

مقایسه اثر ضد میکروبی اسانس گیاه پنج انگشت با آنتی بیوتیک های رایج در شرایط In vitro

حمیده آفرین^{۱*}، محمد دخیلی^۲، محمدرضا ذوالفقاری^۳

چکیده

زمینه و هدف: از قرن ها پیش، گیاه پنج انگشت (*Vitex agnus - castus*) به عنوان یک گیاه دارویی شناخته شده است. پنج انگشت یک گیاه فیتواستروژن بومی خاورمیانه و جنوب اروپا بوده که در بسیاری از کشورها مصرف پزشکی دارد. این مطالعه با هدف تعیین اثرات ضد میکروبی اسانس پنج انگشت روی باکتری های *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشرشیاکلی*، *سودوموناس آئروژینوزا*، *قارچ کاندیدا آلبیکنس* و مقایسه با آنتی بیوتیک های آمپی سیلین، جنتامایسین و نیستاتین انجام شد.

روش بررسی: اسانس این گیاه به روش تقطیر با آب به وسیله دستگاه کلونجر تهیه شد، سپس با استفاده از دستگاه گاز کروماتوگرافی/طیف سنج جرمی (GC/MS) آنالیز گردید. برای ارزیابی اثر ضد میکروبی نیز از روش های ماکرودایلوشن و دیسک دیفیوژن استفاده شد. مقایسه داده ها با استفاده از آزمون واریانس یک طرفه و آزمون تی انجام گرفت.

یافته ها: در این مطالعه، اسانس پنج انگشت به ترتیب در غلظت های ۵۶/۲۵ میکروگرم بر میلی لیتر و ۱۱۲/۵ میکروگرم بر میلی لیتر از رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* و *کاندیدا آلبیکنس* جلوگیری کرد. در روش دیسک دیفیوژن قطر هاله عدم رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* ۹/۳ میلی متر و *کاندیدا آلبیکنس* ۱۰/۳ میلی متر بود. اسانس پنج انگشت در غلظت ۴۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر مانع رشد *سودوموناس آئروژینوزا* و *اشرشیاکلی* شد، ولی با روش دیسک دیفیوژن، هاله عدم رشد برای این دو باکتری مشاهده نشد. ۳۶ ترکیب در این اسانس شناسایی گردید که ایزوترپینولن (۱۹/۴٪)، کاریوفیلین (۱۸/۵۳٪) و آلفا - پینن (۱۴/۱٪) به ترتیب اجزای اصلی بودند.

نتیجه گیری: طبق نتایج این مطالعه، اسانس پنج انگشت دارای اثر ضد باکتریایی بوده که در مقایسه با اثر ضد باکتریایی آنتی بیوتیک های آمپی سیلین و جنتامایسین، تأثیر کمتری دارد ($p < 0.01$). اثر ضد قارچی این اسانس در مقایسه با نیستاتین دارای اختلاف معنی داری نیست.

کلید واژه ها: گیاه پنج انگشت؛ روغن فرار؛ عوامل ضد عفونی کننده.

اگرشناس ارشد میکروپزشناسی، واحد قم، دانشگاه آزاد اسلامی، قم، ایران.

استادیار قارچ شناسی، دانشکده پزشکی، واحد قم، دانشگاه آزاد اسلامی، قم، ایران.

استادیار میکروپزشناسی، دانشکده علوم پایه، واحد قم، دانشگاه آزاد اسلامی، قم، ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات:

حمیده آفرین، واحد قم، دانشگاه آزاد اسلامی، قم، ایران؛

آدرس پست الکترونیکی:
hafarin1359@yahoo. Com

تاریخ دریافت: ۹۳/۲/۲۵

تاریخ پذیرش: ۹۳/۶/۹

لطفاً به این مقاله به صورت زیر استناد نمایید:

Afarin H, Dakhili M, Zofaghari MR. Comparison of the antimicrobial effect of *Vitex agnuscastus* essential oil with common antibiotics in vitro. Qom Univ Med Sci J 2015;9(3):12-19. [Full Text in Persian]

