فصل‌نامه‌ی داروهای گیاهی

Journal homepage: www.ojs.iaushk.ac.ir

ترکیبات شیمیایی، خاصیت ضدباکتریایی و فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس گیاه خوشاریزه *Echinophora cinerea* Boiss

مریم پاس [۱]، مرضیه رشیدی پور*[۱]، غلامرضا طالعی [۲]، بهروز دوستی [۱]

۱.دانشگاه آزاد اسلامی، واحد خرم آباد، باشگاه پژوهشگران جوان، خرم آباد، ایران؛

۲. مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی، دانشگاه علوم پزشکی، لرستان، ایران؛

** مسئول مکاتبات: maryampas@yahoo.com* **E-mail:**

شناسه مقاله

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۱/۰۲/۱۶

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۱/۰۳/۲۰

نوع مقاله: پژوهشی

موضوع: فیتوشیمی- بهداشت مواد غذایی

کلید واژگان:

- ✓ *Echinophora cinerea*
- ✓ *خوشاریزه*
- ✓ *اسانس*
- ✓ *ضدباکتریایی*
- ✓ *آنتی اکسیدان*

چکیده

مقدمه و هدف: خوشاریزه با نام علمی *Echinophora cinerea* گیاهی است از خانواده چتریان که ارتفاع آن به ۳۰ تا ۱۰۰ سانتی متر می رسد. اسانس خوشاریزه حاوی ترکیباتی از جمله آلکالوئیدها و فلاونوئیدها و غیره است. یکی از بهترین منابع آنتی اکسیدان های طبیعی، ترکیبات فنلی موجود در اسانس های گیاهی از جمله این گیاه است. هدف بررسی ترکیبات شیمیایی، خاصیت آنتی باکتریال و فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس گیاه خوشاریزه با نام علمی *Echinophora cinerea* است.

روش تحقیق: تهیه اسانس به روش تقطیر با آب و شناسایی ترکیبات شیمیایی اسانس با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی کوپل شده با طیف سنج جرمی (GC-MS) انجام گرفت. ظرفیت آنتی اکسیدانی اسانس با استفاده از روش DPPH ارزیابی و با آنتی اکسیدان استاندارد BHT مقایسه شد. آزمون ضدباکتریایی به روش رقت سازی (محیط کشت براث) و انتشار دیسک انجام گرفت و حداقل غلظت مهار کنندگی MIC و کشندگی MBC باکتریایی اسانس ها پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت مشخص و با گروه آنتی بیوتیک علیه *استافیلوکوکوس اورئوس، لیستریا مونوسیتوژنز، سودوموناس ایروژینوزا، اشرشیاکولی* و MRSA مقایسه گردید.

نتایج و بحث: مهمترین ترکیبات تشکیل دهنده اسانس خوشاریزه α- فلاندرن (۳۲/۰۹٪)، لیمونن (۱۶/۲۸٪)، پارا-سیمن (۱۰/۷۵٪)، α-پینن(۹/۷۹٪)، کارواکرول (۳/۷۹٪)، β-میرسن(۲/۶۵٪) بود. IC_{50} برای اسانس خوشاریزه (mg/ml) ۰/۷۴ تعیین شد در صورتی‌که این پارامتر برای BHT (µg/ml) ۵۰/۶۳ بود. اثر ضد باکتریایی قوی اسانس خوشاریزه بر باکتریهای *استافیلوکوکوس ارئوس* استاندارد مشاهده گردید؛ بطوری‌که در MIC = ۰/۱۶ mg/ml اثر مهار کنندگی و در رقت MBC= ۰/۶۳ mg/ml اثرکشندگی بر این باکتری داشت. این اثر بر استافیلوکک مقاوم MRSA و اشرشیا کلی ضعیف تر بود. *سودوموناس آئروژینوزا* نسبت به این اسانس مقاوم بود.

توصیه کاربردی/صنعتی: با توجه به خاصیت ضدباکتریایی و آنتی اکسیدان اسانس این گیاه می توان از آن در صنایع غذایی، دارویی، آرایشی- بهداشتی و همچنین معطر سازی و طعم دهی مواد غذایی استفاده نمود.

