها و بیماری‌های ایمنوساپرسیو [۵-۷] و ارتباط این سرطان‌ها [۸، ۹]، انجام عمل پیوند اعضاء [۱۰، ۱۱] و قبیل بیماری‌ها با ضعف سیستم ایمنی میزبان، توجه محققین را به میکرووارگانیزم‌های فرصت‌طلب معطوف کرده است. از جمله می‌توان به نوکاردیا اشاره کرد که یک باکتری فرصت‌طلب در این گروه می‌باشد که گزارش‌های متعددی درخصوص ایجاد عفونت سخت ریوی در بیماران نقص ایمنی و افراد آسیب‌پذیر در سراسر جهان منتشر شده است [۱۲-۱۴]. این باکتری رشتہ‌ای شکل، گرم مثبت، هوایی، نیمه اسید دوست، کاتالاز مثبت و از راسته اکتینومایست می‌باشد که همراه با جنس‌های مایکوباکتریوم، کرینه باکتریوم و رودوکوکوس خانواده نوکاردیافرم را تشکیل می‌دهد [۱۵-۱۲]. در پیتیدوگلیکان دیواره سلولی دارای مزو دی آمینوپاپیلمیک اسید و قندهای آرابینوز و گالاكتوز می‌باشد [۱۵، ۱۲]. جایگاه اصلی نوکاردیا خاک است ولی در آب، فاضلاب و بقایای آلی گیاهان نیز یافت می‌شود. گونه‌های پاتوژن درگرد و خاک منزل، شن و ماسه ساحل، خاک باغچه و استخرهای شنا وجود دارد بیماری نوکاردیوز ریوی اغلب در اثر استنشاق و ورود آئروسل‌های حامل نوکاردیا استروئیدس به دستگاه تنفسی میزبان مستعد به وجود می‌آید [۱۶-۱۸]. این باکتری شایع‌ترین و خطرناک‌ترین گونه پاتوژن انسانی محسوب می‌شود و عامل اصلی عفونت در جهاز تنفسی است که معمولاً با ایجاد آبسه‌های متاستاتیک موجبات سیستمیک شدن بیماری را فراهم می‌کند [۱۳، ۱۱، ۵]. ضعف سیستم ایمنی و دفاع آسیب‌دیده ریه‌ها که در طیف وسیعی از افراد آسیب‌پذیر دیده می‌شود، خطر ابتلاء به نوکاردیوز ریوی را افزایش می‌دهد [۴-۷، ۱۹]. نوکاردیا



Eu. Sargentii و *Eu gilli Eu fruicetorum* اشاره کرد که همگی زیر مجموعه تیره مورد^۱ می باشند. اکالیپتوس از گیاهان سنتی است که برگ هایش به صورت بخور در رفع سرماخوردگی و نیز به عنوان دورکننده حشرات مصرف دارد [۴۱].

۳- فرفیون^۲ گیاهی است پایا با ساقه ای ضخیم از تیره فرفیون^۳ که از جمله خانواده های بزرگ و مهم گیاهان گل دار دارویی است که نزدیک به ۳۰۰ جنس و ۸۰۰ گونه از آن در جهان شناخته شده است. جنس فرفیون که زیر مجموعه این تیره می باشد با بیش از ۲۰۰۰ گونه یکی از بزرگ ترین جنس های این گیاه در دنیا به شمار می رود که در سراسر کره زمین، از مناطق گرمسیری، نیمه گرمسیری تا معتدل ه پراکنده هستند. در ایران بیش از ۸۰ گونه آن شناسایی شده که تعدادی از آنها انحصاری کشورمان و جزو گونه های نادر و احیاناً در حال انقرض و تعدادی نیز به صورت مهاجم و علف هرز در سراسر ایران پراکنده هستند [۴۲، ۴۳].

۴- علف چای^۴ گیاهی است که بیشتر در نواحی گرم از جمله مناطق مدیترانه ای می روید. این جنس که از تیره ای به نام های پریکاسه^۵ منشعب شده، دارای حدود ۴۰۰ گونه مختلف می باشد. برخی از گونه های این جنس در طب سنتی به عنوان داروی ضدافسردگی، ضددرد، ضدکرم، مدر، ضدعفونی کننده، التیام بخش و ترمیم کننده زخم و غیره به کار می رفته است [۴۴].

یکی از گونه های مهم این جنس هوفاریقون^۶ می باشد که به همراه دو گونه دیگر علف چای زوفائی^۷ و علف چای دیهیمی^۸ در این مطالعه مورد بررسی قرار گرفتند. این گیاه بسیار بادوام بود و به شکل گسترده ای در اروپا، آسیا، آفریقای شمالی، ایالات متحده آمریکا و نیز ایران می روید [۴۵] ترکیبات مختلفی از این گونه گزارش شده که فعالیت های بیولوژیکی

متabolیت های ثانویه موجود در گیاهان روشن شود. برای پی بردن به این ارتباط بررسی های فیتوشیمیایی مقدماتی به صورت کیفی و با جستجوی متabolیت های مهمتری نظریه تان، آکالویید، فلاونوئید و ساپونین انجام گرفت تا در مراحل بعد با فراکشن کردن عصاره تام مؤثر، جستجوی ترکیبات به صورت ریزتر دنبال شود. همچنین مقایسه اثر ضد میکروبی این گیاهان با آنتی بیوتیک های رایج بر باکتری های فوق بررسی شد. این گیاهان عبارت بودند از: خوشاریزه، اکالیپتوس، فرفیون، هوفاریقون، علف چای زوفائی، علف چای دیهیمی، ارس، اسپند، بارهنگ کبیر و پیزرا که در ذیل به شرح مختصر آنها می پردازیم:

۱- خوشاریزه^۹ گیاهی است علفی دو ساله معطر و پایا، به ارتفاع ۲۰ تا ۳۰ سانتی متر، با پوششی از کرک های کوتاه و خوابیده بر هم و ساقه ای سخت و ضخیم. این گیاه در خرداد و تیر به گل می نشیند که به صورت سنتی به عنوان چاشنی غذایی و برای معطر کردن ماست و پنیر مورد استفاده قرار می گرفته است [۳۶، ۳۷]. جنس خوشاریزه (*Echinophora* L.) دارای ۱۰ گونه بوده که پراکنده کی آن بیشتر در منطقه مدیترانه می باشد. گونه *Echinophora platyloba* به عنوان چاشنی غذایی و معطر مصرف می شود و به همراه گونه *Echinophora cinerea* انحصاراً در ایران کشت می شود [۳۸]. دو گونه دیگر به نام های *E. orientalis* و *E. sibthorpiana* دیگر مثل ارمنستان، ترکمنستان، افغانستان، روسیه و غیره نیز می رویند [۳۹، ۴۰].

۲- اکالیپتوس^{۱۰} گیاهی است درختی چند ساله و همیشه سبز که در هوای گرم و مرطوب سازگاری خوبی دارد. این گیاه دارای برگ هایی چرمی باریک و نوک تیز که در اثر فشرده شدن بوی بسیار نافذی از آن استشمام می شود، می باشد. از گونه های مهم آن می توان به *Eucalyptus globulus* ل.

¹ *Myrtaceae* ² *Euphorbia denticulata* Lam
³ *Euphorbiaceae* ⁴ *Hypericum*
⁵ *Hypericaceae* ⁶ *Hypericum perforatum* L.
⁷ *Hypericum hyssopifolium* Chaix.
⁸ *Hypericum scabrum* L.

¹ *Echinophora platyloba* D.C
² *Eucalyptus globulus* L.



آبی که به عنوان علف هرز مزارع ایران معروف است. این گیاه در بیشتر مناطق آسیا نیز می‌روید. میوه کروی اسفند دارای تعداد زیادی دانه برنگ قهوه‌ای یا سیاه و منشوری شکل بوده و دارای بوی نافذ و طعم بسیار تلخ می‌باشد و به عنوان ضدغونی کننده مصرف عمومی دارد [۴۱]. در طب سنتی ایران از پودر دانه‌های اسپند در درمان تومورهای جلدی و زیر جلدی استفاده می‌شده است [۴۸].

۹- بارهنگ یا بارهنگ کبیر با نام علمی Plantaginaceae از تیره *Plantago major* L. گیاهی است علفی و پایا با ریشه‌ای کوتاه و مخصوص مناطق پرآب که در بیشتر نقاط ایران رویش دارد. دارای برگ‌های پهن و طوقه‌ای با دمبرگ‌های بلند و گل آذین خوش‌های دانه‌های بارهنگ ریز سیاه رنگ و قایقی شکل و در میوه‌ای پوستینه که به صورت کپسول تخم مرغی بوده قرار دارد. دانه‌های بارهنگ را از اواسط فصل بهار به علت داشتن لایه موسیلائز با جذب آب در آب قرار دهنده به علت جمع آوری می‌نمایند و چنانچه آنها را متورم می‌شوند. دانه‌های بارهنگ ضداسهال بوده و یکی از اعضای چهار تخمه می‌باشد که به عنوان نرم کننده سینه و برطرف کننده سرفه و خارش گلو مصرف سنتی دارد [۴۱].

۱۰- پیزر با نام علمی *Scirpus lacustris* L. از تیره *Cyperaceae* گیاهی است پایا به ارتفاع ۱-۲ متر با نی ضخیم رونده با ساقه‌ای محکم با مقطع مدور و در قاعده پوشیده از نیام قهوه‌ای. این گیاه در اردیبهشت و خرداد گل می‌دهد. انتشار جغرافیایی آن در ایران عبارت است از غرب تهران، کرج، اطراف بابل، شرق استان خراسان و غیره [۵۴].

