مجله ایمنی زیستی

دوره ۱۵، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۱

ISSN 2716-9804 الکترونیکی، ISSN 2717-0632 چاپی

بررسی ترکیبات شیمیایی و خواص ضد میکروبی اسانس گیاه *Malabaila secacul* جمع‌آوری شده از استان فارس

نوع مقاله: پژوهشی 20.1001.1.27170632.1401.15.3.5.3

حسین هداوند میرزایی*[۱]، مهدی زارع[۲] و سید محمد حسینی[۳]

۱-استادیار بخش فیزیولوژی ملکولی، پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی ایران، سازمان تحقیقات،آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

۲-کارشناس ارشد، مرکز تحقیقات شیمی دارویی و گیاهی دانشگاه علوم پزشکی فارس، شیراز، ایران

۳-دانشجوی دکتری، بخش زیست فناوری کشاورزی، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۲/۰۹، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۲/۱۶

صفحه ۹۲-۷۹

چکیده

اندام هوایی گیاه مذکور در شرایط گل‌دهی کامل در اردیبهشت سال ۱۳۹۲ از اطراف خان زنیان واقع در استان فارس جهت بررسی اجزای متشکله، و اثر ضد میکروبی اسانس گیاه *Malabaila secacul* جمع‌آوری شد. نمونه‌های گیاهی پس از تمیز شدن به دور از نور خورشید و در سایه، خشک شه و از روش تقطیر با آب جهت اسانس‌گیری استفاده شد. میزان روغن نسبت به وزن خشک گیاه ۰/۴۳ درصد وزنی/ وزنی بدست آمد. اسانس حاصل توسط دستگاه گاز کروماتوگرافی (GC) و کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC/MS) به‌صورت کمی و کیفی مورد آنالیز قرار گرفت. سپس فعالیت ضد میکروبی اسانس در برابر شش سویه باکتریایی با روش انتشار روی دیسک مورد آزمایش قرار گرفت. در اسانس این گیاه ۲۳ ترکیب شناسایی شد که ۹۸/۹۰٪ از کل اسانس را تشکیل می‌دادند. ترکیبات اصلی اسانس شامل octyl acetate (۵۳/۴۲ ٪) و octanol (۳۳/۵۵ ٪) و limonene (۲/۲۴ ٪) و α-pinene (۱/۳۷ ٪) بودند. همچنین نتایج نشان داد اسانس گیاه *M. secacul* اثرات ضد میکروبی قابل ملاحظه‌ای روی سویه‌های *Salmonella typhi* و *Staphylococcous aureus* دارد. براساس نتایج حاصل از این تحقیق، اسانس این گیاه می‌تواند جهت استفاده در صنایع غذایی و بهداشتی مدنظر قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: *Malabaila secacul*، اسانس روغنی، فعالیت ضد میکروبی، GC/MS

مقدمه

استفاده از ترکیبات طبیعی و به‌طور ویژه ترکیبات موجود در گیاهان نقش به سزایی در درمان بیماری‌ها در طب سنتی داشته که تاریخچهٔ استفاده از آنها در درمان انواع مختلف بیماری به هزاران سال قبل باز می‌گردد. این نقش آفرینی طی قرون متمادی سبب شکل‌گیری داروهای مختلف با منشأ گیاهی برای درمان بیماری‌های مختلف شده است. سازمان بهداشت جهانی طی گزارشی اعلام کرد در حدود ۸۰ درصد از جمعیت جهان از ترکیبات طبیعی با منشأ گیاهی جهت مراقبت‌های اولیه درمانی استفاده می‌کنند (Vashist et al. 2012).

ترکیبات طبیعی ساختارهای شیمیایی متنوعی دارند، به همین دلیل طیف گسترده‌ای از فعالیت های زیستی را نشان می‌دهند.

اسانس‌ها متشکل از ترکیبات طبیعی معطری هستند که قابلیت تقطیر شدن دارند و به راحتی می‌توان آنها را از طریق روش‌های تقطیر استخراج کرد. این دسته از متابولیت‌های ثانویه در اندام‌های مختلف گیاهان یافت می‌شوند و به علت تبخیر در شرایط معمول به‌صورت فرّار هستند. از اسانس‌ها بر اساس فعالیت زیستی و عوارض کمتر نسبت به محصولات شیمیایی مشابه، در صنایع مختلف دارویی، آرایشی و غذایی استفاده می‌شود (Moghaddam et al. 2017).

تیره چتریان (*Apiaceae*) شامل گونه‌های علفی معطر بوده که به لحاظ اقتصادی از اهمیت بالایی برخوردار هستند (Küpeli et al. 2006). در فلور ایران ۱۱۲ جنس و ۳۱۶ گونه از این تیره شناخته شده است که رویشگاه اصلی آنها در مناطق معتدل و نواحی کوهستانی است (Mozaffarian. 1996). گونه‌های متعلق به خانواده چتریان، غنی از متابولیت‌های ثانویه هستند و طیف وسیعی از فعالیت‌های زیستی از این خانواده گزارش شده است (Bagci et al. 2015). طی مطالعات متعدد روی میکروارگانیسم‌های مختلف، یکی از مهمترین اثرات زیستی اسانس‌های گونه‌های متعلق به خانواده چتریان اثر ضدمیکروبی آنها است (Lee et al. 2011; Lo-Cantore et al. 2004).