مقدمه

ایران از لحاظ آب و هوا و موقعیت جغرافیایی در زمینه رشد گیاهان دارویی، از بهترین مناطق جهان محسوب می شود. گیاه دارویی پنج انگشت (*Vitex agnus - castus*) از خانواده شاه پسند (*Verbenaceae*) به صورت درختچه ای پایا با شاخه های قهوه ای بوده که ارتفاع آن به ۳/۵ متر و گاهی به ۵ متر می رسد. برگها زودافت، پنجه ای و منقسم به ۷-۵ برگچه به رنگ سبز تیره می باشند. سطح تحتانی پهنک نیز پوشیده از کرک های پنبه ای است. گل های آن به رنگ آبی مایل به بنفش و مجتمع به صورت سنبله دراز با ظاهر مطبق، بر روی یک پایه مشترک قرار دارند. میوه آن شفت و دارای درون بر سخت و مقاوم است. از تمام قسمت های این گیاه، به خصوص برگ و میوه آن بوی فلفل استشمام می شود، بنابراین به فلفل نیز موسوم است. فصل شکوفه دادن این گیاه از اردیبهشت ماه آغاز و تا شهریور ادامه دارد (۲،۱).

این گیاه به طور عمده در آسیای مرکزی و نقاط استوایی، اروپای مدیترانه ای و شمال آمریکا می روید (۳). در ایران این گیاه در نواحی مختلفی مانند رشته کوه البرز، تهران، کرج، قم، خراسان، جنوب غربی ایران، بندرعباس و نواحی مختلف خلیج فارس یافت می شود (۴). مصرف گیاه پنج انگشت (*Vitex agnus - castus*) در طب سنتی قدمتی دیرینه داشته و طبق گزارش ها، اولین استفاده دارویی از آن به ۴ قرن پیش از میلاد برمی گردد که در نوشته های بقراط نیز به آن اشاره شده است (۵).

پزشکان یونانی عصاره این گیاه را برای کاهش میل جنسی افراد تجویز می کردند. در دست نوشته های پیلای مورخ یونانی آمده است که همسران سربازانی که به جنگ می رفتند برای اثبات وفاداری خود میوه این گیاه را بر رختخواب خود می پاشیدند (۶). در مصر باستان و در طب سنتی اروپا، از این گیاه برای درمان سندرم پیش از قاعدگی، قاعدگی دردناک، رفع عوارض یائسگی و افزایش شیر مادران استفاده می کردند (۷-۹). سرخپوستان آمریکا در قرن نهم این گیاه را برای تشدید خونریزی قاعدگی توصیه می کردند (۱۰). ابوعلی سینا در کتاب قانون (جلد اول) آن را بنجنگشت نامیده، که به مصرف آن برای تسکین درد و ورم رحم توصیه کرده است (۱۱).

گیاه پنج انگشت یکی از مهم ترین گیاهانی است که در طب گیاهی در درمان بیماری های هورمونی زنان به عنوان تنظیم کننده هورمون ها استفاده می شود (۱۲،۱۳). این گیاه ترکیبات دوپامینرژیک دارد که به رسپتورهای دوپامین در بخش پیشین هیپوفیز متصل و آزادی پرولاکتین را مهار می کند و بدین طریق علائم سندرم قبل از قاعدگی را کاهش می دهد (۱۴،۱۵). اسیدهای چرب غیراشباع در گیاه پنج انگشت می توانند از طریق کاهش تعداد رسپتورهای LH موجود در سطح سلول های لایدیگ و متعاقب آن کاهش ترشح تستوسترون، اثر منفی بر باروری مردان داشته باشند (۱۶). ترکیبات پلی فنلی گرفته شده از این گیاه از قبیل فلاونوئیدها به عنوان ترکیبات ضدسرطانی عمل کرده و دارای فعالیت القاکندگی آپوپتوز در سلول های سرطانی می باشد (۱۷،۱۸). این گیاه پایین آورنده سطح کلسترول خون بوده و از پوکی استخوان نیز پیشگیری می کند (۱۹،۲۰).

در پژوهش حاضر فعالیت ضد میکروبی اسانس گیاه پنج انگشت بر روی تعدادی از باکتری های گرم مثبت، گرم منفی و قارچ کاندیدا آلیکنس مورد ارزیابی قرار گرفت و با فعالیت ضد میکروبی آنتی بیوتیک های رایج مقایسه شد.

روش بررسی

گیاه پنج انگشت در تیرماه سال ۱۳۹۰ از حاشیه رودخانه طغرود شهر جعفریه استان قم در مرحله گل دهی جمع آوری شد، سپس توسط هرباریوم مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی سازمان جهاد کشاورزی مورد تأیید قرار گرفت. در ابتدا پس از خشک کردن گیاه در سایه، اندام هوایی گیاه (شامل ساقه برگ، گل و میوه) با آسیاب برقی پودر شد.