مواد و روش‌ها

۱. مواد مصرفی: مواد شیمیایی، معرف‌ها، محیط‌های کشت آزمایشگاهی و دیسک‌های آنتی‌بیوتیک از نمایندگی‌های شرکت‌های BBL, Difco, Merck, Sigma در ایران تهیه شد.



خاصی را به آن نسبت می‌دهند مانند هایپریسین^۱، سودوهایپریسین^۲، فلاونوییدهای مختلف مانند کوئرستین^۳، هایپرین^۴، فلورگلوسینول^۵ و اسانس، که اثرات مختلف ضدافسردگی، ضدمیکروبی، آنتی‌اکسیدان و فعالیت ضدالتهابی از آنها گزارش شده است [۴۶].

۷- ارس یا سرو کوهی^۶ که در اصطلاح محلی

«ول» نامیده می‌شود گیاهی است درختی دو پایه از خانواده سرو^۷، یکی از محدود سوزنی برگ‌های بومی شمال ایران و درخت مقاوم و زیبای مناطق جنگلی و کوهستانی به ویژه شمال کشور محسوب می‌شود. ناحیه رویشی این درخت از غرب تا شرق در امتداد دامنه‌های جنوبی رشته کوه‌های البرز و از شمال غربی تا جنوب در امتداد ارتفاعات البرز زاگرس (جاده لوشان، هراز، جاده چالوس در دل سنگ‌ها و صخره‌ها) قابل مشاهده است. زیستگاه اصلی ارس، مناطق بنه بادام بوده و اکنون در بسیاری مناطق کشور جز درختچه‌های پراکنده، چیز دیگری از آن دیده نمی‌شود [۴۷]. صبر و مقاومت در برابر خشکی و سرما، قابلیت رویش در ارتفاعات بیش از سه هزار متری از سطح دریا و سرسبزی از ویژگی‌های این درخت زیبا است که توسعه کاشت آن در ارتفاعات، روند فرسایش خاک را در کشور کاهش می‌دهد. ارس مقاومت زیادی نسبت به حشرات چوب خوار دارد و رطوبت تاثیری بر روی آن نمی‌گذارد، بوی حاصل از درخت ارس باعث فرار مار، عقرب و حشرات گزنده می‌شود [۴۸]. در دنیا بیش از ۷۰ گونه ارس شناخته شده که عمدتاً در کشورهای منطقه بالکان، حجاز، افغانستان، یمن، عمان و ایران گزارش شده است [۴۹، ۵۰]. در کشور ترکیه ۸ گونه ارس شناخته شده [۵۱، ۵۲]. در کشور ما ۵ گونه از جنس ارس گزارش شده است که همگی بومی ایران هستند [۵۳].

۸- اسپند با نام علمی *Peganum harmala* L. از تیره *Zygophyllaceae* گیاهی است علفی به رنگ سبز مایل به

¹ Hypericin

³ Quercetin

⁵ Phloroglucinol

⁷ Cupressaceae

² Pseudohypericin

⁴ Hyperin

⁶ Juniperus excelsa M. B.

الف- آزمایش وجود آلکالوئید از طریق استخراج آب و اسید عصاره تام و سپس استخراج کلروفرمی از محلول قلیایی شده مرحله قبل و به کارگیری معرفه‌های میر و درزاندurf صورت گرفت.

ب- آزمایش تشخیص وجود تانن با استفاده از نتایج حاصل از واکنش محلول عصاره تام هر گیاه در مجاورت محلول ژلاتین و نیز تغییر رنگ محلول در مجاورت با معرف کلروفوفریک انجام شد.

ج- آزمایش تشخیص وجود ساپونین از طریق ثبت ارتفاع کف پایدار عصاره تام گیاه در مجاورت با آب تعیین شد.

د- آزمایش تشخیص وجود فلاونوئید به وسیله قرائت شدت رنگ قرمز تا قرمز پررنگ حاصل از واکنش سیانیدین و استخراج آمیل الکلی واکنش رنگی حاصل صورت گرفت.

۵. بررسی میکروبیولوژیک: برای مشاهده اثر ضدباکتریایی عصاره تام گیاهان مورد مطالعه از روش انتشار درآگار (قطره پلیت، دیسک پلیت و چاهک پلیت) استفاده شده و آزمایش ها طی مراحل ذیل انجام گرفت [۶۵ - ۶۲].

الف- انتخاب محیط‌های کشت غنی آزمایشگاهی: سویه‌های نوکاردیا بر روی محیط‌های غنی آزمایشگاهی شامل: ژلوز خون‌دار (Blood A)، ژلوز گلوکز عصاره قارچ (GYEA)، ژلوز عصاره قلب و مخز گوساله (BHIA)، ژلوز سابورو دکستروز (SDA)، ژلوز مولر هیتون (MHA)، ژلوز استارچ کازئین (StCA)، ژلوز پیتون عصاره قارچ (PYEA)، ژلوز پارافین (Paraffin A)، ژلوز بنتس (Bennett's A) کشت داده شد. لازم به ذکر است که باکتری در محیط‌های کشت فوق به خوبی رشد نمود، لیکن در موارد مقایسه قطر هاله عدم رشد عصاره تام گیاهان مورد آزمایش و دیسک‌های آنتی‌بیوتیک استاندارد، از محیط کشت‌های (GYEA، BHIA، SDA، MHA) که برتری نسبی بر سایر محیط‌های کشت نشان دادند، استفاده شد. یک لیتر محیط کشت GYEا ۱۰۰ گرم گلوکز، ۱۵ گرم آگار (Oxoid) و ۲۰ میلی لیتر از محلول ۵۰ درصد عصاره قارچ و با اسیدیته نهایی ۷-۷/۲ می‌باشد.

۲. سویه‌های باکتریایی: در این بررسی از دو سوش نوکاردیا استروئیدس^۱ جدا شده از دو بیمار مختلف که هردو آنها دچار نقص ایمنی بوده و مبتلا به نوکاردیوز ریوی شده بودند و نیز دو سوش نوکاردیا برازیلینسیس^۲ جدا شده از دو بیمار مختلف که هیچ یک از آنها دچار نقص ایمنی بوده و هر دو مبتلا به اکینومایستومای پیشرفتی بودند و در بانک میکروبی بخش باکتری‌شناسی دانشکده بهداشت نگهداری می‌شود، استفاده شد.

گونه‌های گیاهی: ۱۰ گونه گیاهی فوق‌الذکر که همگی در طب سنتی برای درمان ناراحتی‌های تنفسی و عفونت‌های مختلف کاربرد داشتند، مورد استفاده قرار گرفتند. این گیاهان از نقاط مختلف کشور به دقت جمع‌آوری و نام علمی آنها در هرباریوم دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تهران تعیین شد. گیاهان جمع‌آوری شده پس از تمیز و خشک کردن، توسط آسیاب پودر شده و در ظروف درسته و به دور از نور و حرارت نگهداری شدند.

۳. تهیه عصاره تام و غلظت‌های لازم: مقدار ۱۰۰ گرم از پودر هر یک از ۱۰ گونه گیاهی فوق‌الذکر جداگانه توزین و عصاره‌گیری با متابل و به روش پرکولاسیون انجام شد [۵۵]. عصاره‌های به دست آمده پس از تغییض توسط دستگاه تقطیر (دمای دستگاه روتاری بین ۳۰ تا ۴۰ درجه سانتی گراد تنظیم شده بود) در خلاء در ظروف شیشه‌ای رنگی تا زمان انجام آزمایش نگهداری شد. غلظت‌های انتخابی عصاره‌های گیاهی شامل ۲/۵، ۵، ۷/۵ و ۱۵ درصد (w/v) یا (g/100mL) به ترتیب با افزودن ۰/۰۵، ۰/۱۰، ۰/۱۵، ۰/۲۰ و ۰/۳۰ گرم از عصاره تام تغییض شده فوق که توسط دستگاه تقطیر در خلاء آماده شده بود، به ۲ میلی لیتر متابل ۸۰ درصد تهیه شد.

۴. بررسی فیتوشیمیایی مقدماتی: برای انجام این آزمایش‌ها مقدار معینی از عصاره خشک گیاهان مورد مطالعه به منظور بررسی وجود کیفی آلکالوئید، تانن، ساپونین، فلاونوئید به شرح ذیل به کارگرفته شد [۵۶ - ۶۱]:

^۱ Nocardia asteroides

^۲ Nocardia brasiliensis



متانلی با رقت‌های موردنظر در چاهک یکنواختی به قطر ۶ میلی‌متر و عمق ۵ میلی‌متر که در سطح آگار پلیت آشته به باکتری تعییه شده بود، ریخته شد. در روش دیسک پلیت ابتدا دیسک‌های کاغذی در عصاره متانلی گیاهان مورد مطالعه از غلظت ۲/۵ تا ۱۰ درصد که مناسب‌ترین غلظت‌ها بود به مدت نیم ساعت قرار داده شد. سپس هواده‌ی و خشک گردانیده شد. مقدار عصاره تام جذب شده توسط یک دیسک کاغذی برای غلظت ۱۰ درصد به مقدار ۲۰ میلی‌گرم، غلظت ۷/۵ درصد به مقدار ۱۵ میلی‌گرم، غلظت ۵ درصد به مقدار ۱۰ میلی‌گرم و غلظت ۲/۵ درصد به مقدار ۵ میلی‌گرم محاسبه شد. بر روی هر محیط کشت آغشته به باکتری یک دیسک حاوی ۲۰ میلی‌گرم عصاره متانلی، یک دیسک آنتی‌بیوتیک استاندارد آمیکاسین به عنوان شاهد مثبت، و در تکرارهای بعد به ترتیب آموکسی‌سیلین، سفتازیدیم، سفتی زوکسیم (برای نوکاردیا استروئیدس) و سفوتاکسیم (برای نوکاردیا برازیلینسیس)، سفالوتین و کوتیریموکسازول و در کنار آنها یک دیسک حاوی اتانول ۸۰ درصد به عنوان شاهد منفی با فاصله مناسب قرار داده شد. پس از قراردادن کلیه پلیت‌ها در حرارت مناسب و زمان مشخص برای رشد باکتری، هاله‌های شفاف عدم رشد مشاهده و به کمک کولیس اندازه‌گیری شد.