با توجه به گزارش سازمان بهداشت جهانی، استفادهٔ گسترده از آنتی‌بیوتیک‌ها باعث مقاومت بسیاری از پاتوژن‌ها شده است. بسیاری از باکتری‌های مهم بیمارستانی، از جمله *Staphylococcus aureus*، به آنتی‌بیوتیک‌های معمول مقاوم شده‌اند. علاوه‌بر این، مقاومت‌های چنددارویی در باکتری‌های گرم منفی نیز نگرانی اصلی دیگر در این زمینه است. باکتری‌های گرم

منفی محیطی، جدی‌ترین تهدید برای بیماران در بیمارستان‌ها است و به‌طور گسترده به نسل‌های اول تاسوم پنی‌سیلین مقاوم هستند. به‌عنوان مثال، باکتری *Pseudomonas aeruginosa* یک پاتوژن فرصت‌طلب بیمارستانی است که بسیاری از بیماران را تهدید می‌کند. در حال حاضر، حدود ۷۰ درصد از باکتری‌هایی که در بیمارستان‌ها باعث عفونت می‌شوند، مقاوم به یک یا چندین آنتی‌بیوتیک معمول هستند که برای درمان استفاده می‌شوند (Harounabadi et al. 2015). با توجه به مقاومت‌های دارویی ایجاد شده بر اثر مصرف بی رویه آنتی‌بیوتیک‌ها و نیاز به داروهای جدید و اثربخش و همچنین با توجه به اینکه گونه‌های این خانواده در جوامع محلی بصورت خوراکی استفاده می‌شوند، می‌توان از این منابع ارزشمند جهت غربالگری فعالیت ضد میکروبی استفاده کرد.

جنس *Malabaila Hoffm* بخش کوچکی از خانواده چتریان است که از شرق مدیترانه تا آسیای مرکزی و ایران پراکنده شده است (Vučković et al. 2014). گیاه گلپر وحشی با نام علمی *Malabaila secacul* گیاهی چند ساله از گونه‌های متعلق به این جنس است. از این گیاه در مناطق هیرکانی ایران به‌عنوان طعم‌دهنده و عامل جلوگیری از فساد غذایی استفاده می‌شود (Khoshbakht et al. 2007). در منطقه آنتالیا در کشور ترکیه از این گیاه به‌عنوان دمنوش و در سالادها در وعده‌های مختلف غذایی استفاده می‌شود. همچنین در طب سنتی ترکیه از این گیاه برای درمان هموروید نیز استفاده می‌شود (Bagci et al. 2015).

پژوهشگران ایرانی در سال ۹۹ خواص آنتی اکسیدانی، آنتی استیل کولین استرازی وآنتی تیروزینازی عصاره اتیل استاتی و متانولی این گیاه را مورد بررسی قرار دادند. بر اساس نتایج گزارش شده عصاره اتیل استاتی این گیاه اثر آنتی اکسیدانتی قویتری در مقایسه با عصاره متانولی از خود نشان داد (مقادیر IC50 برای این عصاره‌ها به‌ترتیب ۸ و ۲۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش شد). در این پژوهش مشخص شد که عصاره‌های تهیه شده از این گیاه هیچ فعالیت بازدارندگی علیه آنزیم استیل کولین استراز از خود نشان ندادند. همچنین عصاره‌های این گیاه اثر مهارکنندگی قوی علیه آنزیم تیروزیناز از خود نشان دادند (Aryakia. 2020).

در مطالعاتی که روی ترکیبات عمده اسانس گونه‌های متعلق به جنس *Malabaila* انجام شد ترکیبات اجزای اصلی آنها octyl isobutyrate (۴۰/۰٪)، spathulenol ((۱۲/۴٪) (Tzakou et al.)

(٪۲۷/۱) β-elemene ،(2008; Yari et al. 1999 (٪۳۶/۴۲) hexyl butyrate ،(Vickers. 2017)، (٪۳۶/۴۹) hexanoic acid hexyl ester ،n- (٪۱۰/۶۰) hexanol ،(Kiliç. 2014) germacrene D (٪ ۲۰/۷۱)، (٪۱۲/۴۰) β-elemene، (٪۱۱/۶۰) spathulenol ،(Bagci et al. 2015)، (٪۳۷/۱۴) butanoic acid ،caryophyllene oxide (٪۱۳/۴۰) و germacrene D (٪۱۰/۰) (Dhalwal et al. 2008) گزارش شده‌اند.

هدف از این مطالعه، شناسائی اجزای اسانس، همچنین تعیین درصد ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس اندام هوایی گیاه *M. secacul* جمع‌آوری شده از استان فارس و در مرحلهٔ بعد بررسی اثرات ضدمیکروبی آن روی چند سویه از باکتری‌های گرم مثبت و منفی است.

