



مطالعه تاثیر آنتی باکتریال اسانس مریم گلی (*Salvia officinalis*) و مقایسه آن با داروی کلرهگزیدین بر روی عوامل باکتریایی حفره دهانی

حجت اقبال^۱، آرزو محمدی^۲، نیما محمدنژاد خیای^{۳*}، ندا جهانی^۴

- ۱- گروه فیتوشیمی، دانشکده شیمی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
 ۲- گروه دندانپزشکی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
 ۳- گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
 ۴- بخش تحقیق و توسعه، شرکت دانش بنیان پژوهشگران داروی سبز، مشکین شهر، ایران

چکیده

مقاله پژوهشی اصیل

مقدمه

مریم گلی (*Salvia Officinalis*) یک گیاه علفی متعلق به تیره نعنائیان (*Labiatae*) است. مریم گلی از مهم ترین گیاهان دارویی است که در طب سنتی و نوین به عنوان ضد عفونی کننده مورد استفاده قرار می گیرد. هدف از این تحقیق، مطالعه تاثیر آنتی باکتریال اسانس مریم گلی و مقایسه آن با داروی کلرهگزیدین بر روی برخی از باکتری های شایع عفونت دهانی بود.

مواد و روش ها

در این تحقیق گیاه دارویی مریم گلی از مزرعه تحقیقاتی شرکت دانش بنیان پژوهشگران داروی سبز مشکین شهر، واقع در شمال غرب ایران جمع آوری گردید. اسانس گیری توسط دستگاه کلونجر انجام و جهت تجزیه نمونه های اسانس و اندازه گیری دقیق ترکیبات، از دستگاه های GC و GC/MS استفاده شد. سپس تاثیر اسانس مریم گلی بر باکتری های شایع عفونت دهانی به دو روش بررسی قطر هاله عدم رشد (*Disk deffusion*) و حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) انجام شد.

یافته ها

نتایج حاصل از آزمایشات ضد میکروبی اسانس گیاه دارویی مریم گلی نشان داد که این گیاه، دارای اثرات مهارکنندگی قابل توجهی بر روی انواع باکتری های گرم منفی و مثبت است. همچنین در مقایسه قطر هاله عدم رشد مریم گلی با کلرهگزین، مشخص شد که اسانس این گیاه دارویی، نتایج نسبتاً مشابهی را نسبت به دهان شویه کلرهگزین از خود نشان می دهد.

نتیجه گیری

طبق یافته ها، اسانس گیاه دارویی مریم گلی آثار ضد میکروبی مناسبی علیه باکتری های شایع عفونت دهانی دارد. در نتیجه اسانس این گیاه با غلظت های مختلف، پس از انجام مطالعات تکمیل تر می تواند جایگزین مناسبی برای داروها و دهان شویه های شیمیایی در درمان باکتری های شایع عفونت دهانی باشد.

کلیدواژه ها

مریم گلی، اسانس، باکتری های دهانی، عوامل آنتی باکتریال، کلرهگزیدین

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۰/۲۴

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۸/۱۶

*نویسنده مسئول: نیما محمدنژاد

خیای، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

تلفن: ۰۹۳۷۳۴۸۲۸۵۱

پست الکترونیک:

nimanejad7@yahoo.com



مقدمه

گیاهان دارویی طی قرون متمادی تنها منبع قابل دسترس جهت درمان بوده‌اند. در عصر حاضر نیز با وجود پیشرفت و توسعه چشمگیر داروهای سنتزی، هنوز گیاهان دارویی و اشکال دارویی حاصل از آن‌ها در مقیاس وسیعی مورد استفاده قرار می‌گیرد. به‌طوریکه در برخی کشورها از اجزا جدا نشدنی سیستم دارو درمانی محسوب می‌شوند (۱).

گیاه مریم‌گلی با نام علمی *Salvia Officinalis* با ارزش‌ترین نوع دارویی تیره نعناع و دارای خواص درمانی مهمی است (۲). مریم‌گلی گیاهی بوته‌ای به ارتفاع ۳۰ تا ۶۰ سانتی‌متر و دارای ظاهری پرپشت است که به حالت خودرو در مناطق خشک یا سنگ‌لاخی و دامنه‌های بایر غالب نواحی آسیا و شمال آفریقا می‌روید (۲). مهمترین اثرات دارویی گزارش شده مریم‌گلی عبارتند از: ضد عفونی‌کننده؛ ضد اسپاسم؛ قابض؛ آرامش‌بخش؛ کاهش‌دهنده قند خون؛ ضد التهاب؛ و کاهش‌دهنده تعریق (۲).