جهت تهیه اسانس به روش Hydro Distillation، ۵۰ گرم از اندام هوایی خشک شد و پودر شده گیاه همراه با ۷۰۰ میلی لیتر آب مقطر در یک بالن ریخته شد و به مدت ۳ ساعت در دستگاه کلونجر با سرعت تقطیر یک میلی لیتر در دقیقه عمل اسانس گیری انجام گرفت. سپس اسانس حاصله به وسیله دستگاه گاز کروماتوگرافی متصل به طیف نگار جرمی (GC/MS) با مشخصات Column: HP-50(0/25mm 0/2µm 30m) MSD: HP5793 بخش آنالیز دانشکده شیمی دانشگاه صنعتی شریف آنالیز شد.

دمای ستون از ۴۰ درجه سانتیگراد تا ۲۵۰ درجه سانتیگراد با سرعت ۲/۵ درجه سانتیگراد بر دقیقه افزایش یافت. از گاز هلیوم با سرعت جریان ۱/۱ میلی لیتر در دقیقه و از انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون استفاده گردید.

سویه های استاندارد میکروبی شامل *S. aureus* ATCC 6583، *P. aeruginosa* ATCC 9027، *E. coli* ATCC 8739، *C. albicans* PTCC 5027 از دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال و مؤسسه سرم سازی حصارک کرج تهیه و جهت بررسی خاصیت ضد میکروبی اسانس مورد استفاده قرار گرفت.

از کشت ۲۴ ساعته میکروب ها، جهت تهیه سوسپانسیون میکروبی استفاده گردید. بدین ترتیب که با اضافه کردن میکروب مورد نظر (باکتری یا قارچ) به سرم فیزیولوژی استریل، کدورت حاصله با کدورت لوله استاندارد ۰/۵ مک فارلند مقایسه شد تا غلظت میکروبی معادل 1×10^8 CFU/ml به دست آید (۲۱).

(در مطالعه اثرات ضد میکروبی مواد برای رقیق نمودن یک ترکیب، باید از ماده ای به عنوان امولسیون فایر استفاده شود تا علاوه بر همگن کردن فازهای مختلف، خاصیت ضد میکروبی نیز نداشته باشد. حل نشدن اسانس در محیط کشت نیز دلیلی بر استفاده از امولسیون فایر است). در این مطالعه ماده دی متیل سولفوکساید (DMSO) به عنوان ماده امولسیون فایر انتخاب و براساس آزمایش رقتی، از این ماده استفاده شد که خاصیت ضد میکروبی نداشته باشد (۲۲). برای تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (Minimum Inhibitory Concentration, MIC) از روش Macro Dilution استفاده گردید (۲۳). در این روش یک میلی لیتر از اسانس ۱۰٪ به روش سریالی درون یک میلی لیتر محیط مولر هیتون براث (شرکت مرک آلمان) برای باکتری ها و سابورو دکستروز براث (شرکت مرک آلمان) برای قارچ ریخته شد (رقت های ۴۵۰، ۲۲۵، ۱۱۲/۵، ۵۶/۲۵، ۲۸/۱۳، ۱۴/۰۶، ۷/۰۳۲، ۳/۵۲، ۱/۷۶، ۰/۸۸۵ میکروگرم بر میلی لیتر)، و در نهایت، ۵۰ میکرولیتر از سوسپانسیون، معادل ۰/۵ مک فارلند میکروب های مورد بررسی به هر سری از رقت ها اضافه شد و در انکوباتور به مدت ۲۴ ساعت انکوبه گردید.

بعد از گذشت مدت زمان مورد نظر لوله ها از لحاظ رشد و ایجاد کدورت، بررسی و کمترین غلظت از اسانس که مانع رشد میکروب ها شده بود به عنوان MIC در نظر گرفته شد (۲۳). برای تعیین حداقل غلظت کشندگی

(Minimum Bacteriocidal Concentration, MBC) و (Minimum Fungicidal Concentration, MFC) پس از تعیین MIC، ۰/۱ میلی لیتر از همه لوله های فاقد کدورت بر روی محیط مولر هیتون آگار (باکتری ها) و محیط سابورو دکستروز آگار (قارچ) کشت داده شد و MBC، MFC نمونه ها به دست آمد (آخرین رقتی که در آن ۹۹/۹٪ از باکتری رشد نکند به عنوان MBC و آخرین رقتی که در آن ۹۹/۹٪ از قارچ رشد نکند به عنوان MFC در نظر گرفته می شود) (۲۳).