مواد و روش‌ها

منابع گیاهی مورد استفاده

منابع گیاهی مورد استفاده در این پژوهش شامل قسمت‌های هوایی گیاه *M. secacul* (شکل ۱) بود که از رویشگاه‌های طبیعی این گیاه واقع در اطراف خان زنیان استان فارس در اردیبهشت ماه و شرایط گلدهی کامل در سال ۱۳۹۲ جمع‌آوری شد. پس از جمع‌آوری، نمونه گیاهی توسط بخش گیاه‌شناسی مرکز تحقیقات شیمی دارویی و گیاهی دانشگاه علوم پزشکی شیراز مورد شناسایی قرار گرفت (شماره نمونه هرباریومی ۱۱-۱۰-۱-۹۲). نمونهٔ گیاهی جمع‌آوری شده پس از انتقال به آزمایشگاه در سایه و به دور از نور مستقیم خورشید خشک شد و گیاه قبل از اسانس‌گیری خرد و سپس عملیات آزمایشگاهی بر روی آن انجام شد.

شکل ۱- تصویر گیاه *M. secacul*

استخراج اسانس

در این پژوهش استخراج اسانس، از روش تقطیر با آب با استفاده از دستگاه کلونجر (Clevenger) انجام شد. عمل اسانس‌گیری به مدت ۳ ساعت ادامه داشت و مایع روغنی بدست آمده توسط مواد جاذب رطوبت (سولفات سدیم) خشک شد. اسانس به دست آمده به دقت توزین شد و در ظرف‌های تیره‌رنگ تا هنگام آنالیز در یخچال نگه‌داری شد.

شناسائی ترکیبات تشکیل‌دهندهٔ اسانس

با استفاده از روش کروماتوگرافی گازی متصل با طیف‌سنج جرمی (GC/MS) ترکیبات تشکیل‌دهندهٔ اسانس مورد شناسایی قرار گرفت. شناسایی ترکیبات با استفاده از پارامترهای مختلف از قبیل زمان و شاخص بازداری (RI)، مطالعهٔ طیف‌های جرمی و مقایسهٔ این طیف‌ها با ترکیب‌های استاندارد و اطلاعات موجود در کتابخانهٔ رایانهٔ دستگاه GC/MS انجام شد (Shibamoto. 1987). سپس درصد نسبی هر کدام از ترکیبات تشکیل دهندهٔ اسانس با توجه به سطح زیر منحنی آن در کروماتوگرام GC به روش نرمال کردن سطح و نادیده گرفتن ضرایب پاسخ بدست آمد.

مشخصات دستگاه گاز کروماتوگرافی (GC)

برای آنالیز GC اسانس گیاه *M. secacul* از کروماتوگراف گازی Agilent مدل N6890 مجهز به ستون از نوع HP-5 به طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۲۵ میکرون و ضخامت لایه نازک ۰/۲۵ میکرومتر استفاده شد. دمای آون به مدت ۱ دقیقه در ۶۰ درجه سلسیوس نگه داشته شد و سپس تا ۲۴۰ درجه سلسیوس با سرعت ۵ درجه سلسیوس بر دقیقه افزایش یافت و به مدت ۱۰ دقیقه در این دما نگه داشته شد. دمای محفظهٔ تزریق و آشکارساز یونیزاسیون شعله‌ای (FID) به ترتیب ۲۴۰ و ۲۵۰ درجه سلسیوس بود و از گاز نیتروژن با سرعت جریان ۰/۹ میلی‌متر بر دقیقه به‌عنوان گاز حامل استفاده شد.

مشخصات گاز کروماتوگرافی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC/MS)

جهت شناسایی اجزا اسانس توسط دستگاه گاز کروماتوگرافی متصل شده با طیف سنج جرمی Agilent مدل N7890 مجهز به ستون MS-HP۵ به طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۲۵ میکرون و ضخامت لایهٔ نازک ۰/۲۵ میکرومتر استفاده شد. برنامه دمایی مشابه دستگاه گاز کروماتوگرافی تنظیم شد. از گاز حامل هلیوم با سرعت جریان یک میلی‌لیتر بر دقیقه به‌عنوان گاز حامل و انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت استفاده شد. و ناحیه جرمی از ۳۵ تا ۳۵۰ تنظیم شد.

سویه‌های میکروبی

سویه‌های میکروبی مورد استفاده در این تحقیق با توجه به موجودی این باکتری‌ها در آزمایشگاه میکروبیولوژی مرکز تحقیقات شیمی دارویی و گیاهی دانشگاه علوم پزشکی شیراز که از مرکز ذخایر ژنتیک ایران تهیه شده بودند و همچنین اولویت بیماریزایی آنها انتخاب شدند. مشخصات باکتری‌های استاندارد مورد استفاده در جدول ۱ شرح داده شده است.