۱. مقدمه

جنس خوشاریزه *Echinophora* در ایران ۴ گونه گیاه علفی چند ساله معطر دارد. دو گونه آن *cinerea* و *platyloba* انحصاری ایران هستند و دو گونه دیگر به نام های *sibthorpiana* و *orientalis* علاوه بر ایران در آناتولی، ارمنستان، روسیه، ترکمنستان، افغانستان، شبه جزیره بالکان، کرت، قبرس و سوریه نیز می رویند (مظفریان، ۱۳۷۵). *Echinophora cinerea* گیاهی است علفی، یک‌ساله، معطر از تیره چتریان (Apiaceae) به ارتفاع حدود ۳۰ تا ۱۰۰ سانتی متر، ساقه آن استوانه ای بی کرک، برگ‌ها سوزنی شکل متناوب، گل‌ها ریز و زرد رنگ با گل آذین چتری، ریشه آن مخروطی راست و میوه اش فندقه حاوی دانه های ریز

است. در ارتفاعات بالاتر از ۱۵۰۰ متری لرستان به ویژه اشتران‌کوه، کوه کلا، گرین کوه و سفید کوه به وفور یافت می شود. قسمت های مورد استفاده این گیاه اندام هوایی آن است (شفیع زاده، ۱۳۸۱). خوشاریزه با نام محلی فیاله به عنوان چاشنی در صنایع غذایی استفاده می شده است (شفیع زاده، ۱۳۸۱). این گیاه مقوی معده، مدر و ضد سرطان است (شفیع زاده، ۱۳۸۱ ؛ Hashemi *et al*., 2009). اثرات ضد قارچی عصاره این گیاه روی قارچ هایی از جمله *تریکوفایتون روبروم*، *میکروسپوریوم ژیپسئوم*، *تریکوفایتون منتاگروفساتیس*، *اپیدرموفیتون فلوکسوزوم*، *میکروسپوریوم کنیس* و *کاندیدا آلبیکنز* به اثبات رسیده است (Avijgan *et al*., 2010 ؛ Avijgan *et al*., 2006 ؛ محبوبی و هم‌کاران، ۱۳۸۷؛ آویژگان و هم‌کاران، ۱۳۸۴). در اسانس استخراج شده به روش تقطیر با آب پارا-سیمن (۳۴/۴۳٪)، α-فلاندرن (۲۱/۸۸٪)، α-پینن (۳/۳۱٪) و در روش HD-SME (Headspace solvent micro-extraction)، α- فلاندرن (۴۰/۶۴٪)، β-Z- اوسیمن (۱۷/۲۸٪)، پارا-سیمن (۱۲/۸۴٪) و α-پینن (۵/۱۸٪) (Hashemi *et al*., 2009). هم‌چنین ترکیب های فرار اندام‌های هوایی *Echinophora cinerea* در ایران مطالعه شده است که ۲۷ ترکیب شناسایی شده که عمده ترین آن‌ها α-فلاندرن (۴۰/۶٪)، α-پینن (۱۶/۵٪)، β-فلاندرن (۹/۸٪)، پارا-سیمن (۷/۵٪)، لینالول (۵/۴٪) و سیترونلول(۴/۸٪) بوده است (Sajjadi *et al*., 2002). در تحقیق دیگری در اسانس سر شاخه گلدار *Echinophora cinerea* از استان فارس ۱۹ ترکیب شناسایی شده که α-فلاندرن (۶۱/۴٪)، β-فلاندرن (۱۰/۷٪)، α-پینن (۹/۶٪) و پارا-سیمن (۶/۱٪) ترکیب های عمده اسانس بودند (Ahmadi *et al*., 2001). اثر ضد نوکاردیایی این گیاه بر روی نوکاردیاهای بیماری‌زای انسان مانند نوکاردیا آستروئیدس و برازیلیانسز قابل ملاحظه گزارش شده است (Eshraghi *et al*., 2009).

۲. مواد و روش ها

۲-۱. روش جمع آوری و شناسایی گیاه

اندام هوایی گیاه در اردیبهشت سال ۱۳۹۰ از اطراف شهرستان خرم آباد، منطقه سفید کوه در استان لرستان جمع آوری و پس از شناسایی به آزمایشگاه منتقل شد.

۲-۲. روش استخراج اسانس

استخراج اسانس در آزمایشگاه به روش تقطیر با آب و با استفاده از دستگاه کلونجر مدل دارونامه بریتانیا BP (British Pharmacopa) انجام شد. اندام هوایی شامل ساقه و برگ گیاه پس از خشک شدن کامل آن در دمای محیط و در سایه، آسیاب شدند. عمل اسانس گیری به مدت ۴ ساعت انجام شد. سپس با استفاده از سولفات سدیم آب‌گیری و تا زمان استفاده در دمای ۴ درجه سانتی گراد در شیشه های تیره نگهداری گردید (Basiri *et al*., 2007).