به منظور مقایسه اثر ضد میکروبی اسانس و آنتی بیوتیک های رایج، از آنتی بیوتیک های شرکت سیگما مقداری به صورت پودر تهیه شد، سپس با تعیین میزان پودر مصرفی و حجم آب مقطر استریل مورد نیاز، محلول ذخیره آنتی بیوتیکی با غلظت ۳۲ میکروگرم بر میلی لیتر برای آنتی بیوتیک های آمپی سیلین و جنتامایسین و غلظت ۶۴ میکروگرم بر میلی لیتر برای آنتی بیوتیک نیستاتین تهیه و برای تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی از روش های فوق استفاده گردید.

برای اندازه گیری قطر هاله عدم رشد میکروب های مورد بررسی، روش انتشار دیسک (Disk Diffusion) به کار برده شد (۲۳). از سوسپانسیون های میکروبی، معادل ۰/۵ مک فارلند با سواب استریل بر روی محیط های مولر هیتون آگار (باکتری) و سابورو دکستروز آگار (قارچ) کشت یکنواخت داده شد، سپس ۲۰ میکرولیتر از استوک اسانس به دیسک های ۶ میلی متر بلانک (پادتن طب) استریل تلقیح و در شرایط استریل بر روی محیط کشت قرار داده شد. از دیسک های آنتی بیوتیک (شرکت پادتن طب) و دیسک حاوی دی متیل سولفوکساید (شرکت مرک آلمان) به ترتیب به عنوان کنترل مثبت و کنترل منفی استفاده گردید. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون، قطر هاله عدم رشد اندازه گیری و برحسب میلی متر گزارش شد. تعیین قطر هاله عدم رشد آنتی بیوتیک های رایج به روش انتشار دیسک (Kirby-Bauer Method) انجام گرفت.

در برابر اسانس گیاه پنج انگشت، قطر هاله عدم رشد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* ۹/۳ میلی متر و *قارچ کاندیدا آلبیکنس* ۱۰/۳ میلی متر بود و برای باکتری های *اشرشیاکلی* و *سودوموناس آئروژینوزا* هاله عدم رشدی مشاهده نشد (جدول شماره ۲). میانگین قطر هاله عدم رشد اسانس گیاه دارویی $10/3 \pm 0/57$ و نیستاتین $10/7 \pm 1/54$ میلی متر بود که این اختلاف معنی دار نبود ($p=0/7$).

بر اساس آنالیز انجام شده با روش GC/MS، ۳۶ ترکیب در اسانس استخراج شده از اندام هوایی گیاه پنج انگشت شناسایی شد (جدول شماره ۳). سه مورد از این ترکیبات شامل: ایزوترپینولن (۱۹/۴۱٪)، کاروفیلن (۱۸/۵۳٪)، آلفاپینن (۱۴/۱٪)، بیشترین درصد اسانس را تشکیل می دادند.

به منظور مقایسه میانگین قطر هاله عدم رشد اسانس گیاه پنج انگشت با آمپی سیلین و جنتامایسین، از آزمون واریانس یک طرفه و برای مقایسه میانگین قطر هاله عدم رشد اسانس گیاه پنج انگشت با نیستاتین از آزمون تی و نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ استفاده گردید.

یافته ها

کمترین غلظت مهارکنندگی اسانس، در باکتری *S. aureus* ATCC 6538 با میزان ۵۶/۲۵ میکروگرم بر میلی لیتر مشاهده گردید. در قارچ *C. albicans* PTCC 5027 غلظت مهارکنندگی ۱۱۲/۵ میکروگرم بر میلی لیتر بود. باکتری های گرم منفی *P. aeruginosa* ATCC 9027 و *E. coli* ATCC 8739 دارای بالاترین غلظت مهارکنندگی با میزان ۴۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر بودند (جدول شماره ۱).

جدول شماره ۱: حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی اسانس گیاه دارویی و آنتی بیوتیک ها (میکروگرم بر میلی لیتر)

میکروارگانیزم	اسانس MIC MBC/MFC	آمپی سیلین MIC MBC	جنتامایسین MIC MBC	نیستاتین MIC MFC
<i>استافیلوکوکوس اورئوس</i>	۵۶/۲۵	۰/۱۲۵	۴	-
	۱۱۲/۵	۰/۲۵	۸	-
<i>سودوموناس آئروژینوزا</i>	۴۵۰	>۱۲۵	۴	-
	۴۵۰		۸	-
<i>اشرشیاکلی</i>	۴۵۰	۴	۴	-
	۴۵۰	۸	۴	-
<i>کاندیدا آلبیکنس</i>	۱۱۲/۵	-	-	۳۲
	۲۲۵	-	-	>۳۲