جدول ۱- مشخصات باکتری‌های مورد استفاده

نام باکتری	شماره استاندارد	واکنش gram
S. aureus	PTCC1112	+
Staphylococcus epidermidis	PTCC1114	+
Escherichia coli	PTCC1330	-
P. aeruginosa	PTCC1074	-
Klebsiella pneumoniae	PTCC1053	-
Salmonella typhi	PTCC1609	-

بررسی فعالیت ضد میکروبی به روش انتشار روی دیسک

به‌منظور بررسی اثر مهار کنندگی اسانس بر روی سویه‌های مورد آزمایش از روش انتشار روی دیسک استفاده شد. در این آزمایش از محیط کشت نوترینت براث و دیسک‌های کاغذی استریل شده (واتمن شماره ۱) به قطر ۶ میلی‌متر استفاده شد. باکتری‌ها در محیط کشت نوترینت براث در انکوباتور به مدت ۲۴ ساعت کشت داده شدند، سپس غلظت مناسب سوسپانسیون میکروبی توسط دستگاه اسپکتوفتومتری سنجیده شد (طول موج ۶۰۰، جذب ۰/۱). از سوی دیگر درون ۱۲ پتری دیش (۶ سویه باکتری، برای هر کدام دو تکرار) محیط کشت مولر- هینتون آگار (حدود ۱۰ تا ۲۰ سی سی) ریخته و اجازه داده شد تا منجمد شود، سپس حدود ۱۰۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون باکتریایی توسط سمپلر به هر پتری دیش تزریق شد. برای تهیهٔ دیسک‌های آغشته به اسانس موردنظر، حدود ۱۰ میکرولیتر از غلظت ۴ میلی‌گرم بر میلی لیتر از اسانس در حلال DMSO توسط میکروپیپت به دیسک‌های کاغذی استریل به قطر ۶ میلی متر بارگذاری شد. دیسک‌ها در دمای اتاق و زیر هود خشک شدند تا حلال اضافی تبخیر شود، سپس با فواصل مناسب روی محیط کشت قرار داده شدند. پتری دیش‌ها به مدت ۳ ساعت درون یخچال و سپس

بـه مـدت ۱۸-۲۴ سـاعت در انکوبـاتور ۳۷ درجـهٔ سلسیوس قرار داده شدند. در پایان مدت گرماگذاری، فعالیـت ضـد میکروبـی اسـانس گیـاه *M. secacul*، با تشکیل هالهٔ عدم رشد مشخص شـد. قطر هاله‌ها انـدازه‌گیری و بـه میلی‌متـر گـزارش شـد (جدول ۳) (Firuzi et al. 2013). در این مطالعـه از آنتی بیوتیک آمپی‌سیلین برای باکتری‌های گرم مثبت و از آنتی‌بیوتیک جنتامایسین برای باکتری‌های گرم منفی به‌عنوان کنترل مثبت استفاده شد.

نتایج و بحث

آنالیز اسانس

در این تحقیق اسـانس گیـاه *M. secacul* از نظـر کیفی و کمی مورد بررسی قرار گرفت. بـازده اسـانس نسبت به وزن خشک گیاه ۰/۴۳ درصد وزنـی/ وزنـی محاسبه شد.

در کروماتوگرام TIC مربـوط بـه اسـانس انـدام هوایی این گیاه بـا بررسـی دقیـق زمان‌هـای بـازداری ترکیب‌هـا، شـاخص بـازداری، طیف‌هـای جرمـی و مقایسه تمامی این پارامترها با ترکیب‌هـای اسـتاندارد، ۲۳ تـرکیب شناسایی شد که ٪۹۸/۹۰ از کل اسانس را تشکیل می‌دادنـد (شکل ۲). فهرست کامل ترکیب‌های تشکل‌دهنـده اسـانس همـراه بـا شـاخص بـازداری و درصد نسبی در جـدول ۲ قـرار داده شـده اسـت. بـر اسـاس نتـایج حاصـله، تـرکیبات octyl acetate (٪ ۵۳/۴۲)، octanol (٪ ۳۳/۵۵)، limonene (۲/۲۴ ٪) و α-pinene (۱/۳۷ ٪) ترکیبات اصلی موجـود در اسانس گیاه *M. secacul* هستند.

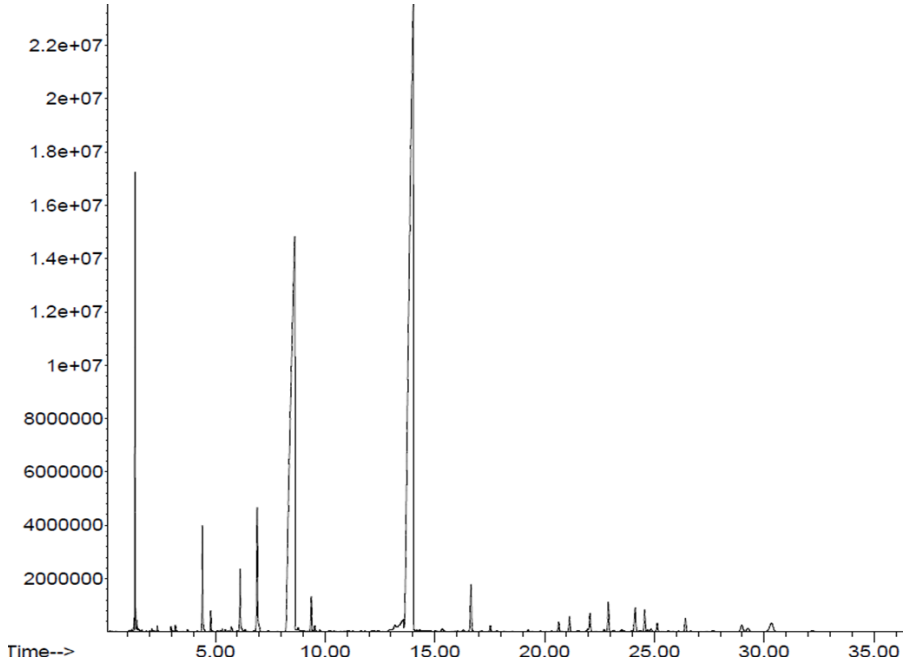
جدول ۲- نام و درصد کمی ترکیب‌های تشکیل‌دهندهٔ اسانس اندام هوایی گیاه *M. secacul*