عفونت‌های دهان و دندان از جمله شایع‌ترین عفونت‌های انسانی در سراسر جهان است. باکتری‌ها، از اصلی‌ترین عوامل بروز عفونت دهان و دندان هستند. این عفونت‌ها اغلب به صورت چند میکروبی با دخالت بیش از یک باکتری بی-هوازی و در بسیاری موارد نیز با دخالت باکتری‌های هوازی - بی‌هوازی اختیاری دیده می‌شوند. تقریباً در ایجاد تمامی عفونت‌های دندانی حائز اهمیت از نظر بالینی، از جمله عفونت‌های اندودونتیک و آبسه‌های پری اپیکال، این نوع باکتری‌ها نقش دارند (۳).

از آنجایی که پرورش گیاهان دارویی در ایران از موقعیت خوبی برخوردار است و از سوی دیگر، عوارض جانبی و سمی گیاهان دارویی در صورت کاربرد صحیح، در مقایسه با داروهای شیمیایی بسیار ناچیز و در بسیاری از موارد قابل چشم‌پوشی است (۴، ۵، ۶)؛ بر این اساس سعی شده است تا

اثر ضد میکروبی اسانس مریم‌گلی مورد مطالعه قرار گیرد و این خود مقدمه‌ای جهت مطالعات بعدی و زیربنایی برای امکان کاربرد آن به‌عنوان یک داروی ضد میکروب مستقل یا همراه با دیگر ترکیبات ضد میکروبی است؛ بنابراین، هدف از این تحقیق، بررسی اجزای تشکیل‌دهنده اسانس گیاه دارویی مریم‌گلی جمع‌آوری شده از مشکین‌شهر و خاصیت آنتی‌باکتریال آن در مقایسه با کلرهگزیدین بر روی باکتری-های شایع عفونت دهانی بود

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری و شناسایی گیاه: پس از انتخاب مزرعه تحقیقاتی شرکت دانش‌بنیان پژوهشگران داروی سبز که در شهرستان مشکین‌شهر واقع در شمال‌غرب ایران بود، در فصل بهار، زمان رویش و گل‌دهی، جهت جمع‌آوری گیاه به منطقه مورد نظر مراجعه شد. به‌طور تصادفی از سه محل متفاوت جمع‌آوری گردید. در هنگام جمع‌آوری، اندام مورد مصرف که شامل سرشاخه‌ها با گل همراه برگ بود، از بقیه قسمت‌های گیاه توسط دست جدا گردید و شماره‌گذاری شد. پس از انتقال نمونه‌های جمع‌آوری شده به هرباریوم مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اردبیل، و با استناد به کلیدهای گیاه‌شناسی و فلور ایران و منابع موجود و تأیید متخصصین گیاه‌شناسی با کد هرباریومی Aanr-۱۷۲۴ مورد شناسایی شد.

تمیز و خشک کردن: پس از جمع‌آوری و شناسایی گیاه مورد نظر، اندام‌های هوایی گیاه تمیز شده و در شرایط سایه در گرم‌خانه مجهز به تهویه، در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد، خشک شدند.

آسیاب، الک و توزین کردن: بعد از خشک شدن، به‌وسیله دستگاه آسیاب مدل مولینکس ساخت کشور اسپانیا، اقدام به خرد کردن اندام‌های گیاه مورد نظر در قطعات ریز گردید.



پس از الک کردن بوسیله الک آزمایشگاهی پارس (Testsieve-Mesh No.) یک گرم از هر کدام با ترازوی دیجیتال مدل ساتریوس (Sartorius) ساخت کشور آلمان با دقت 0.001 g توزین شدند.

روش بررسی فیتوشیمیایی گیاه: اسانس گیاه (۵۰ گرم) به روش تقطیر با آب به کمک دستگاه اسانس‌گیری تیپ کلونجر استخراج گردید (سه بار مجزا) و پس از آب‌گیری توسط سولفات سدیم بدون آب تا زمان آنالیز در ظرف شیشه‌ای تیره در دمای یخچال نگهداری شد.