جدول شماره ۲: میانگین قطر هاله عدم رشد اسانس گیاه دارویی، آمپی سیلین و جنتامایسین (میلی متر)

میکروارگانیزم	اسانس	آمپی سیلین	جنتامایسین
<i>استافیلوکوکوس اورئوس</i>	$9/3 \pm 1/15^a$	$29/3 \pm 1/52^c$	$25/3 \pm 0/57^b$
<i>سودوموناس آئروژینوزا</i>	a	$10/3 \pm 0/57^b$	$21/3 \pm 1/15^c$
<i>اشرشیاکلی</i>	a	$19/6 \pm 1/15^b$	$18/3 \pm 0/57^b$

*وجود حروف نامشابه در هر ردیف نشانه تفاوت معنی دار بین میانگین ها می باشد. در تمام موارد $p < 0/01$ می باشد.

جدول شماره ۳: ترکیبات شیمیایی اسانس گیاه پنج انگشت

ردیف	نام ترکیب	درصد
۱	α - Pinene	۱۴/۱
۲	Sabinene	۱/۷۸
۳	2- β -pinene	۰/۱۸
۴	β - myrcene	۰/۷۵
۵	Benzene	۰/۳
۶	DL – Limonene	۵/۷۳
۷	γ -Terpinene	۰/۳
۸	α -Terpinolene	۰/۳۳
۹	ISOTerpinolene	۱۹/۴۱
۱۰	Cis-2,6,7-Dimethyl-2,6-octadiene	۰/۵۳
۱۱	Caryophyllene	۱۸/۵۳
۱۲	Bicyclo(3-1-1)Hept-2-ene	۰/۲۲
۱۳	α - humulene	۱/۳۵
۱۴	1H-cycloproazulene	۰/۲۹
۱۵	β - selinene	۰/۴۱
۱۶	α - Seliene	۰/۲
۱۷	Cyclohexen	۰/۲۷
۱۸	1,4-methanoazulene	۲/۲۴
۱۹	Azulene	۱۲/۶۸
۲۰	Aromadenderne	۰/۳۱
۲۱	3-methylene-bicycle	۰/۱۲
۲۲	(1H-Inden-1-ethylidene octahydro-7a)	۱/۵۷
۲۳	Naphtalene, hexahydro-1,6dimethyl	۰/۵۳
۲۴	γ -himachalene	۰/۳۵
۲۵	Nerolidol	۰/۱۰
۲۶	3-(trifluoromethyl)5-penthyl	۰/۰۷
۲۷	Phenol/2,4-bis(1,1 dimethylethyl)	۷/۱۴
۲۸	Cheloviolene	۱/۵۵
۲۹	1H-Naphto (2,1-b)pyran	۰/۵۹
۳۰	5-Amino-6-nitroquinoline	۰/۲۱
۳۱	3,7,11,15 tetramethyle hexade	۲/۲۲
۳۲	17, 17-D2 – Androst-5-en	۳/۰۹
۳۳	Cembrene	۱/۰۱
۳۴	Tetra cyclo	۰/۲۷
۳۵	Sigmosceper lin- A	۱/۰۳
۳۶	Exo – avarone	۰/۲۸

بحث

استفاده بی رویه از آنتی بیوتیک ها، همچنین مقاومت های رو به گسترش باکتری ها نسبت به آنتی بیوتیک های رایج، عوارض نامطلوب و جانبی استفاده از آنها و از طرفی، اثبات سمی بودن کمتر داروهای گیاهی در درمان نسبت به داروهای سنتتیک و انحصاری بودن درمان برخی بیماری ها با گیاهان، مقرون و به صرفه نبودن ساخت برخی داروهای شیمیایی، ارزش اقتصادی بالا و جایگاه دیرینه ای که گیاهان دارویی و معطر در بحث بهداشت و سلامت جامعه دارند، سبب گشته است تا بار دیگر توجه جوامع پزشکی و محققین به طب سنتی، گیاه درمانی و مواد مؤثره موجود در گیاهان دارویی معطوف گردد (۲۴). اسانس ها یکی از مهم ترین مواد مؤثره گیاهان دارویی هستند که به طور همزمان به بخش های مختلفی از باکتری اثر می کند، لذا همین امر باعث اهمیت آنها در درمان و عدم بروز مقاومت های زیاد و چشمگیر در آنها شده است (۲۵).