برای اطمینان از عدم تاثیر ضدمیکروبی متانل بر میزان مهارکنندگی گیاهان مورد مطالعه بر نوکاردیاهای، در رقت‌های انتخابی ۰/۱، ۰/۲، ۰/۴، ۰/۶، ۰/۸ و ۲ درصد (حجم در حجم) از متانل تهیه و برکشت باکتری‌ها اضافه شد، لیکن هیچ اثر مهارکنندگی مشاهده نشد [۱۸].

نتایج

به منظور بررسی وجود کیفی ترکیباتی نظیر: ساپونین، آکالالوئید، فلاونوئید و تانن آزمایش‌های اوئیله فیتوشیمیایی انجام گرفت که نتایج آن به همراه مشخصات گیاهشناسی گیاهان مورد مطالعه در جدول شماره ۱ آمده است. در بررسی‌های انجام شده در این مطالعه مشخص شد که مناسب‌ترین غلظت‌های عصاره تام گیاهان به ترتیب ۲/۵ تا ۱۵ درصد علیه گونه‌های نوکاردیا در روش دیسک پلیت (جدول

ب- تعیین هویت و کنترل مجدد سویه‌های نوکاردیا: برای حصول اطمینان از خالص بودن باکتری‌های مورد مطالعه تمامی آنها مجدداً در محیط‌های اختصاصی کشت داده شد و با استفاده از سوبستراهای زانتین، هیپوزانتین، تیروزین و کازئین مورد شناسایی مجدد قرار گرفتند [۶۳، ۶۶].

ج- بررسی اثرات ضدباکتریایی گیاهان مورد مطالعه: با استفاده از روش انتشار در آگار عصاره تام گیاهی مورد آزمایش روی محیط کشت جامد که با ضخامت یکنواخت و اسیدیته (pH) تقریباً ثابت تهیه شده بود، قرار داده شد [۶۴، ۶۵]. نتایج پس از گرمانه‌گذاری در دمای مناسب به صورت هاله عدم رشد نمایان شد و قطر هاله عدم رشد مشاهده و با کولیس اندازه‌گیری شد. قطر هاله‌ها عکس‌العملی از غلظت ماده موثره ماده مورد آزمایش می‌باشد. این پدیده یک ارتباط خطی بین اندازه هاله و لگاریتم غلظت ماده مورد آزمایش می‌باشد که با اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد و مقایسه آن با استاندارد مشخص، قدرت ضدمیکروبی ماده مورد آزمایش معین می‌شود [۶۷]. از بین روش‌های انتشار در آگار سه روش قطره پلیت^۱، چاهک پلیت^۲ و دیسک پلیت^۳ مورد استفاده قرار گرفت. اثر مهارکنندگی عصاره‌های به دست آمده بر علیه ۲ سویه نوکاردیا استروئیدس و ۲ سویه نوکاردیا برازیلینسیس به صورت هاله عدم رشد بر روی محیط کشت جامد مشاهده و ثبت شد. لازم به ذکر است سوسپانسیون میکروبی به کار رفته در تمامی مراحل آزمایش دارای کدورتی معادل ۰/۵ مک فارلین که به نسبت ۰/۰۱ رقیق شده بود، تعیین و آزمون‌های میکروبی حداقل با سه تکرار انجام شد. در این مطالعه روش قطره پلیت به منظور بررسی کیفی و دو روش چاهک و دیسک پلیت به منظور بررسی کمی اثرات ضدمیکروبی گیاهان به کار گرفته شد. در روش کیفی (قطره پلیت) یک قطره ($10\ \mu\text{L}$) از هر رقت بر روی پلیت‌های حاوی محیط کشت جامد مولر هیبتون که قبلًا با سوسپانسیون حاوی سویه نوکارد کاملاً آغشته شده بود، چکانده شد. در حالی که در روش چاهک پلیت (کمی) ($100\ \mu\text{L}$) از عصاره

¹ Drop Plate Method
³ Paper Disk Method

² Cup Plate Method



خوشاریزه، اسپند و فرفيون به ترتیب تاثیر کمتر و دو گیاه بارهنگ کبیر و اکالیپتوس کمترین آثار ضد میکروبی را بر باکتری‌های مورد مطالعه نشان دادند (جدول شماره‌های ۲ و ۳). نتایج به دست آمده از تاثیر ۱۲ نوع دیسک آنتی‌بیوتیکی استاندارد بر نوکارديا استروئيدس و نوکارديا برازيلينسیس در جدول شماره ۴ درج شده است. مقایسه اثر مهارکنندگی

شماره ۲) و نیز غلظت‌های ۲/۵ تا ۱۰ درصد در روش چاهک پلیت می‌باشد (جدول شماره ۳). همان‌گونه که ملاحظه می‌شود، پنج گونه از گیاهان مورد مطالعه شامل هوفاریقون، علف چای زوفائی، علف چای دیهیمی که هر سه از تیره علف چای می‌باشند و نیز گیاه ارس و پیزراست تاثیر قابل ملاحظه‌ای بر مهار رشد نوکارديها نشان می‌دهند. سایر گیاهان شامل

جدول شماره ۱- مشخصات گیاه‌شناسی و فیتوشیمیایی ۱۰ گیاه دارویی ستی مورد مطالعه

نتایج آزمایش فیتوشیمیایی مقدماتی							نام گیاه دارویی
نام	نام علمی	نام محلی	تیره یا خانواده	جنس و گونه	FARCSI یا محلی	نام گیاه دارویی	
نام	نام علمی	نام محلی	Family	Genus & species			
-	++	-	+	بخش هوایی	زیاران و صحن آباد طالقان	Umbelliferae چتریان	خوشاریزه، خوشاروز، تیغه تو راغ، کشندر
++	+	++	++	برگ‌ها	بندرعباس	Myrtaceae موردن	اکالیپتوس
-	-	++	+	بخش هوایی	صحن آباد طالقان	Euphorbiacea e	فرفیون
+	++	-	++	سرشاخه گل‌دار	لاهیجان	Hypericacea هوفاریقون، علف چای، گل راعی	علف چای
+++	++	-	-	سرشاخه گل‌دار	صحن آباد طالقان	Hypericacea هوفاریقون، زنبیل گلی، زردگل	زوفایی، زنبیل
+	++	-	++	سرشاخه گل‌دار	نیشابور	Hypericacea علف چای	علف چای دیهیمی
+	-	-	++	سرشاخه	صحن آباد طالقان	Cupressacea Juniperus excelsa M.B.	ارس
-	-	+++	+	دانه	مشهد	Zygophyllacea اسفند	اسپند یا اسفند
+	-	-	-	دانه	تهران	Plantaginacea بارهنگ	بارهنگ کبیر
-	-	-	+	سرشاخه هوایی	صحن آباد طالقان	Cyperacea چگن	پیزرا

جدول شماره ۲ - مقایسه اثر مهارکنندگی عصاره تام گیاهان دارویی با غلظت‌های ۱/۵ تا ۱۵ درصد (w/v) بر چهار سوش بیماری‌زای نوکاردیا به روش دیسک پلیت

غلظت عصاره تام گیاهی (درصد)												متناوب با (g/100mL)
۱۵	۱۰	۷/۵	۵	۲/۵	۱۵	۱۰	۷/۵	۵	۲/۵			
<i>Nocardia brasiliensis (1)</i>						<i>Nocardia asteroides (1)</i>						میزان مهارکنندگی گونه‌های نوکاردیا
<i>Nocardia brasiliensis (2)</i>						<i>Nocardia asteroides (2)</i>						نام فارسی و علمی گیاهان مورد مطالعه
+++	+++	++	+	+	++	++	++	++	+	+		<i>Echinophora platyloba</i> D.C.
+++	++	+	+	-	++	++	++	+	-	-		خوشابزیه
-	-	-	-	-	++	++	+	-	-	-		<i>Eucalyptus globulus</i> L.
-	-	-	-	-	++	+	+	-	-	-		اکالیپتوس
++	++	+	-	-	++	++	+	-	-	-		<i>Euphorbia denticulata</i> Lam.
++	+	+	-	-	++	+	-	-	-	-		فرفیون
++++	++++	+++	++	+	++++	+++	++	++	+	+		<i>Hypericum perforatum</i> L.
++++	+++	+++	++	+	+++	+++	++	+	+	+		هوفاریقون
+++	+++	++	-	-	++++	+++	+	+	-	-		علف چای
+++	++	+	-	-	+++	++	+	-	-	-		زوفائی
++++	+++	++	+	+	++++	+++	+	+	-	-		علف چای
+++	++	++	+	-	+++	+++	+	-	-	-		<i>Hypericum scabrum</i> L.
+++	++	++	+	-	+++	+++	+	-	-	-		دیهیمه
++++	+++	+++	++	+	+++	+++	++	+	+	+		<i>Juniperus excelsa</i> M.B.
++++	+++	++	++	+	+++	++	++	+	+	+		ارس
++	++	++	+	+	++	++	++	+	+	+		<i>Peganum harmala</i> L.
++	++	++	+	-	++	++	+	+	-	-		اسپند
++	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-		بارهنه‌گ
+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-		کبیر
++++	+++	++	+	+	++++	+++	+++	++	++	+		<i>Plantago major</i> L.
++++	+++	++	++	+	++++	+++	+++	++	++	+		پیزر
++++	+++	++	+	+	+++	+++	++	++	++	+		<i>Scirpus lacustris</i> L.
++++	+++	++	+	+	+++	+++	++	++	++	+		میلی متر = +
میلی متر > ۲۰ = ++++						میلی متر ۱۷-۱۹/۹ = +++						میلی متر ۱۴-۱۶/۹ = ++
میلی متر ۱۳/۹-۱۱ = +												