آنالیز اسانس: برای شناسایی اجزای تشکیل دهنده اسانس از روش‌های تجزیه‌ای GC/MS و GC/FID استفاده شد. برای آنالیز GC/FID از دستگاه گاز کروماتوگراف HP-6890 با ستون مووین DB-5 (به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت فیلم ۰/۲۵ میکرومتر) مجهز به دتکتور FID استفاده گردید. حرارت اجاق از ۵۰ تا ۲۶۵ درجه سانتی‌گراد با گرادیان حرارتی $2/5^\circ\text{C/ml}$ برنامه‌ریزی شد. سایر شرایط آنالیز عبارت بود از: گاز حامل N_2 با سرعت $1/5^\circ\text{C/ml}$ دمای محفظه تزریق ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد؛ دمای دتکتور ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد؛ نسبت اسپیلیت ۱:۱۰ و حجم تزریق ۰/۱ میکرولیتر. جهت آنالیز GC/MS از دستگاه GC مدل Thermoquest 2000 متصل به طیف نگار جرمی مدل Thermofinnigan Mass مجهز به ستون مووین DB-1 (به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت فیلم ۰/۲۵ میکرومتر) استفاده شد. شرایط آنالیز مشابه شرایط آنالیز GC/FID بود با این تفاوت که از گاز حامل He به‌عنوان حامل استفاده گردید. ولتاژ یونیزاسیون 70 eV بود و محدوده جرمی جهت ردیابی $35-350 \text{ amu}$ تنظیم گردید. درصد نسبی هر یک از ترکیبات با توجه به سطح زیر منحنی هر ترکیب در طیف کروماتوگراف گازی

(GC/FID) محاسبه گردید. شناسایی اجزا با کمک پارامتراندیس بازداری و طیف‌های جرمی و مقایسه آن‌ها با ترکیبات استاندارد و اطلاعات موجود در بانک اطلاعات جرمی و مقایسه آن‌ها با ترکیبات استاندارد و اطلاعات موجود در بانک اطلاعات جرمی Wiley275.L صورت گرفت (۷). به‌منظور تعیین میزان اسانس در گیاه، مقدار ۵۰ گرم از سرشاخه خشک شده به صورت تصادفی انتخاب شد. هر نمونه بعد از آسیاب شدن، به درون یک بالن یک لیتری ریخته شد و مقدار ۳۰۰ میلی‌لیتر آب به آن اضافه شد؛ سپس به مدت ۴ ساعت، با استفاده از روش تقطیر با آب به‌وسیله دستگاه کلونجر (Clevenger)، اسانس‌گیری صورت گرفت. اسانس به‌دست آمده توسط سولفات سدیم بدون آب، آب‌گیری شد و در نهایت، درصد و عملکرد اسانس تعیین شد. اسانس مورد نظر پس از آماده‌سازی به دستگاه گاز کروماتوگرافی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC/MS) تزریق شد. شناسایی نوع ترکیبات اسانس با کمک طیف نرمال آلکان‌ها و به‌دست آوردن شاخص بازداری آن‌ها و مقایسه آن با شاخص بازداری گزارش شده در کتاب Adams و مقایسه طیف جرمی هر یک از اجزای اسانس با طیف جرمی موجود در کتابخانه Willy نرم‌افزار GC/MS انجام پذیرفت. هم-چنین با استفاده از دستگاه GC درصد ترکیبات اسانس تعیین شد (۸-۷).

تعیین غلظت اسانس مریم‌گلی: برای تعیین غلظت اسانس، به مقدار یک میلی‌لیتر از اسانس در داخل ظرفی از قبل توزین شده ریخته و پس از طی ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد و خشک شدن اسانس، وزن آن در دوباره تعیین شد. میانگین سه بار تکرار آزمایش به‌عنوان وزن خشک اسانس در نظر گرفته شد و غلظت آن در میلی-لیتر محاسبه شد.