۲-۳. تجزیه و شناسایی ترکیبات شیمیایی

برای شناسایی ترکیبات شیمیایی اسانس ابتدا از دستگاه GC استفاده شد و سپس برای مطالعات تکمیلی دستگاه کروماتوگرافی گازی کوپل شده با طیف سنج جرمی (GC-MS) مورد استفاده قرار گرفت.

۲-۳-۱. دستگاه GC

از گاز کروماتو گراف با مدل Beifen 3420 capillary gas chromatograph و مشخصات ستون BP-5(5%phenyl: 95% polydimethyl siloxane) fused silica capillary column (30m x 0.25 mm Internal diameter, 0.25 µm film thickness).

استفاده شد. برنامه ریزی حرارتی ستون از ۵۰ درجه سانتی گراد شروع شد و پس از پنج دقیقه توقف در آن دما، دما با سرعت ۶ درجه سانتی گراد در دقیقه افزایش یافت تا به ۲۸۰ درجه سانتی گراد رسید. دتکتور مورد استفاده از نوع FID بوده و از گاز هلیوم با درجه خلوص ۹۹/۹۹۹٪ به عنوان گاز حامل استفاده شده است.

۲-۳-۲. دستگاه GC-MS

جداسازی و اندازه گیری نمونه توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC/MS) TRACE GC متعلق به کمپانی Thermo Quest-Finnigan کوپل شده با طیف سنجی جرمی TRACE MS متعلق به کمپانی Thermo Quest صورت گرفت و جداسازی ترکیبات در ستون موئینه Fused Silica از نوع DBX-5 95% (polydimethylsiloxane) به طول ۶۰ متر با ابعاد داخلی ۰/۲۵ میلی متر و ضخامت فیلم ۰/۲۵ میکرومتر انجام شد.

دمای ستون از ۶۰ درجه سانتی‌گراد تا ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۵ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه افزایش یافت سپس با سرعت ۳۰ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه به دمای ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد رسید و به مدت ۲ دقیقه در آن دما نگاه داشته شد. دمای محل تزریق ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد و دمای دتکتور (ترانسفر لاین) ۲۶۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم گشت. از گاز هلیوم با سرعت ۱/۱ میلی لیتر بر دقیقه با خلوص ۹۹/۹۹۹٪ به عنوان گاز حامل استفاده شد. شرایط طیف سنج دقیقاً مطابق با کروماتوگرافی گازی بود فقط از انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت استفاده گردید. هم‌چنین جهت شناسایی طیف به کمک شاخص های بازداری آنها از تزریق هیدروکربن های نرمال (C_8-C_{20}) تحت شرایط با تزریق نمونه استفاده شد.

۲-۴. روش سنجش خاصیت آنتی اکسیدانی

جهت بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی از رادیکال آزاد ۲ و ۲-دی فنیل ۱و۱-پیکریل هیدرازیل استفاده شد. این ماده یک رادیکال آزاد لیپوفیل است که در ۵۱۷ نانومتر جذب بیشینه دارد. در حین واکنش DPPH با مواد آنتی اکسیدان واکنش داده و مقدار آن کاهش می یابد که با کاهش طول موج ارتباط مستقیم دارد. خنثی شدن رادیکال های آزاد باعث می شود که رنگ محلول از بنفش تیره به زرد تغییر کند (Prasada *et al*., 2009). جذب محلول در طول موج ۵۱۷-۵۱۵ نانومتر میزان رادیکال های آزاد موجود در محیط را نشان می دهد. سینتیک این واکنش به صورت زیر پیش بینی می شود. در کمتر از پنج دقیقه واکنش سریع، در ۳۰-۵ دقیقه واکنش آهسته و در زمانی بیش از ۳۰ دقیقه واکنش رادیکال های آزاد با برخی از فنل ها به سرعت رخ می دهد واکنش رادیکالی با گونه های دیگر با سرعت کمتری اتفاق می افتد که در نتیجه آن کاهش جذب تدریجی که ممکن است پس از چند ساعت به حالت تعادلی برسد مشاهده می شود (Fazel *et al*., 2007).