در تحقیق حاضر، اسانس ۱۰٪ اندام هوایی گیاه پنج انگشت دارای اثرات ضد میکروبی بر روی باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* و قارچ *کاندیدا آلبیکنس* بود. از جمله مطالعاتی که بر روی اثرات ضد میکروبی گیاه پنج انگشت صورت گرفته است، می توان به مطالعه قنادی و همکاران (سال ۱۳۹۱) اشاره کرد که در آن اثر ضد میکروبی اسانس پنج انگشت به روش دیسک دیفیوژن بر روی باکتری های گرم مثبت و گرم منفی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این تحقیق نشان داد اسانس پنج انگشت بر روی *اشرشیاکلی* و *لیستریا مونوسایتوژنز*، اثر ضد میکروبی نداشته و حساس ترین باکتری به این اسانس *استافیلوکوکوس اورئوس* می باشد که نتایج این تحقیق با یافته های مطالعه حاضر همخوانی داشت (۲۶). در این مطالعه ترکیبات عمده اسانس را کاربوفیل اکساید، ان هگزادکان، آلفا- ترپنیل استات تشکیل می داد. در مطالعه دیگری که توسط Stojkovic و همکاران (سال ۲۰۱۱) به روش میکرو دایلوژن صورت گرفت مشخص گردید اسانس میوه نارس و رسیده و برگ گیاه پنج انگشت بر روی تعدادی از باکتری های گرم مثبت، گرم منفی و قارچ ها اثر ضد میکروبی دارد. حساس ترین باکتری نسبت به تمامی اسانس ها، *سالمونلا تیفی* و مقاوم ترین باکتری *باسیلوس سوبتیلیس*، حساس ترین قارچ *آلترناریا ناتا* و مقاوم ترین قارچ،

تریکودرما ویریده گزارش شد (۲۷). در این مطالعه نشان داده شد اسانس میوه نارس در مقایسه با اسانس میوه رسیده و برگ گیاه دارای فعالیت ضد میکروبی قوی تری می باشد. مقایسه نتایج این تحقیق با یافته های مطالعه حاضر، نشان دهنده عملکرد ضد باکتریایی قوی تر اسانس میوه نارس بر روی *اشرشیاکلی* بود. همچنین مقایسه نتایج نشان داد اسانس مورد بررسی در این مطالعه بر روی *استافیلوکوکوس اورئوس*، اثر ضد باکتریایی قوی تری نسبت به اسانس میوه نارس دارد. در پژوهش حاضر، مهم ترین ترکیب اسانس میوه نارس ساینن، در اسانس میوه رسیده ۱ و ۸- سینئول و در اسانس برگ نیز ۱ و ۸- سینئول شناسایی شد.

Omikorede و همکاران (سال ۲۰۱۲) در مطالعه خود بر روی اثر ضد میکروبی اسانس برگ گیاه پنج انگشت با روش های دیسک دیفیوژن و میکرو دایلوژن نشان دادند حساس ترین باکتری، *استافیلوکوکوس اورئوس* و مقاوم ترین باکتری، *سودوموناس آئروژینوزا* می باشد (۲۸). در این مطالعه مهم ترین ترکیبات اسانس شامل: آلفا- ترپینئول، ترانس - بتا- فارنسن، ۲- آمینو- ۶ و ۷- دی متیل پتریدین بود. همچنین Hamid و همکاران (سال ۲۰۱۰) نشان دادند ترکیبات عمده اسانس برگ این گیاه را بتا - پینن، ویریدیفلورل و آلفا - پینن تشکیل می دهد (۲۹). ترکیب عمده مشترک در نتایج این مطالعه و تحقیق حاضر آلفا- پینن بود. در پژوهش حاضر فعالیت ضد میکروبی آمپی سیلین بر روی *استافیلوکوکوس اورئوس* بیشتر از جنتامایسین و فعالیت این دو آنتی بیوتیک بیشتر از اسانس اندام هوایی پنج انگشت گزارش شد که در سطح $p < 0.001$ دارای اختلاف معنی داری بود (جدول شماره ۲). فعالیت ضد میکروبی نیستاتین و اسانس اندام هوایی پنج انگشت بر روی قارچ *کاندیدا آلبیکنس* (در سطح $p > 0.05$) دارای اختلاف معنی داری نبود؛ بدین معنی که فعالیت اسانس مورد مطالعه و نیستاتین مشابه بوده است. در برابر اسانس این گیاه برای *سودوموناس آئروژینوزا* و *اشرشیاکلی*، هاله عدم رشد مشاهده نشد و فعالیت ضد میکروبی آنتی بیوتیک های آمپی سیلین و جنتامایسین بیشتر از فعالیت ضد میکروبی اسانس مورد مطالعه بود، در سطح $p < 0.001$ نیز اختلاف معنی دار بود (جدول شماره ۲). اثرات ضد میکروبی این اسانس را می توان به وجود ترکیباتی مانند ایزوترپینئول، کاربوفیلن و آلفا - پینن نسبت داد که بیشترین درصد

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان قم و دانشکده شیمی دانشگاه صنعتی شریف به خاطر همکاری های ایشان در اجرای این تحقیق کمال تشکر و قدردانی به عمل می آید.