سویه‌های باکتریایی: در این مطالعه تأثیر اسانس گیاه دارویی مریم‌گلی بر باکتری‌های شایع عفونت دهانی که از مجموعه باکتری‌ها و قارچ‌های صنعتی و عفونی ایران تهیه شده بودند، مورد بررسی قرار گرفت. این باکتری‌ها شامل: استرپتوکوکوس موتانس (ATCC 35668)؛ استرپتوکوکوس سانگویس (ATCC 10556)؛ استرپتوکوکوس سوبرینوس (ATCC 19258)؛ استرپتوکوکوس سوبرینوس (ATCC 27607)؛ کلبسیلا نمونیه (ATCC 10031)؛ اشیشیا کلی (ATCC 13706)؛ سودوموناس آئروژینوزا (ATCC 9027)؛ و ایکنلا کوردنس (ATCC 23834) بودند.

تهیه دیسک‌های حاوی اسانس: در این آزمایش دیسک‌های استریل با غلظت ۵۰ mg/ml از اسانس تهیه شد، جهت تهیه دیسک‌های حاوی اسانس، از دیسک‌های بلانک ساخت پادتن طب استفاده شد. بدین ترتیب که دیسک‌های بلانک در لوله‌های حاوی رقت‌های تعیین شده اسانس قرار داده شد. سپس ۵ تا ۳ دقیقه پس از جذب کامل، دیسک‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا کاملاً خشک شده و جهت دیسک‌گذاری آماده شوند (۹).

بررسی فعالیت ضد میکروبی: جهت بررسی فعالیت‌های ضد میکروبی اسانس گیاه دارویی مریم‌گلی از روش بررسی قطر هاله عدم رشد (Diskdiffusion) و حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) استفاده شد. جهت انجام این آزمایش باکتری‌های مورد مطالعه روی محیط کشت Tryptic Soy Broth جهت تکثیر اولیه کشت داده شدند، از محیط کشت مولر هینتون آگار برای داشتن تک کلنی و از روش‌های انتشار دیسک و حداقل غلظت مهارکنندگی رشد باکتری (MIC) جهت تعیین حساسیت باکتریایی استفاده شد. در روش Disk diffusion از باکتری‌هایی که در محیط کشت رشد کرده‌اند، سوسپانسیونی در سرم فیزیولوژیک به تعداد 3×10^8 CFU/ml تهیه شد. سپس ۵۰ میکرولیتر از این

سوسپانسیون را روی محیط مولر هینتون آگار، حاوی ۵ درصد خون تلقیح گردید. سپس دیسک‌های تهیه شده روی پلیت قرار داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. سپس پلیت‌ها از نظر وجود هاله عدم رشد بررسی گردید. از دیسک‌های استاندارد آموکسی‌سیلین به‌منظور کنترل مثبت استفاده شد. با اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد اطراف دیسک‌ها به وسیله خط‌کش میلی‌متری انجام شد و نتایج مورد بررسی قرار گرفت. علاوه بر روش دیسک گذاری، حساسیت هرسویه از باکتری‌های مورد نظر نسبت به اسانس به‌دست آمده از گیاه مریم‌گلی با استفاده از روش رقیق‌سازی در محیط مایع در پلیت‌های ۹۶ خانه‌ای ته‌گرد، مورد بررسی قرار گرفت. به-خانه‌های ردیف اول پلیت فقط محیط کشت و سوسپانسیون باکتری اضافه گردید. در ردیف بعدی به ۶ خانه از پلیت‌ها، مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از محیط مایع مغذی مولر هینتون اضافه شد. به چاهک اول ۱۰۰ میکرولیتر از اسانس گیاه به-غلظت ۱۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر اضافه شده و تا چاهک ششم به ترتیب غلظت‌های ۲-۶-۹-۱۲-۱۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر اسانس که با روش رقیق‌سازی تهیه شده بود، اضافه گردید. به هر چاهک مقدار ۲۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری معادل ۰/۵ مک‌فارلند اضافه شد. از داروی آموکسی‌سیلین برای کنترل مثبت استفاده شد. محتویات هر چاهک، ۲ دقیقه به‌وسیله دستگاه Plate Reader مجهز به تکان دهنده با هم مخلوط شده و در زمان صفر عمل طیف سنجی با طول موج ۶۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۵ درجه سانتی-گراد گرم‌خانه‌داری شدند و کدورت و یا عدم کدورت چاهک‌ها به‌صورت چشمی مورد ارزیابی قرار گرفتند. اولین رقتی که توانست کمترین میزان کدورت را نشان دهد به-عنوان حداقل غلظت کشنده تعیین گردید. این آزمایش در



سه تکرار جداگانه انجام و میانگین سه تکرار برای هر چاهک برای تعیین کمترین غلظت بازدارنده مورد استفاده قرار گرفت.