جهت انجام این آزمایش، ۰/۳ میلی لیتر از غلظت های متفاوت اسانس در لوله های آزمایش ریخته شد و به هر کدام از آنها ۲/۷ میلی لیتر از محلول متانولی DPPH (۶×۱۰^{-۵}M) اضافه گردید. محلول تهیه شده به مدت ۶۰ دقیقه در تاریکی تحت هم زدن مداوم قرار گرفت. سپس با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر UV-VIS با مدل Jenway 6715 جذب محلول ها در ۵۱۷ نانومتر خوانده شد. قدرت خنثی سازی رادیکال (RSA[1]) آزاد DPPH طبق فرمول زیر محاسبه گردید (Ferreiraa *et al*., 2007).

$$RSA(\%) = 100 \times \left(\frac{A_{blank} - A_{sample}}{A_{blank}} \right)$$

۲-۵. روش سنجش خاصیت ضدباکتریایی

باکتری‌های استاندارد از آزمایشگاه مرجع میکروب شناسی (بیمارستان بوعلی تهران) تهیه و در فریزر ذخیره گردیدند. یک کلون از هر سوش در محیط کشت های کشت داده شد و مورد آزمایش‌های شناسایی قرار گرفتند. سوش‌های مورد استفاده عبارت از *استافیلوکک ارئوس* ATCC 25923, *استافیلوکوکوس مقاوم* MRSA ATCC H041940150 ، *سودوموناس ائروژینوزا* ATCC 27853 و *لیستریا مونوسیتوژنز* ATCC 27853، *اشرشیا کولی* ATCC 25922 بودند. تعیین حداقل غلظت مهار کنندگی (MIC) در پلیت ۹۶ خانه استریل و با روش براث میکرودایلوشن انجام شد (احمدی و هم‌کاران، ۱۳۸۸). ابتدا از محیط کشت مولر هینتون براث (مرک، آلمان) ۱۰۰ میکرولیتر داخل ۹۶ چاهک میکروپلیت ریخته شد. سپس به اولین چاهک هر ردیف ۱۰۰ میکرولیتر اسانس اضافه گردید و از خانه دوم به سوم و به همین ترتیب تا خانه نهم رقیق شدند. در ردیف دیگری هم ۱۰۰ میکرولیتر از آنتی بیوتیک-های پنی سیلین، سیپروفلوکساسین، جنتامایسین و ونکومایسن مناسب با حساسیت باکتری مورد آزمایش اضافه شد. در آخر به همه چاهک ها ۱۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون میکربی رقیق شده معادل لوله نیم مک فارلند اضافه گردید. بعد از ۲۴ ساعت انکوبه در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به وسیله پایه پلیت که به همین منظور ساخته شده، کف پلیت زیر نور در آینه مشاهده شد. وجود کدورت که نشان دهنده رشد یا عدم رشد باکتری است را در جدول مخصوص یادداشت کرده طبق تعریف غلظت آخرین (رقیق ترین) چاهکی که هیچ کدورتی در آن ایجاد نشده است معادل MIC قرار داده شده است. خانه کنترل اسانس، محیط کشت و میکروب نیز جداگانه منظور شد.

[1] RSA: Radical scavenging activity

برای تعیین حداقل غلظت کشندگی (MBC) همه چاهک های فاقد کدورت جداگانه بر روی محیط مولرهینتون آگار کشت داده شد. پس از ۲۴ ساعت کمترین غلظتی از اسانس که باکتری در آن رشد نکرده بود به عنوان غلظت کشندگی MBC گزارش شد.

جهت آزمایش انتشار دیسک، باکتری‌ها روی محیط مولر هینتون آگار (مرک، آلمان) کشت داده شدند. دیسک‌های اسانس ۶ میلی‌متری بودند و ۴۰ میکرولیتر اسانس حل شده در بافر سالین از قبل روی آن‌ها قرارگرفته بود. دیسک‌های آنتی بیوتیک روی کشت-ها قرار داده شد پس از ۲۴ ساعت انکوبه در ۳۷ درجه سانتی گراد قطر هاله عدم رشد از پشت پلیت با خط کش اندازه گیری شد و نتایج حاصل از آنتی بیوتیک‌ها را با جدول استاندارد NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) مقایسه شد. دیسک های ۱۰ میکروگرم پنی سیلین و جنتامیسین، ۳۰ میکروگرم ونکومایسن و ۵ میکروگرم سیپروفلوکساسین به عنوان شاهد مثبت بسته به گونه باکتری به کار برده شدند. آزمایشات سه بار تکرار شده و نتایج به صورت متوسط آنها ارائه گردیده است.