ترکیبات شیمیایی را به خود اختصاص می دهند. با توجه به تأثیر مشابه اسانس گیاه پنج انگشت و نیستاتین بر روی کاندیدا/آلبیکنس، این اسانس می تواند به عنوان یک منبع مفید ضدقارچی جدید به کار گرفته شود، اگرچه در این زمینه به مطالعات بیشتری نیاز است.

References:

1. Akhondzadeh SH. Iran's encyclopedia of medicinal plants. Iran: Arjomand Press; 2000. p. 51. [Text in Persian]
2. Daniele C, Thompson Coon J, Pittler MH, Ernst E. Vitex agnus castus: A systematic review of adverse events. *Drua Saf* 2005;28(4):319-32.
3. Arokiyaraj S, Perinbam k, Agastian P, Mohan Kumar R. Phytochemical analysis and antibacterial activity of Vitex agnus-castus. *Int J Green Pharm* 2009;3(2):162-4.
4. Ghahraman A. Iranian cryophytes. Tehran: Tehran University Pub; 2003. p. 315. [Text in Persian]
5. Cossuta D, Simndi B, Vagi E, Hohmann J, Prech A, Lemberkovicss E. Supercritical fluid extraction of Vitex agnus - costus fruit. *J Suppercritic Fluid* 2008;47(2):188-94.
6. Blumenthal M. Herbal Medicine. 2nd ed. London: Integrative Medicine Communications; 2000. p. 35-9.
7. Newall C, Anderson L, Philipson J. Herbal Medicine. 3rd ed. London: The Pharmaceutical Press; 1996. p. 19-20.
8. Romheld -Hamm B. Chasteberry. *Am Fam Physician* 2005;72(5):821-4.
9. Doll M. The Premenstrual Syndrome (PMS): Effectiveness of Vitex agnus-castus. *Med Monatsschr Pharm* 2009;32(5):186-91.
10. Felter H, Liolyd J. King's American Dispensatory. Portland: Eclectic Medical Publications; 1985. p. 435-9.
11. Ansari Shirazi A. Ekhtiarat Badi'ee. Iran: The Drug Distributing Company of Razi; 1996. p. 70-73.
12. Berger D, Schaefer W, Schrade E, Meier B, Brattstorm A. Efficacy of Vitex agnus- castus Extract ze 440 in Patients with Pre-menstrall Syndrome (PMS). *Arch Gynecol Obstet* 2000;264 (3):150-3.
13. Jarry H, Spengler B, Porzel A, Schimdt J, Wuttke W, Christoffel V. Evidence for estrogen receptor Beta-selective activity of Vitex agnus-castus and isolated flavones. *Planta Med* 2003;69(10):945-7.
14. Wuttke W, Jarry H, Christoffel V, Spengler B, Seidlova-Wuttke D. Chaste Tree (Vitex agnus - castus) pharmacology and clinical indications. *Phytomedicine* 2003;10(4):348-57.
15. Liu J, Burdette JE, Xu H, et al. Evaluation of estrogenic activity of plant extracts for the potential treatment of menopausal symptoms. *J Agric Food Chem* 2001;49(5):2472-9.
16. Ramezani M, Nasri S, Bahadoran H. The effect of Vitex agnus- castas total extract on spermatogenesis of Balb/C mice. *Armaghan Danesh (J Kashan Univ Med)* 2008;13(3,4):35-44. [Full Text in Persian]
17. Ohyama K. Cytotoxicity and apoptotic inducibility of VAC fruit extract in cultured human normal and cancer cells and effect on growth. *Biol Pharm Bull* 2003;26:10-8.
18. Ohyama K, Akaike T, Imai M, Toyoda H, Hirobe C, Bessho T. Human gastric signetring carcinoma cell apoptosis induced by Vitex agnus-castus fruit extract through intracellular oxidative stress. *Int J Biochem Cell Biol* 2005;37(7):1496-510.