ردیف	نام ترکیب	شاخص بازداری	درصد
۱	α-Pinene	۹۲۹	۱/۳۸
۲	Camphene	۹۴۵	۰/۲۹
۳	Myrcene	۹۵۸	۰/۱۲
۴	Octanal	۱۰۰۲	۱/۰۶
۵	Limonene	۱۰۲۵	۲/۲۵
۶	1,8-cineol	۱۰۲۸	۰/۱۵
۷	Octanol	۱۰۷۷	۳۳/۵۶

۸	Terpinolene	۱۰۸۲	۰/۱۲
۹	Linalool	۱۱۰۰	۰/۶۶
۱۰	Nonanal	۱۱۰۳	۰/۱۲
۱۱	α-terpineol	۱۱۹۶	۰/۴۳
۱۲	Octyl acetate	۱۲۱۴	۵۳/۴۲
۱۳	Octanoic acid	۱۲۰۶	۰/۹۲
۱۴	bornyl acetate	۱۲۷۹	۱/۰۴
۱۵	Octyl propionate	۱۳۰۰	۰/۱۱
۱۶	neryl acetate	۱۳۷۴	۰/۲۲
۱۷	trans-Caryophyllene	۱۴۰۸	۰/۵۴
۱۸	Butyric acid	۱۴۲۹	۰/۶۹
۱۹	4-Decanolide	۱۴۵۸	۰/۶۶
۲۰	Germacrene-D	۱۴۶۸	۰/۵۲
۲۱	Bicyclogermacrene	۱۴۸۲	۰/۲۰
۲۲	Spathulenol	۱۵۸۱	۰/۲۹
۲۳	Caryophyllene oxide	۱۵۸۸	۰/۱۶
	مجموع		**۹۸/۹۰**

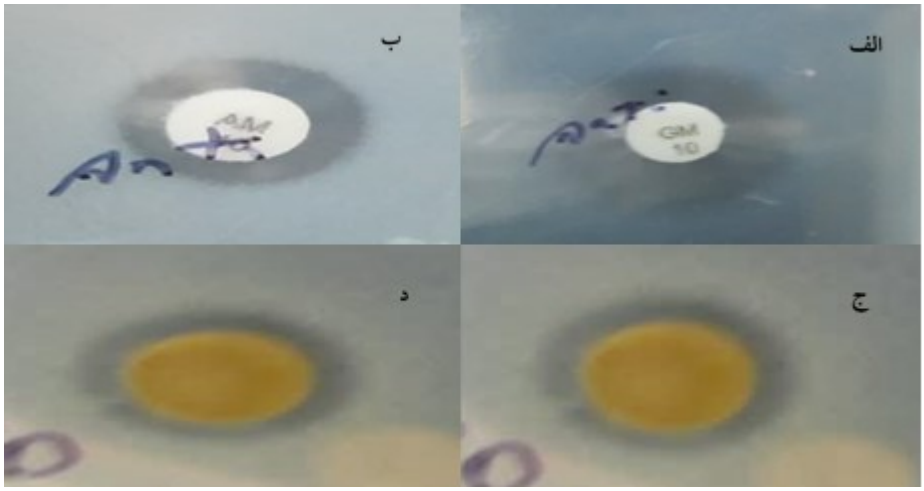
مطالعات فیتوشیمیایی گونه‌های *Malabaila* نشان داد که اجزای اصلی اسانس روغنی این گیاهان اغلب از ترکیبات استرهای آلیفاتیک و سسکوئی ترپن‌ها تشکیل شده‌اند. در سال ۲۰۱۹ مطالعه‌ای بر روی شناسایی ترکیبات اسانس ریشهٔ گونه *M. secacul* جمع‌آوری شده از دهستان سراوان واقع در استان گیلان انجام شد که ترکیبات اصلی اسانس n-hexyl isobutyrate (۸/۵ ٪) و hexyl hexanoate (۷/۸ ٪) گزارش شد (Hamedi et al. 2019). پژوهشگران ترکیه در سال ۲۰۰۹ میلادی، روغن اسانس اندام هوایی این گیاه را مورد بررسی قرار دادند و اجزای اصلی آن را butanoic acid (۳۷/۱ ٪)،