۳. نتایج و بحث

۳-۱. استخراج اسانس و شناسایی ترکیبات

گیاه خوشاریزه با نام علمی *Echinophora cinerea* Boiss گیاهی است معطر متعلق به خانواده چتریان، که بیشتر در مناطق مدیترانه رویش دارد و با نام های خوشاروز، تیغ توراغ، کشندر (Sajjadi *et al*., 2002) و همچنین فیاله شناخته شده و به عنوان چاشنی مورد استفاده قرار می گیرد (شفیع زاده، ۱۳۸۱). اسانس گیاه خوشاریزه مایعی است بی رنگ متمایل به زرد کم‌رنگ که حاوی ترکیباتی از جمله آلفا- فلاندرن (۳۲/۰۹)، لیمونن (۱۶/۲۸٪)، پاراسیمن (۱۰/۷۵٪)، آلفا-پینن (۹/۷۹٪)، کارواکرول (۳/۷۹٪)، بتا-میرسن (۲/۶۵٪) است. در این مطالعه اسانس خوشاریزه با راندمان ۱/۳۹±۰/۱۳ درصد استخراج شد. پس از مطالعه طیف های جرمی ترکیب های تشکیل دهنده آن شناسایی گردید. نتایج حاصل از تجزیه اسانس در جدول ۱ و شکل‌های ۱ و ۲ مربوط به آن مشاهده می شود. ترکیبات اصلی شناسایی شده در این اسانس شامل α-فلاندرن (۳۲/۰۹)، لیمونن (۱۶/۲۸٪)، پارا-سیمن (۱۰/۷۵٪)، α-پینن (۹/۷۹٪)، کارواکرول (۳/۷۹٪)، β-میرسن (۲/۶۵٪) بودند. نتیجه تحقیق حاضر با نتایج هاشمی و هم‌کاران (Hashemi *et al*., 2009) که تجزیه فیتوشیمیایی اسانس به روش HD و HD-SME را انجام داده بودند تا حدودی هم خوانی دارد. با توجه به تحقیقات انجام شده مشاهده می شود که آلفا فلاندرن یکی از ترکیبات عمده در اسانس گیاه خوشاریزه است ولی مقدار آن در گزارش ها متفات است که این تنوع ممکن است مربوط به زمان برداشت گیاه، رویشگاه متفاوت و شریط اقلیمی منطقه برداشت آن باشد.

۳-۲. خاصیت آنتی اکسیدانی

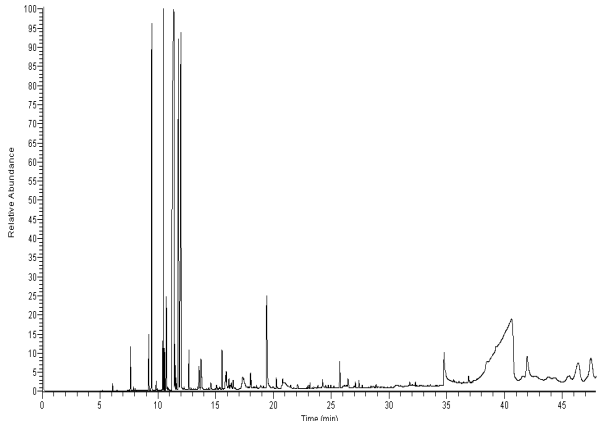
داده های حاصل نشان می دهند که IC_{50} برای اسانس گیاه خوشاریزه (mg/ml) ۰/۷۴ تعیین شد، در حالی که این پارامتر برای BHT (µg/ml) ۵۰/۶۳ بود. (جدول ۲). بر اساس مطالعات ما در زمینه خاصیت آنتی اکسیدانی این گونه خوشاریزه گزارشی منتشر نشده است.

جدول ۱: ترکیب‌های موجود در اسانس اندام هوایی خوشاریزه با نام علمی *Echinophora cinerea* Boiss