19. Nasri S, Ebrahimi Vosta Kalaie S. Medical effect of *Vitex agnus-castus* L. J Babol Univ Med Sci 2006;8(7):49-53. [Full Text in Persian]
20. Ozturk A, Ilman AA, Saglam H, Yalcinkaya U, Aykut S, Akgöz S, et al. The Effects of phytoestrogens on fracture healing: Experimental research in New Zealand White Rabbits. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg* 2008;14(1):21-7.
21. Good Win R, Sallavin L, Soleyman M, Adriano C. Antimicrobial Susceptibility testing protocols. 4th ed. London: CRC Press; 2007.
22. Kalembe D, Kunicka A. Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Curr Med Chem* 2003;10(10):813-29.
23. Forbers B, Sahmalices D, Weissfeld A. Bailey & Scott's diagnostic microbiology. New York: Mosby; 2007.
24. Anuar NS, Zahari SS, Taib IA, Rahman MT. Effect of green and ripe carica papayaepicarp extracts on wound healing and during pregnancy. *Food Chem Toxicol* 2008;46(7):2384-9.
25. Hemaiswarya S, Kruthiventi AK, Doble M. Synergism between natural products and antibiotics against diseases. *Phytomedicin* 2008;15(8):639-52.
26. Ghannadi A, Bagherinejad MR, Abedi D, Jalali M, Absalan B, Sadeghi N. Antibacterial activity and composition of essential oils from *pelargonium graveolens* L her and *vitex agnus-castus* L. *Iran J Microbiol* 2012;4(4):171-6.
27. Stojkovic D, Stokovic M, Glamoclija J, Dzomic A, Crici A, Ristic M. Chemical composition and antibacterial activity of *Vitex agnus - castus* fruits and leaves essential oil. *Food Chem* 2011;128(4):1017-22.
28. Omikorede OE, Lawal OA, Iresemowo OA. Volatiale constituents: antibacterial and insecticidal activities of essential oil from the leaves of *Vitex agnus-casyus* l. *Canad J Comput Mathemat Natural Sci Engin Med* 2012;3(7):256-60.
29. Hamid AA, Usman LA, Adebay SA, Zubair, MF, Elaigwu SE. Chemical constituents of leaf essential oil of North-central Nigerian grown *Vitex agnus-castus* L. *J Adv Environ Biol* 2010;4(2):250-3.

Comparison of Antimicrobial Effect of Essential Oil of *Vitex agnus - Castus* with Common Antibiotics *Invitro*

Hamid Afarin^{1*}; Mohammad Dakhili²; Mohammad Reza Zolfaghari³

¹Master of Sciences in Microbiology, Qom Branch, Islamic Azad University, Qom, Iran.

²Assistant Professor of Mycology, Faculty of Medicine, Qom Branch, Islamic Azad University, Qom, Iran.

³Assistant Professor of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Qom Branch, Islamic Azad University, Qom, Iran.

***Corresponding Author:**
Hamid Afarin, Qom Branch, Islamic Azad University, Qom, Iran.

Email:
hafarin1359@yahoo. Com

Received: 15 May, 2014

Accepted: 31 Aug, 2014

Abstract

Background and Objectives: From centuries ago, *Vitex agnus-castus* (VAC) has been known as a medicinal plant. VAC is a native phytoestrogen plant in Middle East and south Europe with has a clinical usage in many countries. In this research, antimicrobial effect of essential oil of VAC was investigated on *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* and was compared with Ampicilin, Gentamicin and Nystatin.

Methods: Essential oil of VAC was extracted by hydrodistillation technique using Clevenger apparatus. Chemical constituents was analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS) for evaluation of antimicrobial effect Disk diffusion and Macrodilution methods were used.

Results: Essential oil of VAC inhibited the growth of *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans* at Concentrations 56.25µg/ml and 112.5µg/ml respectively. The zones of inhibition for *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans* by Disk diffusion method were 9.3mm and 10.3mm respectively. This essential oil inhibited the growth of *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli* at concentration 450µg/ml, but by using Disk diffusion method, no zone of inhibition has been seen for these two bacteria, by GC/MS analysis of essential oil identified 36 compounds, the major constituents were Isoterpinolene (19.4%), Caryophyllene (18.53%), α -Pinene (14.1%).

Conclusion: According to the results of this research, the essential oil of VAC has antimicrobial effect, in comparison with antibacterial effect of Ampicilin and Gentamicin has significant difference ($p < 0.001$). Antifungal effect of this essential oil in comparsion with Nystatin doesn't have significant difference ($p > 0.05$).

Keywords: *Vitex Agnus-Castus*; Volatile Oil; Anti-Infective Agents.