جدول شماره ۳- مقایسه اثر مهارکنندگی عصاره تام گیاهان دارویی با غلظت‌های ۲/۵ تا ۱۰ درصد (w/v) بر چهار سوش بیماری‌زای نوکاردیا به روش چاهک پلیت

غلظت عصاره تام گیاهی (درصد) مناسب با (g/100mL)										نام فارسی و علمی گیاهان مورد مطالعه	
Nocardia brasiliensis (1)					Nocardia asteroides (1)						
۱۵	۱۰	۷/۵	۵	۲/۵	۱۵	۱۰	۷/۵	۵	۲/۵		
Nocardia brasiliensis (2)					Nocardia asteroides (2)						
قطر کیفی هاله عدم رشد نوکاردیا استروئیدس					قطر کیفی هاله عدم رشد نوکاردیا برازیلینسیس						
+++	++	++	+		+++	+++	++	+		<i>Echinophora platyloba</i> D.C.	
+++	++	++	+		+++	++	++	+		<i>Eucalyptus globulus</i> L.	
-	-	-	-		+++	++	+	-		<i>Euphorbia denticulata</i> Lam.	
-	-	-	-		+++	++	+	-		<i>Hypericum perforatum</i> L.	
++	++	+	-		++	++	+	-		<i>Hypericum hyssopifolium</i> Chaix	
++	+	-	-		++	+	-	-		<i>Hypericum scabrum</i> L.	
++++	+++	+++	++		++++	+++	++	+		<i>Juniperus excelsa</i> M.B.	
++++	+++	++	++		++++	++	+	+		<i>Peganum harmala</i> L.	
++++	+++	+++	++		++++	++	+	+		<i>Plantago major</i> L.	
+++	++	++	+		+++	++	+	-		<i>Scirpus lacustris</i> L.	
+++	++	+	-		++	+	-	-			
++	+	-	-		++	+	-	-			
+++	++	+	+		++++	+++	++	++			
++++	+++	++	+		++++	+++	++	+			
۲۰ = +++++ > ۲۰ میلی‌متر					۱۷ - ۱۹/۹ = +++ ۱۷ میلی‌متر					۱۱ - ۱۳/۹ = + ۱۱ میلی‌متر	

جدول شماره ۴- مقایسه اثر مهارکنندگی دیسک‌های آنتی‌بیوتیک استاندارد بر دو سوش بیماری‌زای نوکاردیا

ردیف	نام آنتی‌بیوتیک	نوع محیط کشت	قطر هاله عدم رشد کمی (میلی‌متر) و کیفی	<i>Nocardia asteroides</i>	<i>Nocardia brasiliensis</i>
۱	آمیکاسین Amikacin	GYEA, BHIA	۲۹ (++++)	۲۸ (++++)	
۲	آموکسی سیلین Amoxicillin	GYEA, BHIA	۲۲ (++++)	۲۶ (++++)	
۳	سفتاژیدیم Ceftazidime	GYEA, BHIA, Blood A	۲۳ (++++)	۲۵ (++++)	
۴	سفتی زوکسیم / سفوتابکسیم Ceftizoxime/Cefotaxime	GYEA, BHIA, SDA	۲۰ (++++)	۲۱ (++++)	
۵	سفالوتوین Cephalothin	GYEA, Blood A	۲۲ (++++)	۲۷ (++++)	
۶	کلرام芬یکل Chloramphenicol	GYEA, BHIA	۱۴ (++)	۱۵ (++)	
۷	کوتريموکسازول Cotrimoxazole	MHA, SDA	۲۵ (++++)	۲۳ (++++)	
۸	جنتامایسین / نالیدکسیک اسید Gentamic/Nalidixic acid	GYEA, BHIA Blood A	۱۲ (-)	۱۱ (-)	
۹	کانامایسین Kanamycin	BHIA	۱۱ (-)	۱۳ (-)	
۱۰	نومایسین Neomycin	GYEA, BHIA Blood A	۱۷ (+++)	۱۹ (+++)	
۱۱	استرپتومایسین Streptomycin	GYEA	۱۹ (+++)	۱۷ (+++)	
۱۲	تتراسیکلین Tetracycline	GYEA, BHIA, MHA	۱۷ (++)	۱۸ (++)	

ژلوز گلوبکر عصاره قارچ (GYEA)، عصاره قلب و مغز گوساله (BHIA)، ژلوز خون‌دار (Blood A)، ژلوز سابورو دکستروز (SDA)، ژلوز مولر هیتون (MHA)

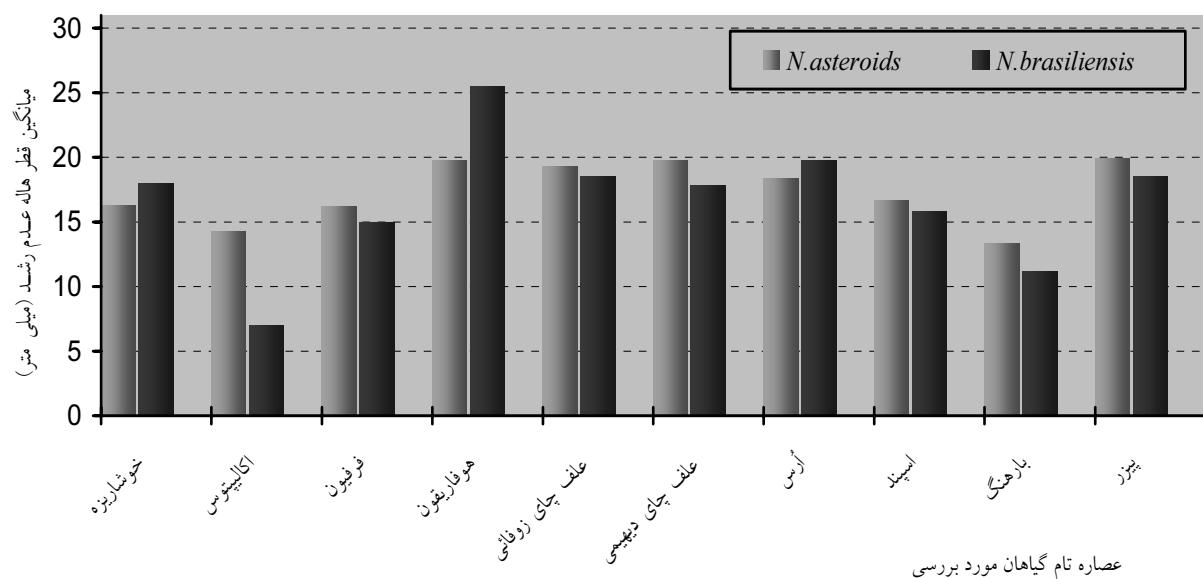
درمان انواع بیماری‌ها مورد توجه مردم بوده و در سال‌های اخیر روند رو به رشدی پیدا کرده است [۲۶]. از طرفی گیاهان دارویی علاوه بر مصارف درمانی، به عنوان طعم‌دهنده و معطرکننده و تقویت‌کننده نیز مصرف سنتی دارد [۴۱، ۴۸]. در تجربه حاضر اثرات ضدباکتریایی و فیتوشیمیایی عصاره تمام ده (۱۰) گونه از گیاهان سنتی ایران بر چند سویه از نوکاردیاهای بیماری‌زا با استفاده از روش‌های انتشار در ژلوز مورد بررسی

عصاره تمام گیاهان دارویی (با غلظت ۱۰ درصد) بر دو سوش بیماری‌زای نوکاردیا بروش چاهک پلیت در نمودار شماره ۱ و مقایسه مشابه به روش دیسک پلیت در نمودار شماره ۲ نشان داده شده است.