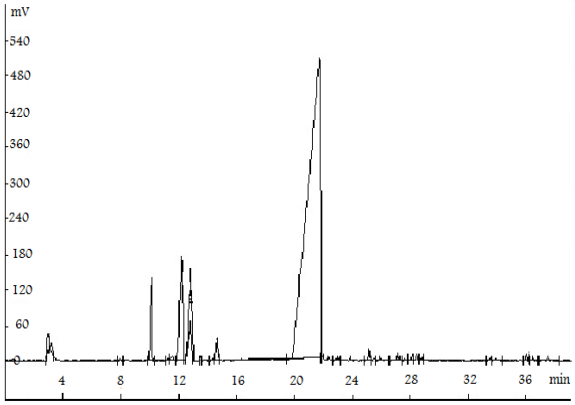
No.	Compound [a]	RT(min)	RI [b]	GC area (%)
1	Trimethyl cyclopentadiene	7.62	856	0.۷
2	M-xylene	7.89	870	0.06
3	α-thujene	9.22	938	0.99
4	α-pinene	9.47	939	9.79
5	Camphene	9.86	955	0.15
6	Sabinene	10.41	977	0.94
7	β-pinene	10.58	984	0.8
8	β-Myrcene	10.73	990	2.65
9	dehydro-1,8-cineole	10.84	994	0.04
10	α-phellandrene	11.38	1016	32.09
12	α-Terpinene	11.57	1021	0.18
13	*p*-Cymene	11.79	1029	10.75
14	Limonene	12.01	1037	16.28
15	γ-Terpinene	12.69	1061	0.73
16	α-Terpinolene	13.55	1092	0.41
17	Fenchone	13.59	1094	0.27
18	Linalool	13.74	1099	0.91
19	6-camphenone	13.78	1101	0.25
20	*p*-menth-2-en-1-ol	14.58	1130	0.23
21	α-terpineol	15.08	1146	0.13
22	Safranal	15.85	1174	0.41
23	4-terpineol	16.15	1184	0.23
24	Cryptone	16.36	1192	0.09
25	α-phellandrene epoxide	17.34	1227	0.92
26	Linalyl acetate	18.08	1253	0.19
27	Carvacrol	19.42	1301	3.79
28	α-Terpinyl acetate	20.8	1351	0.39
29	*E*-jasmone	22.11	1402	0.13
30	*Z*- caryophyllene	22.99	1437	0.05
31	γ-Elemene	23.16	1444	0.11
32	γ-Curcumene	24.25	1487	0.15
33	Germacrene-D	24.52	1498	0.05
34	Kessane	25.74	1548	0.54
35	Germacrene-B	26.45	1577	0.21
36	Caryophyllene oxide	27.08	1604	0.1
37	Carotol	27.4	1618	0.15
38	Dodecalactone	28.89	1683	0.05
39	Hexadecanal	31.8	1814	0.08
40	Neophytadiene	32.3	1838	0.06
41	Palmitic acid	34.77	1959	1.76

[a] Compounds listed in order of elution from HP-5MS column.

[b] RI: Relative retention indices to C_8-C_{24} *n*-alkanes on HP-5MS column.



شکل۱: کروماتوگرام GC-MS اسانس *Echinophora cinerea*



شکل۲: کروماتوگرام GC اسانس *Echinophora cinerea*

جدول ۲: نتایج ظرفیت آنتی اکسیدانی اسانس خوشاریزه با استفاده از روش DPPH

Echinophora cinerea	غلظت	RSA (%)	IC_{50}
Essential oil (µg/ml)	۲	۰/۰۱±۸۶/۳۰	۷۴۰
	۱	۰/۰۳± ۶۵/۰۱	
	۰/۵	۰/۰۹± ۴۶/۱۰	
	۰/۲۵	۰/۰۵± ۴۴/۳۴	
	۰/۱۲۵	۰/۰۸± ۲۳/۳۰	
	۰/۰۶۲۵	۰/۱۲± ۱۷/۴۹	
BHT (µg/ml)	۱۰۰	۱/۰۵± ۲۴/۳۴	۵۰/۶۳
	۸۰	۱/۵۵± ۲۸/۴۶	
	۶۰	۲/۰۵± ۴۷/۵۰	
	۴۰	۱/۹۷± ۵۲/۰۵	
	۲۰	۱/۸۷± ۷۴/۲۱	
	۱۰	۱/۸۹± ۷۷/۴۶	