germacrene-D (٪ ۱۳/۴)، caryophyllene oxide (٪ ۱۰/۰) و β-caryophyllene (٪ ۵/۴) معرفی کردند (Bagci et al. 2015). اجزای سازنده اسانس ساقه و گل گیاه *M. secacual* که از منطقه سلطان آباد خراسان رضوی در مرحله گلدهی کامل در سال ۲۰۰۷ میلادی در ایران جمع آوری شد، توسط دستگاه GC/MS مورد بررسی قرار گرفت و اجزای اصلی اسانس ساقه elemene (٪ ۱۸/۵)، β-selinene (٪ ۱۷/۵) و germacrone (٪ ۱۶/۰) و اجزای اصلی اسانس گل hexyl 3-methyl butyrate (٪ ۲۶/۳)، β-elemene (٪ ۱۵/۸)، hexyl 2-methyl butyrate (٪ ۱۴/۹) و hexyl butyrate (٪ ۱۰/۶) گزارش شده است (Akhlaghi. 2010). یاری و همکاران در سال ۱۹۹۷ میلادی اسانس اندام هوایی این گیاه که از اسفراین سبزوار واقع در استان خراسان جمع‌آوری شده بود مورد بررسی قرار دادند. در این مطالعه ترکیبات β-elemene (٪ ۲۷/۱) و hexyl 3-methyl butyrate (٪ ۱۵/۶) به‌عنوان ترکیبات عمده تشکیل دهنده اسانس اندام هوایی گیاه *M. secacual* شناسایی شدند (Yari et al. 1999). علت تفاوت های بدست آمده در مواد تشکیل‌دهنده اسانس این گیاه در پژوهش حاضردر مقایسه با سایر مطالعات انجام گرفته توسط دیگر پژوهشگران را می‌توان به دلیل اندام گیاهی مورد مطالعه، زمان جمع‌آوری گیاه و یا تفاوت اکولوژیک محل رویش گیاه بیان کرد.



شکل ۲- کروماتوگرام TIC مربوط به اسانس اندام هوایی گیاه *M. secacul*

به منظور ارزیابی فعالیت ضد میکروبی اسانس قسمت هوایی گیاه *M. secacul*، از روش انتشار دیسک، پتانسیل ضدباکتریایی اسانس روی ۲ باکتری گرم مثبت و ۴ باکتری گرم منفی مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج این آزمایش‌ها در جدول ۳ نشان داده شده است. براساس نتایج جدول ۳، اسانس گیاه *M. secacul* بر روی رشد میکروارگانیسم *S. typhi* و *S. aureus* اثر بازدارندگی قابل ملاحظه‌ای نسبت به دیگر سویه‌ها و آنتی‌بیوتیک شاهد از خود نشان داد. همچنین سویه‌های *S. epidermidis*، *E. coli* و *P. aeruginosa* در مقابل اسانس *M. secacul* در غلظت مشخص شده حساسیت مناسبی نشان ندادند و سویه *K. pneumoniae* در مقابل اسانس *M. secacul* مقاوم بود (شکل ۳).



شکل ۳- هاله عدم رشد الف) جنتامایسین در مقابل سویه *S. typhi* ب) آمپی‌سیلین در مقابل سویه *S. aureus* ج) اسانس گیاه *M. secacul* در مقابل سویه *S. typhi* د) اسانس گیاه *M. secacul* در مقابل سویه *S. aureus*

دسته‌های مختلفی از ترکیبات فرار، مانند ترپن‌ها، الکل‌ها و استرهای اسیدهای چرب زنجیره کوتاه، فعالیت ضد باکتریایی در برابر گستره وسیعی از باکتری‌های بیماریزا نشان داده‌اند. در مطالعه پیش رو، بررسی اجزای اسانس این گیاه *M. secacul* نشان داد، در مجموع دو ترکیب با ساختار آلیفاتیک الکل (Octanol) و استر اسید چرب زنجیره کوتاه (Octyl acetate)، ۸۶/۹۸ درصد از اجزای اسانس را تشکیل داده اند. در پژوهشی که توسط محققان لهستانی بر روی خواص ضد باکتریایی Octanol در مقابل سویه *E. coli* انجام گرفت، نتایج نشان داد این ترکیب با حداقل غلظت بازداری (MIC) برابر ۰/۲۷ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر نسبت به آمپلی‌سیلن به‌عنوان کنترل مثبت با حداقل غلظت بازداری برابر ۰/۲ میلی‌گرم بر میلی لیتر، فعالیت ضد میکروبی قابل توجهی از خود نشان داد (Skalicka-Woźniak et al. 2017). همچنین

مطالعات متعددی نشان داده است که ترکیبات با ساختار استرهای اسیدهای چرب زنجیره کوتاه خواص ضد باکتریایی دارند (Aldunate et al. 2015; Aldunate et al. 2014). یک فرضیه این است که اسیدهای چرب زنجیره کوتاه و استرهای آنها به راحتی به غشای لیپیدی باکتری‌ها نفوذ کرده و آن را تخریب می‌کنند. با توجه به مطالب بالا می‌توان نتیجه گرفت فعالیت ضد میکروبی اسانس گیاه *M. secacul* می‌تواند مرتبط به حضور دو ترکیب Octanol و Octyl acetate به‌عنوان اجزای اصلی اسانس این گیاه است.