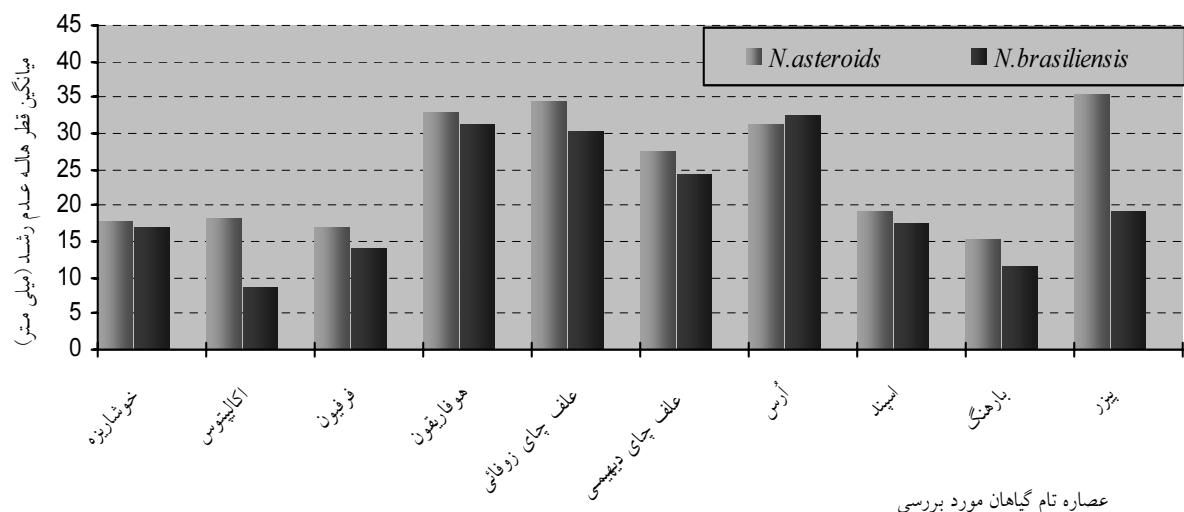
بحث

استفاده از گیاهان دارویی به لحاظ پایین بودن عوارض جانبی آن نسبت به داروهای شیمیایی از گذشته‌های دور برای





نمودار شماره ۱ - مقایسه مهار رشد نوکاردیا استروئیدس و نوکاردیا برازیلینسیس به وسیله عصاره متانلی ۱۰ گیاه دارویی به روش چاهک پلیت (غلظت ۱۰ درصد)



نمودار شماره ۲ - مقایسه مهار رشد نوکاردیا استروئیدس و نوکاردیا برازیلینسیس به وسیله عصاره متانلی ۱۰ گیاه دارویی به روش دیسک پلیت (غلظت ۱۰ درصد)

تجربه و نتایج حاصل از آن برای تجربیات مراحل بعد یک بررسی غربالگری به حساب می‌آید. در ادامه بررسی، از دو روش چاهک و دیسک پلیت به عنوان بررسی‌های کمی بهره‌گیری شد.

خواص ارزیزه: نتایج به دست آمده از آزمایش فیتوشیمیابی عصاره تام خواص ارزیزه وجود مقدار کمی ساپونین و مقادیر

قرار گرفت. نتایج به دست آمده از روش قطره پلیت که یک روش کیفی قابل قبول است، اشرات مهارکنندگی عصاره تام گیاهان موردنظر بر باکتری‌ها را نشان داد، به طوری که در تکرارهای بعدی و استفاده از روش‌های دیگر بسیار راه‌گشا بود. اگر چه روش کیفی قطره پلیت در این مطالعه یک بررسی کیفی اثر ضد میکروبی عصاره تام گیاهان دارویی بود، لیکن این



سوش‌های بیماری‌زای نوکاردیا نشان می‌دهد (جدول شماره ۱) که با شماره‌های ۲ و ۳ که اگر چه باکتری‌های به کار گرفته شده در بررسی ما با سایر مطالعات تفاوت دارد لیکن اثر مهارکنندگی عصاره تام علف چای بر آنها مشابه مطالعات فوق‌الذکر می‌باشد. به نظر می‌رسد بین وجود فلاونوئید در عصاره تام گونه‌های علف چای موردنی مطالعه (جدول شماره ۱) و اثرات ضدمیکروبی این گیاهان ارتباط وجود داشته باشد. این مطلب در گزارش‌های متعددی آمده که اثرات ضدباکتریایی فلاونوئیدهای حاصل از علف چای بزریلی بر باسیلوس سوبتیلیس و دیگر باکتری‌های گرم مثبت مورد بررسی قرار گرفته است که ارتباط آن به اثبات رسیده است [۷۶، ۷۷]. در مطالعاتی که بر روی گونه‌های مختلف علف چای انجام شد، عصاره متنالی آنها که شامل تاتن، فلاونوئید و اسید فنولیک بود دارای آثار ضد باکتریایی مشخصی بر استافیلوکوکوس اورئوس [۷۸، ۷۹] و باسیلوس سوبتیلین و هلیکوباکتر پیلوری بودند [۷۸، ۷۹]. ترکیبات مختلفی از این گونه گزارش شده که فعالیت‌های بیولوژیکی خاصی را به آن نسبت می‌دهند مانند هایپریسین، سودوهایپریسین، فلاونوئیدهای مختلف مانند کوئرستین، هایپرین، فلورگلوسینول و اسانس، که اثرات مختلف ضدافسردگی، ضدمیکروبی، آنتی‌اکسیدان و فعالیت ضدالتهابی از آنها گزارش شده است [۴۶، ۸۰]. مطالعه بر روی آثار ضدباکتریایی علف چای به سال‌های دور بر می‌گردد. در سال ۱۹۵۴ دو دانشمند هندی به اثرات ضدمیکروبی این گیاه در گزارشی علمی اشاره کردند [۸۱]. این گیاه دارای اثرات فارماکولوژیکی متعددی از جمله اثرات ضددرد، ضدافسردگی و ضدالتهاب، ضدتومور، ضدفراموشی، ضداضطراب، ضدزخم معده و ضداسیدانت است و در طب سنتی مصارف زیادی روی آن انجام داشته است و بر این اساس نیز مطالعات زیادی روی آن انجام شده است [۴۴، ۴۶، ۸۲-۸۴]. به علاوه مطالعات بسیاری نیز درخصوص اثرات ضدمیکروبی عصاره گونه‌های مختلف علف چای در داخل و خارج از کشور انجام شده است [۷۷، ۷۹، ۸۱، ۸۵]. در مطالعات انجام شده در کشورمان بیشتر به بررسی اثرات ضدافسردگی، ضدالتهابی، ضدسردرد و میگرنی [۸۶، ۸۷]، ضدتشنجی [۸۸] علف چای پرداخته شده است [۴۶]. در پاره‌ای از بررسی‌ها در دنیا آثار ضدویروسی به

بیشتری فلاونوئید را نشان می‌دهد (جدول شماره ۱)، که با تاثیر مهارکنندگی عصاره تام گیاه بر باکتری‌های مورد مطالعه هماهنگ است و نشان از توان ضدباکتریایی خوشاریزه دارد (جدول شماره‌های ۲ و ۳). اگر چه خوشاریزه به صورت سنتی به عنوان چاشنی غذایی و برای معطر کردن ماست و پنیر مورد استفاده قرار می‌گرفته است، لیکن اثرات ضدمیکروبی آن در مطالعات محدودی که انجام شده گزارش شده است [۶۸]. در مورد اثرات ضدمیکروبی خوشاریزه تحقیقاتی بر روی گونه دیگر خوشاریزه به نام *Echinophora tenuifolia* انجام شده که نشان می‌دهد انسان این گونه نیز فعالیت ضدباکتریایی دارد [۶۹]. در مورد اثرات ضدقارچی خوشاریزه، تحقیقاتی از جمله بررسی اثر ضدقارچی عصاره تام گیاه خوشاریزه روی تعدادی از درماتوفیت‌های شایع در ایران نیز انجام گرفته است [۳۸].

اکالیپتوس: اگر چه به علت دارا بودن انسان قابل استخراج به عنوان گونه دارویی مطرح می‌باشد و بخور انسان برگ‌های آن در رفع سرماخوردگی و دورکنندگی حشرات مصرف دارد [۴۱] لیکن اثرات مهارکنندگی قابل توجهی در مطالعه مانشان نداد (جدول شماره‌های ۲ و ۳). اما آثار ضدمیکروبی اکالیپتوس طی مطالعات متعددی گزارش شده که از آن جمله به اثر ممانعت‌کنندگی عصاره اتانولی گیاه اکالیپتوس بر سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم و حساس به متی‌سیلین [۷۰]، اثر ضدقارچی عصاره تام اکالیپتوس بر سوش استاندارد کاندیدا آلبیکانس [۷۱] و مطالعه مشابه در استرالیا [۷۲] می‌توان اشاره کرد.

فرفیون: به عنوان گیاه مهم و گل دار دارویی با گونه‌های متعدد در ایران مطرح می‌باشد [۴۲]، معاذلک اثرات مهارکنندگی قابل توجهی در مطالعه مانشان نداد (جدول شماره‌های ۲ و ۳). از طرفی مطالعات غربالی انجام شده بر گونه‌های مختلف فرفیون حاکی از اثرات درمانی سودمند برای درمان بیماری‌های مختلف نظیر سرطان، روماتیسم، آسم، عفونت‌های باکتریایی و دردهای عصبی و علیه تک یاخته‌های خونی است [۷۳ - ۷۵].

علف چای: نتایج بررسی ضدباکتریایی در مطالعه پیش رو تاثیر قابل توجه عصاره متنالی گونه‌های علف چای را بر



خصوصیت‌هایی بررسی شده‌اند که مطالعه پیش رو تاثیر قابل توجه عصاره متنالی اُرس بر سوش‌های بیماری‌زای نوکاردیا نشان می‌دهد (جدول شماره ۲ و ۳) اگرچه بررسی فیتوشیمیایی انجام شده روی اُرس هیچ فلاونوئیدی نشان نداد، ولی وجود ساپونین و مقدار کمی تانن می‌توانند خواص ضدبacterیایی آنرا توجیه کند (جدول شماره ۱). نکته قابل توجه این است که مطالعات انجام شده روی عصاره این گیاه همگی روی باکتری‌های گرم مثبت و عمدهاً خانواده مايكوبacterیاسیه بوده است که باکتری‌های مورد بررسی در مطالعه حاضر از این راسته می‌باشند. بنابراین نتایج مطالعات فوق الذکر به نوعی بر نتایج به دست آمده صحّه می‌گذارند.