۳-۳. خاصیت ضد باکتریایی

در مطالعه حاضر اثر اسانس بر تعدادی از باکتری‌های گرم مثبت و منفی به دو روش براث میکرو دایلوشن و انتشار دیسک مورد آزمایش قرار گرفته است که حساسیت و مقاومت متفاوتی از باکتری‌های مختلف مشاهده گردید (جدول ۳ و۴). نتایج هر دو روش با هم همخوانی داشتند؛ بطوری‌که هر دو روش *استافیلوکک ارئوس* را حساس و *سودوموناس آئروژینوزا* را مقاوم نشان دادند (جدول۳ و ۴). اسانس خوشاریزه بر *استافیلوکک ارئوس* استاندارد اثر قابل ملاحظه مهار رشد و کشندگی از خود نشان داد؛ بطوری‌که در رقت ۰/۱۶ mg/ml =MIC اثر مهار کنندگی و در رقت mg/ml ۰/۶۳=MBC اثر کشندگی داشت (جدول ۳). این اثر بر استافیلوکک مقاوم MRSA ضعیف تر ولی همچنان موثر بود (جدول 3). اثر ضد *استافیلوکک ارئوس* این اسانس با روش انتشار دیسک هم مشاهده گردید؛ به صورتی که قطر قابل ملاحظه هاله عدم رشد در کشت این باکتری با دیسک حاوی اسانس مشاهده گردید (جدول ۴). اثر اسانس بر استافیلوکک مقاوم و بر *سودوموناس ائروژینوزا* تا حدودی مقاوم بود MIC =۸۷ mg/ml و ۱۷۵mg/ml =MBC (جدول ۳ و ۴). اثرات ضد باکتریایی این گیاه را می توان به موادی چون کارواکرول، لینالول، پاراسیمن، آلفا-پینن و گاما ترپینن مرتبط دانست. مطالعات متعدد آویژگان اثرات قوی ضد قارچی این گیاه را نشان داده است (Avijgan *et al*., 2006 و Avijgan *et al*., 2010) اما اثرات ضد باکتریایی آن با عصاره اتانولی گیاه و فقط بر استافیلوکوکوس و استرپتوکوکوس آزمایش شده است (Avijgan *et al*., 2010).

جدول ۳: میانگین غلظت MBC وMIC اسانس خوشاریزه (میلی گرم در میلی لیتر) بر ۵ باکتری مورد بررسی

اسانس	*استافیلوکوکوس ارئوس* ATCC: 25923		*استافیلوکوکوس مقاوم* MRSA ATCC: H041940150		*لیستریا مونوسایتوزنز* ATCC: 27853		*سودوموناس آئروژینوزا* ATCC :27853		*اشرشیا کلی* ATCC.25922	
	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC
Echinophora cinerea	۰/۶۳	۰/ ۱۶	۱۱	۲/۷	۴۴	۲۲	۱۷۵	۸۷	۱۱	۵/۵
* شاهد آنتی بیوتیک	۰/۰۶	۰/۰۰۶	۱/۲۵	۰/۳۷۵	۱/۲	۲/۵	۰/۰۰۵	۰/۰۲۵	۰/۵	۰/۵

*شاهد آنتی بیوتیک پنی سیلین، ونکومایسین، سیپروفلوکساسین و جنتامایسین

جدول ۴: میانگین قطر هاله عدم رشد باکتریهای مورد آزمایش در مقابل اسانس گیاه خوشاریزه (بر حسب میلی متر)

اسانس	*استافیلوکوکوس ارئوس* ATCC: 25923	*استافیلوکوکوس مقاوم* MRSA ATCC: H041940150	*لیستریا مونوسایتوزنز* ATCC: 27853	*سودوموناس آئروژینوزا* ATCC :27853	*اشرشیا کلی* ATCC.25922
*Echinophora cinerea**	۳۰>	۸	۳۰>	۶/۵>	۱۹
**شاهد	۱۹	۱۸	۲۴	۲۴	۲۹

*قطر دیسک نمونه ۶/۵ و دیسک آنتی بیوتیک ۵ میلی‌متر بود. قطر هاله عدم رشد بیشتر از ۳۰ میلی‌متر به علت تداخل اندازه گیری نگردید.

**شاهد آنتی بیوتیک برای *استافیلوکوکوس ارئوس* از دیسک پنی سیلین ۵۰ µg ، استاف مقاوم ونکومایسین ۳۰ µg ، لیستریا منوسیتوژنز و اشرشیا کلی سیپروفلوکساسین ۵ µg و برای سودوموناس ائروژینوزا جنتامایسین دیسک ۱۰ µg استفاده شد.

۴. نتیجه گیری

نتایج تجزیه فیتوشیمیایی اسانس گیاه خوشایزه با نام علمی *Echinophora cinerea* Boiss نشان داد که مهمترین ترکیبات تشکیل دهنده اسانس آن α- فلاندرن (۳۲/۰۹٪)، لیمونن (۱۶/۲۸٪)، پارا-سیمن (۱۰/۷۵٪)، α-پینن(۹/۷۹٪)، کارواکرول (۳/۷۹٪)، β-میرسن(۲/۶۵٪) بود. هم‌چنین نتایج نشان می دهد که گیاه خوشاریزه دارای خاصیت ضدباکتریایی و آنتی اکسیدانی قابل ملاحظه ای است. اسانس این گیاه بر علیه باکتری مهم پاتوژن انسانی و از عوامل مهم عفونت بیمارستانی موثراست و می توان در میکرب کش های گیاهی در آینده از آن استفاده نمود. هم‌چنین می توان امیدوار بود که در صنایع داروسازی، غذایی، آرایشی و بهداشتی نیز مورد استفاده قرار گیرد.