در پژوهشی دیگر حامدی و همکاران خواص ضد میکروبی اسانس ریشه گیاه *M. secacul* که اجزای اصلی آنرا ترکیبات n-hexyl isobutyrate (۸/۵ ٪) و hexyl hexanoate (۷/۸ ٪) تشکیل می‌دادند را در برابر چهار سویه *S.aureus*، *B.subtilis*، *E.coli* و *P. aeruginosa* مورد بررسی قرار دادند و نتایج نشان داد که اسانس ریشه این گیاه فعالیت ضد میکروبی قابل قبولی در برابر سویه های مورد مطالعه نداشت (Hamedi et al. 2019). پژوهشگران ترکیه فعالیت ضد میکروبی عصاره متانولی گیاه *M. secacul* را بررسی کردند. عصارهٔ این گیاه هیچ فعالیت ضدمیکروبی در برابر *S. aureus*، *B. subtilis*، *E. coli*، *Candida albicans* و *C. glabrata* نشان نداد. با این حال، عصاره فعالیت ضعیفی را در برابر سویه *C. krusei* با استفاده از روش انتشار دیسک نشان داد (Tosun et al. 2006).

جدول ۳- فعالیت ضد باکتری اسانس اندام هوایی گیاه *M. secacul*

ردیف	میکروارگانیسم	اسانس (۱۰µl/disc)	آنتی بیوتیک استاندارد** (۱۰µg/disc)
۱	*Staphylococus aureus*	*۱۲/۵	۱۵
۲	*Staphylococcus epidermidis*	۱۱	۱۶/۱
۳	*Escherichia coli*	۹/۹	۱۷/۳
۴	*Pseudomonas aeruginosa*	۸	۱۸/۱
۵	*Klebsiella pneumoniae*	-	۱۸/۵
۶	*Salmonella typhi*	۱۴/۶	۲۰/۱

* قطر عدم رشد به میلی‌متر، ** آنتی‌بیوتیک (آمپی‌سیلین برای باکتری‌های گرم مثبت و جنتامایسین برای باکتری‌های گرم منفی)

نتیجه‌گیری

بررسی ترکیبات موجود در اسانس اندام هوایی گیاه *M. secacul* در مطالعه پیش رو و مقایسه آن با دیگر مطالعات مشابه روی این گیاه نشان داد که شرایط اکولوژیک رویش گیاه، اندام گیاهی مورد بررسی، و همچنین زمان جمع‌آوری می‌تواند نقش بسزایی در میزان و نوع ترکیبات اصلی سازندهٔ اسانس گیاه داشته باشد. از سوی دیگر نتایج نشان داد اسانس حاصل از این گیاه اثر بازدارندگی قابل ملاحظه‌ای بر روی برخی سویه های باکتریایی دارد و با توجه به این پتانسیل، می‌توان از اسانس این گیاه در صنایع غذایی و بهداشتی استفاده کرد.

فهرست منابع

References

Akhlaghi H. 2010. Chemical composition of the essential oil from stems and flowers of *Malabaila secacul* (Miller) Boiss. from northeast Iran. Journal of Essential Oil Bearing Plants. 13: 135-138.

Aldunate M, Srbinovski D, Hearps AC, Latham CF, Ramsland PA, Gugasyan R, Cone RA, Tachedjian G. 2015. Antimicrobial and immune modulatory effects of lactic acid and short chain fatty acids produced by vaginal microbiota associated with eubiosis and bacterial vaginosis. Frontiers in Physiology. 6:164.

Aldunate M, Tyssen D, Latham C, Ramsland P, Perlmutter P, Moench T, Cone R, Tachedjian G. 2014; Vaginal concentrations of lactic acid potently inactivate HIV-1 compared to short chain fatty acids present during bacterial vaginosis. AIDS research and human retroviruses. 30: A228-A228.

Aryakia E. 2020. Study on anti-acetylcholinesterase, anti-tyrosinase, and antioxidant activities, and total phenolic content of nine Apiaceae species. Iranian Journal of Medical and Aromatic Plants. 36: 560-571.

Bagci E and Dogan G. 2015. Composition of the essential oils of two Umbelliferae herbs (*Artedia squamata* and *Malabaila secacul*) growing wild in Turkey. Journal of Essential Oil Bearing Plants. 18: 44-51.

Dhalwal K, Shinde V, Namdeo A, Mahadik K. 2008. Antioxidant Profile and HPTLC-Densitometric Analysis of Umbelliferone and Psoralen in Aegle marmelos. Pharmaceutical Biology. 46: 266-272.

Firuzi O, Miri R, Asadollahi M, Eslami S, Jassbi AR. 2013. Cytotoxic, antioxidant and antimicrobial activities and phenolic contents of eleven Salvia species from Iran. Iran J Pharm Res. 12(4): 801–810.

Hamedi A, Lashgari AP, Pasdaran A. 2019. Antimicrobial activity and analysis of the essential oils of selected endemic edible Apiaceae plants root from Caspian Hyrcanian region (North of Iran). Pharmaceutical Sciences. 25: 138-144.