اسپنده: به عنوان یک دانه گیاهی ضدغذنی کننده مصرف عمومی دارد و در طب سنتی ایران از پودر دانه‌های اسپنده در درمان تومورهای جلدی و زیرجلدی استفاده می‌شده است [۴۸]. در مطالعه حاضر نتایج نسبتاً خوب عصاره اسپنده بر نوکاردیاها در (جدول شماره‌های ۲ و ۳) نشان داده شده است. از طرفی وجود مقدار نسبتاً زیاد آکالولوئید موجود در عصاره اسپنده رابطه این ماده را با اثرات ضدمیکروبی آن آشکار می‌کند (جدول شماره ۱). در بررسی‌های متعدد در دنیا آثار ضدمیکروبی و ضدویروسی اسپنده بر میکروارگانیزم‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفته است [۹۷، ۹۸]. ضمن اینکه آکالولوئید فراوانی که در اسپنده وجود دارد توجه محققین را به رابطه تاثیر این ماده با اثرات ضدمیکروبی آن جلب کرده است [۹۹]. در بررسی ما نیز وجود آکالولوئید می‌تواند موجد اثر مهارکننده‌گی نوکاردیاها باشد. در مطالعه‌ای که در داخل کشور انجام شد، مشخص گردید که عصاره ۰/۵، ۱، ۲ و ۴ میلی‌گرم اسپنده اثر ضدبacterیایی نسبتاً خوبی بر سویه‌های استافیلوکوکوس اورنوس مقاوم و حساس به متی‌سیلین داشته است [۷۰].

بارهنگ کبیر: اثر ضدمیکروبی مشخصی را در مطالعه ما نشان نداد (جدول شماره‌های ۲ و ۳).

پیزره: این گیاه اگرچه در دنیا شناخته شده است لیکن مطالعات چندانی درخصوص اثرات ضدمیکروبی آن در منابع

اُرس یا سرو کوهی: به علت مقاومت در برابر خشکی و سرما، بوی نامطبوع آن که باعث فرار مار، عقرب و حشرات گزنه می‌شود و خواص ضدمیکروبی آن بسیار مورد توجه می‌باشد. سرشاخه‌های آن دارای اسانسی به نام سابین است که به شدت محرك پوست و مخاط می‌باشد. مطالعات انجام شده روی اسانس اُرس بر گونه‌های متعددی از قارچ‌های بیماری‌زا خاصیت مهارکننده‌گی آنرا بر این میکروارگانیزم‌ها نشان داد [۹۳]. اُرس در حجاج برای معالجه بیماری سل ریوی و یرقان مصرف سنتی داشته است و عصاره برگ و دانه آن علیه Bacillus subtilis تاثیر قابل توجهی داشته است. Bacillus subtilis Staphylococcus aureus از خواص ضدمیکروبی اُرس می‌توان به تاثیر آن علیه Bacillus subtilis Staphylococcus aureus Staphylococcus durans نیز اشاره کرد [۹۵]. همچنین عصاره الكلی و متنالی اُرس بر باسیل سل استاندارد Mycobacterium tuberculosis H37RV اثر مهارکننده‌گی قابل ملاحظه‌ای را نشان داد [۹۶].

گیاهان دارویی فوق مربوط به وجود مواد موثرهای مانند فلاونوئید، ساپونین، آلکالوئید و تانن در عصاره متانلی گیاهان مورد مطالعه باشد. اگر چه تجربه حاضر در محیط غیرزنده (*in-vitro*) و بر روی محیط‌های کشت جامد انجام شده، لیکن به دلیل نتایج قابل قبول به دست آمده به نظر می‌رسد این یافته‌ها زمینه بسیار مناسبی برای بررسی‌های بیشتر به صورت (*in-vivo*) بر روی حیوانات آزمایشگاهی و همچنین جهت تاثیر ضدبacterیوبی فراکشن‌های این گیاهان بر نوکاردياها باشد.

داخلی یافت نشد و در منابع خارجی بیشتر در زمینه تصفیه طبیعی فاضلاب و فعالیت ضدبacterیوبی این گیاه در زمینه هاب با تلاقي گرارش شده است که نمی‌تواند مبنای مقایسه پایاپایی با مطالعه ما روی نوکارديا باشد [۱۰۰، ۱۰۱]. ولی در مطالعه ما عصاره متانلی این گیاه بر سوش‌های نوکارديا بسیار قابل توجه می‌باشد به طوری که در غلظت ۱۰ درصد قطر هاله عدم رشد بیش از ۲۰ میلی‌متر را نشان داد (جدول شماره‌های ۲ و ۳).

نتیجه‌گیری

با توجه به این نتایج به نظر می‌رسد اثرات ضدباکتریایی

منابع

1. Valenzuela-Tovar JF, Contreras-Perez C, Shibayama-Hernandez H, Chavez-Gonzalez L, Vazquez-Chacon CA, Olivera-Diaz H: Biochemical Identification and Molecular Characterization (PCR-RFLP) of Nocardia Isolates from Sputum. *Archives of Medical Res.* 2005; 36: 356 - 61.
2. Vera-Cabrera L, Gonzalez E, Rendon A, Ocampo-Candiani J, Welsh O, Velazquez-Moreno VM, Hak Choi S, Molina-Torres C: In Vitro Activities of DA-7157 and DA-7218 against Mycobacterium tuberculosis and Nocardia brasiliensis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2006; 50: 3170 - 2.
3. Soto-Hernández JL, Moreno-Andrade T, Góñora-Rivera F, Ramírez-Crescencio MA: Nocardia abscess during treatment of brain toxoplasmosis in a patient with aids, utility of proton MR spectroscopy and diffusion-weighted imaging in diagnosis. *Clinical Neur. and Neurosurgery* 2006; 108: 493 - 8.
4. Jinno S, Jirakulaporn T, Bankowski MJ, Kim W, Wong R: Rare case of Nocardia asteroides pericarditis in a human immunodeficiency virus-infected patient. *J. Clin. Microbiol.* 2007; 45: 2330 - 3.
5. Chow E, Moore T, Deville J, Nielsen K. Nocardia asteroides brain abscesses and meningitis in an immunocompromized 10-year-old child. *Scand J. Infect Dis.* 2005; 37: 511 - 3.
6. Baldi BG, Santana ANC, Takagaki TY: Pulmonary and cutaneous nocardiosis in a patient treated with corticosteroids. *J. Brasileiro de Pneumologia* 2006; 32: 592 - 5.
7. Everett CM, Dhillon H, Samarasinghe D, Berry L, Warwick S, Turner B: A case of cerebral nocardiosis following brief immunosuppression. *European J. of Neur.* 2006; 13: 431 - 2.
8. Ansari SR, Han XY, O'Brien S, Safdar A: Nocardia veterana bloodstream infection in a patient with cancer and a summary of reported cases. *Inter. J. of Infectious Diseases* 2006; 10: 483 - 6.
9. Enomoto M., Yamasawa H, Sawai T, Bando M, Ohno S, Sugiyama Y. Pulmonary nocardiosis with bilateral diffuse granular lung shadows in a patient with subcutaneous panniculitic T-cell lymphoma. *Intern Med.* 2002; 41: 986 - 9.
10. Laurence AD: Cerebral and pulmonary nocardia in a bone marrow transplant patient. *British J. of Haematol.* 2005; 129: 711-2.
11. Ozturk S, Tufan F, Alisir S, Gorcin S, Guven