سپاس‌گزاری

بدین‌وسیله از باشگاه پژوهشگران جوان واحد خرم آباد، معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد خرم آباد و شرکت داروسازی خرمان و مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی، جناب آقای دکتر روح اله حیدری تقدیر و تشکر به‌عمل می آید.

۵. منابع

احمدی، ش.، باباخانلو، پ. وکریمی فر، م. ۱۳۸۸. گیاهان دارویی لرستان. *مجله یافته*، ۱۱: ۸۶.

آویژگان، م.، سعادت، م.، نیلفروش زاده، م. و حفیظی، م. ۱۳۸۴. اثر ضد قارچی گیاه خوشاریزه بر تعدادی از درماتوفیت های شایع. *فصلنامه گیاهان دارویی*، ۵: ۱۰-۱۶.

شفیع زاده ،ف. ۱۳۸۱. *گیاهان دارویی لرستان*. انتشارات حیان. صفحه ۱۴۲.

محبوبی، م.، آویژگان، م.، دارابی، م. و کسائیان، ن. ۱۳۸۷. بررسی اثر ضد کاندیدیایی گیاه خوشاریزه بر مخمر *کاندیدا آلبیکنس* در مقایسه با آمفوتریسین. *فصلنامه گیاهان دارویی*. ۳۶: ۳۰-۴۳.

مظفریان، و. ۱۳۷۵. *فرهنگ نام های گیاهان ایران*، انتشارات فرهنگ معاصر.

Ahmadi, L., Mirza, M. and Khorram, M.T. 2001. Essential oil of *Echinophora cinerea* (Boiss)

copper formulations. *Food Chemistry*, 103 (1): 188-195.

Hashemi, P., Abolghasemi, M. M., Ghiasvand, A. R., Ahmadi, S., Hassanvand, H. and Yarahmadi, A. 2009. A comparative study of hydrodistillation and hydrodistillation–solvent microextraction methods for identification of volatile components of *Echinophora cinerea*. *Chromatographia*, 69: 179-182.

Prasada, K. N., Haoa, J., Shib, J., Liua, T., Lia, J., Weia, X. *et al*. 2009. Antioxidant and anticancer activities of high pressure-assisted extract of longan (*Dimocarpus longan* Lour.) fruit pericarp. *In novative Food Science & Emerging Technologies,* 10 (4): 413-419.

Sajjadi, S.E. and Ghannadi, A. 2002. Composition of the essential oil of *Echinophora cinerea* (Boiss) Hedge et Lamond. *Journal of Essential Oil Research*, 14: 114-115.

Hedge and Lamond Iran. *Journal of Essential Oil Research*, 13: 82-83.

Avijgan, M., Hafizi, M., Saadat, M. and Nilforoushzadeh, M. A. 2006. Antifungal Effect of *Echinophora platyloba'*s Extract against *Candida albicans*, *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 4: 285-289.

Avijgan, M., Mahboubi, M., Darabi, M., Saadat, M., Sarikhani, S. and Kassaiyan, N. 2010 . Overview on *Echinophora platyloba*, a synergistic antifungal. *Journal of Yeast and Fungal Research*, 1(5): 88-94.

Basiri, S., Esmaily, H., Vosough-Ghanbari, S., Mohammadirad, A., Yasa, N. and Abdollahi, M. 2007. Improvement by *Satureja khuzestanica* essential oil of malathion-induced red blood cells acetylcholinesterase inhibition and altered hepatic mitochondrial glycogen phosphorylase and phosphoenol-pyruvate carboxykinase activities. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 89 (124): 124-129.

Eshraghi, S., Amin, G. and Attari, A. 2009 . Study of antibacterial activity of 10 species of plants on pathogenic Nocardia. *Journal of Medicinal Plants,* 32(4): 60-73.

Fazel, M., Omidbeygi, M., Barzegar, M. and Naghdi Badi, H. 2007. Influence of heating on antiradical activity of essential oils of thyme, summer savory and clove by 2, 2- diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH•) method. *Journal of Medicinal Plants*, 6(22): 43-54.

Ferreiraa, I., Barrosa, L., Soaresb, M. E, Bastosb, M. L. and Alberto Pereira, J. 2007. Antioxidant activity and phenolic contents of *Olea europaea* L. leaves sprayed with different