Harounabadi S, Shokouhi Mostafavi SK, Eghbali Shamsabad P, Meybodi SM. 2015. Measurement of antimicrobial activity of isolated bacteria from the Caspian sea and molecular identification of strains with antimicrobial effect. Biological Journal of Microorganism. 15: 167-178**.**

Khoshbakht K, Hammer K, Pistrick K. 2007. Eryngium caucasicum Trautv. cultivated as a vegetable in the Elburz Mountains (Northern Iran). Genetic resources and crop evolution. 54: 445-448.

Kiliç Ö. 2014. Essential oils composition of two endemic Umbelliferae herbs growing wild in Turkey. Journal of Agricultural Science and Technology. A 4.

Küpeli E, Tosun A, Yesilada E. 2006. Anti-inflammatory and antinociceptive activities of *Seseli L*. species (Apiaceae) growing in Turkey. Journal of Ethnopharmacology. 104: 310-314.

Lee H-J and Park S-N. 2011. Antioxidative effect and active component analysis of *Quercus salicina* Blume extracts. Journal of the Society of Cosmetic Scientists of Korea. 37: 143-152.

Lo-Cantore P, Iacobellis N, De-Marco A, Capasso F, Senatore F. 2004. Actividad antibacteriana de Coriander sativum L. y Foeniculum vulgare Miller Var. aceites esenciales vulgare (Miller). J Agri Food Chem. 52:7862-7866.

Moghaddam M and Mehdizadeh L. 2017. Chemistry of essential oils and factors influencing their constituents. In: Soft chemistry and food fermentation. Elsevier. 379-419.

Mozaffarian V. 1996. A dictionary of Iranian plant names. Tehran: Farhang Moaser 396:396-398.

Shibamoto T. 1987. Retention indices in essential oil analysis. Huethig Verlag, New York; 1987.

Skalicka-Woźniak K, Grzegorczyk A, Świątek Ł, Walasek M, Widelski J, Rajtar B, Polz-Dacewicz M, Malm A, Elansary HO. 2017. Biological activity and safety profile of the essential oil from fruits of *Heracleum mantegazzianum* Sommier & Levier (Apiaceae). Food and Chemical Toxicology. 109:820-826.

Tosun A, Bahadir Ö, Altanlar N. 2006. Antimicrobial activity of some plants used in folk medicine in Turkey. Turk J Pharm Sci. 3:167-176.

Tzakou O, Mylonas P, Hancianu M, Poiata A. 2008. Composition and antimicrobial activity of Malabaila aurea Boiss. essential oil. Journal of Essential Oil Research. 20:270-271.

Vashist H and Jindal A. 2012. Antimicrobial activities of medicinal plants–Review. Int J Res Pharm Biomed Sci 3:222-230.

Vickers NJ. 2017. Animal communication: when i'm calling you, will you answer too? Current biology 27:R713-R715.

Vučković IM, Vujisić LV, Todosijević M, Stesevic D, Milosavljević SM, Trifunović SS. **2014**; Volatile constituents of different plant parts and populations of *Malabaila aurea* Boiss. from Montenegro. Records of Natural Products 8:148-155.

Yari M, Aghjani Z, Masoudi S, RUSTAIYAN AMA. 1999. Essential oils of *Pycnocycla flabellifolia* (Boiss.) Boiss. and *Malabaila secacule* (Miller) Boiss. from Iran. DARU Journal of Pharmaceutical Sciences 7:1-3.

Evaluation of Chemical Constituents and Antimicrobial Properties of the Essential Oil from *Malabaila secacul*, Collected from Fars Province

Hossein Hadavand Mirzaei[1*], Mahdi Zare[2] and Seyed Mohammad Hosseini[3]

1- Assistant Professor Department of Molecular Physiology, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran

2- MSc. Medicinal and Natural Products Chemistry Research Center, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

3- PhD. Student, Department of Agricultural Biotechnology, National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology, Tehran, Iran

h_hadavand@sabrii.ac.ir

Abstract

In the present study, to evaluate the chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Malabaila secacul*, the aerial parts of this plant were collected from the vicinity of khanzenyan in Fars province during full flowering stage in April 2013. The plant samples were cleaned and dried in the shade, Hydrodistillation method was used to extract the essential oil. The oil yield was 0.43% (w/w) of the dry plant material. The obtained essential oil was analyzed by capillary gas chromatography (GC) using flame ionization (FID) and capillary gas chromatography coupled mass spectrometry (GC/MS) for identification. Twenty-three compounds were detected in the essential oil of *Malabaila secacul* which concluded 98.90% of the total oil. The major components were Octyl acetate (53.42 %), Octanol (33.55 %), Limonene (2.24 %) and α-Pinene (1.37 %). The antimicrobial activity of the essential oil was evaluated against 6 bacterial strains using the disc diffusion method. The results showed that *M. secacul* essential oil has considerable antimicrobial effects, on *Salmonella typhi* and *Staphylococcus aureus*. According to the obtained results, the essential oil of this plant can be considered for usage in food and health industries.

Keywords: *Malabaila secacul*, Essential oil, Antimicrobial activity, GC/MS