- D, Cagatay A, Turkmen A: A case of isolated Nocardia asteroides brain abscess in a kidney transplant recipient. *Transplant Proc.* 2006; 38: 3121 - 4.
- 12.** Forbes BAS, Daniel F./ Weissfeld, Alice S./ Brown,: Nocardia, Streptomyces, Rhodococcus, Oerskovia, and Similar Organisms In *Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology*. Edited by Forbes BAS, Daniel F./ Weissfeld, Alice S./ Brown,: Elsevier; 2007, pp: 311 - 22.
- 13.** Kilincer C, Hamamcioglu MK, Simsek O, Hicdonmez T, Aydoslu B, Tansel O, Tiryaki M, Soy M, Tatman-Otkun M, Cobanoglu S. Nocardial brain abscess: Review of clinical management. *J. of Clinical Neuroscience* 2006; 13: 481 - 5.
- 14.** Eshraghi S, Amin M. Pulmonary Nocardiosis associated with Cushing's syndrome. *Pak J. Med. Sci.* 2004; 20: 18 - 23.
- 15.** Conville P. Nocardian and other aerobic actinomycetes. In: Topley and Wilson's *Microbiology and Microbial Infections*, edn 10th. Edited by Borriello SP, Murray PR, Funke G: Hodder Arnold, 2005, vol 2 1137 - 80.
- 16.** Yamamura H, Hayakawa M, Nakagawa Y, Iimura Y. Characterization of Nocardia asteroides Isolates from Different Ecological Habitats on the Basis of Repetitive Exogenous Palindromic-PCR Fingerprinting. *Appl. Environ. Microbiol.* 2004; 70: 3149 - 51.
- 17.** Eshraghi S, Sarrafnejad AF, Roudsari HT: A diagnostic study of Nocardiosis patients being confined in Shareati Training Hospital in Tehran, using cultural & serological methods. *Pak J. Med. Sci.* 2005; 21 (3): 345 - 51.
- 18.** Shaikh MA, Byrd Jr RP, Roy TM: Pulmonary nocardiosis: an unusual cause of a solitary pulmonary nodule. *J. Ky Med. Assoc.* 2006; 104: 184 - 9.
- 19.** Soto-Hernandez JL, Moreno-Andrade T, Gngora-Rivera F, Ramirez-Crescencio MA. Nocardia abscess during treatment of brain toxoplasmosis in a patient with aids, utility of proton MR spectroscopy and diffusion-weighted imaging in diagnosis. *Clinical Neurol. and Neurosurgery* 2006; 108: 493 - 8.
- 20.** Ahmed AAO, van de Sande WWJ, Fahal A, Bakker-Woudenberg I, Verbrugh H, van Belkum A: Management of mycetoma: major challenge in tropical mycoses with limited international recognition. *Current Opinion in Infectious Diseases* 2007; 20: 146 - 7.
- 21.** Perez-Camarero E, Marti J, Idigoras I, Anton E: Pulmonary nocardiosis in non-immunocompromised patient. *Enferm Infect Microbiol. Clin.* 1999; 17: 476 - 7.
- 22.** Sharma M, Gilbert BC, Benz RL, Santoro J: Disseminated Nocardia otitidiscauli infection in a woman with sickle cell anemia and end-stage renal disease. *Am. J. Med. Sci.* 2007; 333: 372 - 5.
- 23.** Salinas-Carmona MC, Perez-Rivera I: Humoral immunity through immunoglobulin M protects mice from an experimental actinomycetoma infection by Nocardia brasiliensis. *Infect Immun* 2004; 72: 5597 - 604.
- 24.** Sorrell TC, Mitchell DH, Iredell JR. Nocardiosis In Principles and practice of infectious diseases. 6th ed. Edited by Mandell GL, Bennett JE, Dolin R: Churchill Livingstone, New York; 2005, vol 2. pp: 2916 - 24.
- 25.** Filice GA. Nocardiosis. In *Harrison's Principles of Internal Medicine* (16th ed.). Edited by D.L.Kasper ASF, D.L. Longo, E. Braunwald, S.L. Hauser, and J. L. Jameson, McGraw- Hill; 2005, 934 - 7.
- 26.** Cowan MM. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiol. Rev.* 1999; 12: 564 - 82.
- 27.** Borris RP. Natural products research: perspectives from a major pharmaceutical company. *J. of Ethnopharmacol.* 1996; 51: 29 - 38.
- 28.** Schultes RE: The kingdom of plants. Medicines from the Earth. McGraw-Hill Book Co. New York, NY 1978: 208 - 9.
- 29.** Clark AM. Natural products as a resource for new drugs. *Pharm. Res.* 1996; 13: 1133 - 44.
- 30.** Amagase H. Clarifying the Real Bioactive Constituents of Garlic 1. Edited by: Am Soc



Nutrition; 2006, vol 136. 716 - 25.

31. Dakhili M ZST, Torabi Goodarzi M. Evaluation of Antimicrobial Effects of 4 Medicinal Plants against *Salmonella typhymurium* and Comparison them with Common Antibiotics in Veterinary Medicine. *Pharmaceutical Biol.* 2006; 5: 21 - 6.

32. Shirazi MH FM, Sultan Dallal MM, Eshraghi S, Jamalifar H, Alamulhoda E. A comparative study on the antimicrobial effect of some medicinal herbal extracts and selective antibiotics against the clinical isolates of *Helicobacter Pylori* *J. of Med. Plants* 2003; 7: 53 - 60.

33. Haghigati F JS, Momen Beitollahi J. Comparison of antimicrobial effects of ten herbal extracts with Chlorhexidine on three different oral pathogens: An in vitro study *Hakim Res. J.* 2003; 3: 71 - 6.

34. Fazeli MR, Amin G, Attari MMA, Ashtiani H, Jamalifar H, Samadi N. Antimicrobial activities of iranian sumac and avishan-e shirazi (*Zataria multiflora*) against some food-borne bacteria. *Food control* 2007; 18: 646 - 9.

35. Friedman M, Henika PR, Levin CE, Mandrell RE, Kozukue N. Antimicrobial Activities of Tea Catechins and Theaflavins and Tea Extracts against *Bacillus cereus*. *J. of Food Protection* 2006; 69: 354 - 61.

36. Asghari Gh.R, Sajadi SE, Sadraei H, Kh Y. Essential oil constituents of *Echinophora Platyloba* DC *J. Res. In Medical Sci.* 2003; 4: 97 - 9.

37. Sadraei H, Asghari Gh.R, Kh Y. Study of the effect of hydro-Alcoholic and essential oil of *Echinophora Platyloba* on rat isolated ileum contractions in vitro *J. Res. In Medical Sci.* 2003; 4: 150 - 5.

38. Avijgan M SM, Nilforoosh Zadeh MA, Hafizi M, K. Ant- fungal effect of *Echinophora Platyloba* extract on some common Dermatophytes. *J. of Medicinal Plants* 2006; 5th year: 10 - 6.

39. Mozaffarian V. A Dictionary of Iranian Plant Names: Latin, English, Persian: Farhang Mo'aser; 1966.

40. Mozaffarian V. The family of Umbelliferae in Iran: keys and distribution. Tehran: Ministry of Agriculture, Research Organization of Agriculture and Natural Resources, Research Institute of Forest and Rangelands 387p.-illus., keys. En (Pe) Icônes. Geog 1983, pp: 2 - 3.

41. Amin Gh. Popular Medicinal plants of Iran. In Medicinal plants of Iran. Edited by Amin G: Vice-chancellorship of Research, TUMS; 2005, pp: 44- 64.

42. Ayatollahi SAM, SAR M: Phytochemical study of *Euphorbia Microsciadia*. *FEYZ, KASHAN UNIVERSITY OF MEDICAL SCIENCES & HEALTH SERVICES* 2004, 29: 51 - 6.

43. Tyler E, Brady R, E. R. *Pharmacognost*, 9th ed. Edited by: Lea and Febiger; 1998, 441 - 2.

44. Trovato A, Raneri E, Kouladis M, Tzakou O, Taviano MF, Galati EM: Anti-inflammatory and analgesic activity of *Hypericum empetrifolium* Willd.(Guttiferae). *Il Farmaco* 2001; 56: 455 - 7.

45. Gambarana C, Ghiglieri O, Tolu P, De Montis MG, Giachetti D, Bombardelli E, Tagliamonte A. Efficacy of an *Hypericum perforatum* (St. John's wort) extract in preventing and reverting a condition of escape deficit in rats. *Neuropsychopharmacology* 1999; 21: 247 - 57.

46. Mukherjee PK, Verpoorte R, Suresh B: Evaluation of in-vivo wound healing activity of *Hypericum patulum* (Family: Hypericaceae) leaf extract on different wound model in rats. *J. of Ethnopharmacol.* 2000; 70: 315 - 21.

47. Salehi Shanjani P, M M: Seasonal variation of the leaf and cone oil of *Juniperus Excelsa* M.B *J. of Medicinal Plants* 2006; 17 (5): 50 - 8.

48. Zargary A. Medicinal plants. 5th Edition, 1801/4, edn 5th Edition: Tehran University Publications, 1993.

49. Krussmann G: Die Nadelgehölze Berlin and Hamburg. Edited by: P. Barey (Ed.); 1960.

50. Kerfoot O, Lavranos JJ. Notes Royal Botanical Garden Edinburg, 1984, pp: 483 - 4.

51. Coode MJE, Cullen J: Flora of Turkey and the



- East Aegean Islands. Edited by Davis PH: Edinburg: University Press; 1965, vol 1. 78 – 84.
- 52.** Baytop A. Trakya florasina yeni ilaveler. *Türk Biologi Dergisi* 1970, 20: 128 - 31.
- 53.** Assadi M. Flora of Iran. Technical Publication of Research Institute of Forests and Rangelands, Iran 1997, pp: 19 - 22.
- 54.** Clevering OA. Germination and seedling emergence of *Scirpus lacustris* L. and *Scirpus maritimus* L. with special reference to the restoration of wetlands. *Aquatic Botany* 1995; 50: 63 - 78.
- 55.** Samsam Shariat H: Detection and extraction of medicinal plants using peculation method. Isfahan: Kafee Press; 1992.
- 56.** Ajali U, Chukwurah BKC: Antimicrobial activity of Securidaca longipedunculata. *Phytomedicine* 2004, 11: 701 - 3.
- 57.** Aynehchi Y, Sormaghi MHS, Amin GH, Ghahreman A: Survey of Iranian Plants for Saponins, Alkaloids, Flavonoids and Tannins. I. *Pharmaceutical Biol.* 1981; 19: 53 - 63.
- 58.** Aynehchi Y, Sormaghi MHS, Amin GH, Soltani A, Qumehr N. Survey of Iranian Plants for Saponins, Alkaloids, Flavonoids and Tannins. II. *Quarterly J. of Crude Drug Res.: Vierteljährliche Zeitschrift Für Drogen-Forschung. Revue Trimestrielle Des Recherches Sur Les Matières Premières* 1981; 20: 61 - 70.
- 59.** Okwu DE, Josiah C. Evaluation of the chemical composition of two Nigerian medicinal plants. *African J. of Biotechnol.* 2006; 5: 357 - 61.
- 60.** Sabahi M, Ramezanian M, Jaffari G, Heravi G, Bahaeddini F, Aynehchi Y. Survey of Iranian Plants for Saponins, Alkaloids, Flavonoids, and Tannins. IV. The Plants of Kerman Province. *Pharmaceutical Biol.* 1985; 23: 165 - 75.
- 61.** Reginatto FH, Gosmann G, Schripsema J, Schenkel EP. Assay of quadranguloside, the major saponin of leaves of *Passiflora alata*, by HPLC-UV. *Phytochemical Analysis* 2004; 15: 195 - 7.
- 62.** Eshraghi S. An evaluation of the potent inhibitory effects of royal jelly fractions against Streptomyces bacteria. *Pakistan J. of Medical Sci.* 2005; 21: 63 - 8.
- 63.** Eshraghi S, Valafar S. Evaluation of inhibitory effects of iranian propolis against filamentous bacteria. *Pak J. Med. Sci.* 2008; 24: 56 - 60.
- 64.** Jorgensen JH, Hindler JF, Reller LB and Weinstein MP. New consensus guidelines from the Clinical and Laboratory Standards Institute for antimicrobial susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria. *Clinical Infectious Diseases*. 2006; 44, 280-286.
- 65.** Kamal F. Microbial quality control of medicinal products, vol 1: Tehran University Press 1993; pp: 2144.
- 66.** Shawar R. Aerobes Gram-Positive Bacilli. In: *Textbook of diagnostic microbiology*, Third Edition. Edited by Mahon CR, Lehman DC, Manuselis G: Saunders; 2007, 425 - 37.
- 67.** Neef H, Declercq P, Laekeman G. Hypoglycaemic activity of selected European plants. *Phytother Res.* 1995; 9: 45 - 8.
- 68.** Nazirizadeh M, Katouli M. Study of Echinophora platyloba: *Antimicrobial activity Pl. Med* 1989; 55: 96 - 7.
- 69.** Arldogan BC, Baydar H, Kaya S, Demirci M, Ozbasar D, Mumcu E. Antimicrobial Activity and Chemical Composition of Some Essential Oils. *Archives of Pharmacal Res.* 2002; 25: 860 - 4.
- 70.** Dadgar T GE, Bazueri M, Asmar M, Mazandarani M, Saifi A, Bayat H. The antibacterial effects of 20 herbal plants on methicillin resistant and sensitive *S. aureus* in Golestan provience. *J. of Gorgan University* 2007; 1: 55 - 62.
- 71.** Atai Z, Ansari M, Mousavi AA, Mirzaei A. In-vitro study of antifungal effects of selected herbal extracts on standard and wild strains of *Candida albicans*. *J. Dentistry, Dentists association* 2005; 2: 91 - 7.
- 72.** Wilkinson JM, Cavanagh HMA. Antibacterial activity of essential oils from Australian native plants. *Phytotherapy Res.* 2005; 19: 643 - 4.



73. Ayatollahi SAM, Ahmed Z, Malik A, Afza N, Badar Y. Cycloclarkeanol, a New Triterpene from *Euphorbia clarkeana*. *J. of Natural Products* 1992; 55: 959 - 62.
74. Jafari MR, Behravan J, Bodagh Abadi A, M R. Evaluation of Leishmanicidal effect of *Euphorbia Myrsinites* extract by in vitro anti-Leishmanial assay using Promastigote of *Leishmania Major* *Iranian J. of Basic Medical Sci.* 2006; 4: 295 - 8.
75. Vijaya K, Ananthan S, Nalini R. Antibacterial effect of theaflavin, polyphenon 60 (*Camellia sinensis*) and *Euphorbia hirta* on *Shigella* spp. a cell culture study. *J. of Ethnopharmacol.* 1995; 49: 115 - 8.
76. Fenner R, Sortino M, Kuze Rates SM, Dall'Agnol R, Ferraz A, Bernardi AP, Albring D, Nr C, von Poser G, Schapoval E. Antifungal activity of some Brazilian *Hypericum* species. *Phytomedicine* 2005; 12: 236 - 40.
77. Rocha L, Marston A, Potterat O, Kaplan MAC, Stoeckli-Evans H, Hostettmann K. Antibacterial phloroglucinols and flavonoids from *Hypericum brasiliense* *Phytochem.* 1995; 40: 1447 - 52.
78. Reichling J, Weseler A, Saller R. A current review of the antimicrobial activity of *Hypericum perforatum* L. *Pharmacopsychiatry Supplement* 2001; 34: 116 - 8.
79. Dall'Agnol R, Ferraz A, Bernardi AP, Albring D, Nr C, Sarmento L, Lamb L, Hass M, von Poser G, Schapoval EES. Antimicrobial activity of some *Hypericum* species. *Phytomedicine* 2003; 10: 511 - 6.
80. Jean D, Pouligon M, Henriot AC. Pharmacological activity of three commercial *Hypericum perforatum* preparations in mice. *Phytotherapy Res.* 2006; 20: 653 - 4.
81. Gaind KN, Ganjoo TN. Antibacterial principle of *Hypericum perforatum*. *L. Indian J. Pharm.* 1959; 21: 172 - 5.
82. Wang W, Hu X, Zhao Z, Liu P, Hu Y, Zhou J, Zhou D, Wang Z, Guo D, Guo H. Antidepressant-like effects of liquiritin and isoliquiritin from *Glycyrrhiza uralensis* in the forced swimming test and tail suspension test in mice. *Progress in Neuropsychopharmacology & Biological Psychiatry* 2008.
83. Cervo L, Rozio M, Ekalle-Soppo C, Guiso G, Morazzoni P, Caccia S. Role of hyperforin in the antidepressant-like activity of *Hypericum perforatum* extracts. *Psychopharmacol.* 2002; 164: 423 - 8.
84. Snow JM. *Hypericum perforatum* L. (Hyperiaceae), PROTOCOL. *J. Bot. Med.* 1996; 2: 16 - 23.
85. Schempp CM, Pelz K, Wittmer A, Schoepf E, Simon JC. Antibacterial activity of hyperforin from St John's wort, against multiresistant *Staphylococcus aureus* and gram-positive bacteria. *Lancet* 1999; 353: 2129 - 10.
86. Mahmoudi M, Morteza-Semnani K, Saeedi M, Javanmardi A. Hypercins content, anti-inflammatory and analgesic activity of Iranian *Hypericum perforatum*. *Pharmacopsychiatry Supplement* 2006.
87. Khandaghi R, Taher Aghdam AA, MF. Assessment of *Hypericum* effects in prophylaxis of Migraine and comparison of it with Amitriptyline and Propranolol in Iman Khomeini Medical Center, Tabriz PHARMACEUTICAL SCIENCES, *J. of Faculty of Pharmacy* 2000; 4: 37 - 44.
88. Hossein Zadeh H, Karimi Gh R, M RZ. Anticonvulsant effects of aqueous and Ethanolic extracts of *Hypericum perforatum* L. in mice; *J. of Medicinal Plants* 2004; 10: 23 - 30.
89. Lavie D, Freeman D, Bock H, Fleischer J, van Kranenburg K, Ittah Y, Mazur Y, Lavie G, Liebesb L, Meruelob D. Hypericin, a potential anti-AIDS drug. Blackwell Science Inc: 1992, pp: 321 - 2.
90. Axarlis S, Mentis A, Demetzos C, Mitaku S, Skaltsounis AL, Marselos M, Malamas M. Antiviral In vitro Activity of *Hypericum perforatum* L. Extract on the Human Cytomegalovirus (HCMV). *Phytotherapy Res.* 1998; 12: 507 - 11.
91. Decosterd LA, Hoffmann E, Kyburz R, Bray D, Hostettmann K. A new phloroglucinol derivative from *Hypericum calycinum* with



- antifungal and in vitro antimarial activity. *Planta Med.* 1991; 57: 548 - 51.
- 92.** Decosterd L, Stoeckli-Evans H, Msomthi JD, Hostettmann K. A New Antifungal Chromene and a Related Di-chromene from *Hypericum revolutum*. *Planta Med.* 1986; 52: 429 - 30.
- 93.** Sokovic MD, Ristic M, Grubisic D. Chemical Composition and Antifungal Activity of the Essential Oil from *Juniperus excelsa* Berries. *Pharmaceutical Biol.* 2004; 42: 328 - 31.
- 94.** Muhammad I, Mossa JS, El-Feraly FS. Antibacterial diterpenes from the leaves and seeds of *Juniperus excelsa* M. Bieb. *Phytotherapy Research.* 1992; 6: 261-2.
- 95.** Tsitsin NV, Kovtunenko VF, Polyakov DK, Khaidarov KM: *Znshch. Rust. Ured. Bolez* 1973; 2.
- 96.** Topcu G, Erenler R, lakmak O, Johansson CB, Lelik C, Chai H-B, Pezzuto JM. Diterpenes from the berries of *Juniperus excelsa*. *Phytochem.* 1999; 50: 1195 - 9.
- 97.** Sokmen A, Jones BM, Erturk M. The in vitro antibacterial activity of Turkish medicinal plants. *J. of Ethnopharmacol.* 1999; 67: 79 - 86.
- 98.** Rashan LJ, Adaaym H, Al-Khazraji AL. In Vitro antiviral activity of the aqueous extracts from the seeds of *Peganum harmala* [J]. *Fitoterapia* 1989; 60: 365 - 7.
- 99.** Al-Shamma A, Mitscher LA. Comprehensive Survey of Indigenous Iraqi Plants for Potential Economic Value. 1. Screening Results of 327 Species for Alkaloids and Antimicrobial Agents. *J. of Natural Products* 1979; 42: 633 - 42.
- 100.** Stottmeister U, Wießner A, Kuschk P, Kappelmeyer U, Kastner M, Bederski O, Müller RA, Moormann H: Effects of plants and microorganisms in constructed wetlands for wastewater treatment. *Biotechnol. Advances* 2003; 22: 93 - 117.
- 101.** Garcia M, Soto F, González JM, Bécares E. A comparison of bacterial removal efficiencies in constructed wetlands and algae-based systems. *Ecological Engineering* 2008; 32: 238 - 43.