آنالیز آماری داده‌ها: تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نسخه ۲۴ نرم افزار SPSS و آزمون تحلیل واریانس داده‌ها (ANOVA) انجام گرفت. مرز معنی‌داری در $P < 0/05$ قرار داده شد.

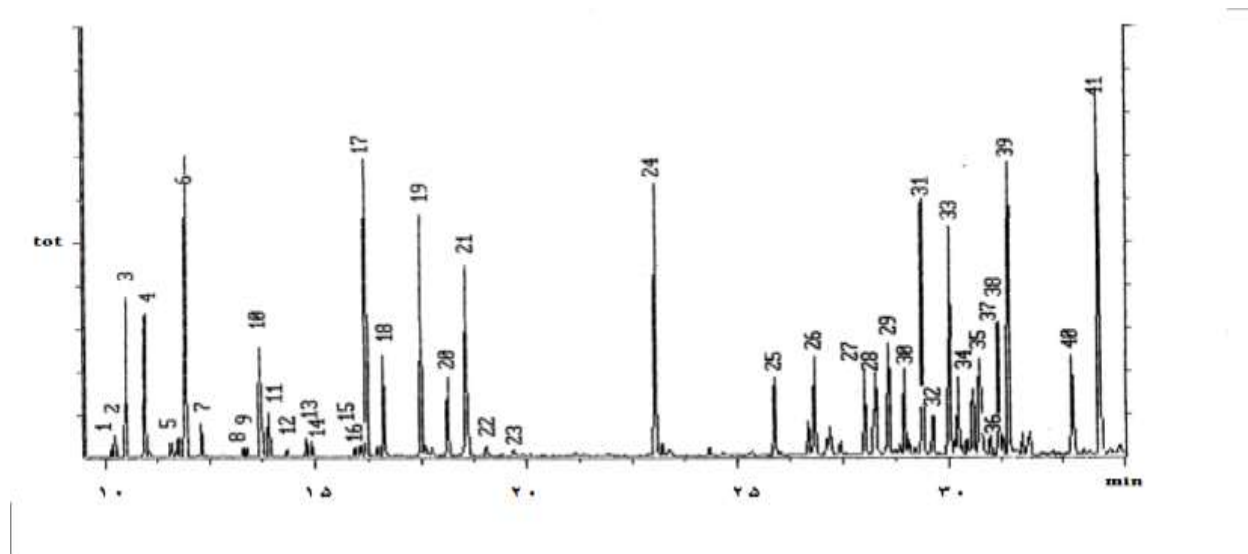
یافته‌ها

اسانس حاصل از مریم‌گلی، به رنگ زرد کم‌رنگ (مایل به نارنجی) و با بوی مشخص و تند، به میزان ۰/۶ درصد بود. در

اسانس گیاه دارویی مریم‌گلی، مواد عمده زیر شناسایی شدند (جدول ۱). با توجه به جدول ۱، اسانس گیاه دارویی مریم‌گلی دارای ترکیبات فنلی و ضد میکروبی زیادی است که از مهم‌ترین این ترکیبات می‌توان به لیمونن، آلفاپینن، میرسن، بتاپینن، بتا-کاریوفیل اشاره کرد. در میان این ترکیبات خاصیت ضد میکروبی و ضد قارچی آلفاپینن از همه بیشتر است (۱۰). نتایج حاصل از آنالیز GC برای اسانس گیاه دارویی مریم‌گلی نیز در شکل ۱ آورده شده است.

جدول شماره ۱- ترکیبات تشکیل دهنده اسانس گیاه دارویی مریم‌گلی (*Salvia officinalis*)

نام ترکیب	شاخص بازداری	درصد ماده موجود	نام ترکیب	شاخص بازداری	درصد ماده موجود
Tricycln	۹۳۰	۰/۵	Borneol	۱۲۴۵	۹/۴
Thujene	۹۴۰	۰/۲	(t) Pinocamphene	۱۲۶۸	۰/۳
α -Pinene	۹۶۶	۲	Terpinene-4-ol	۱۲۷۳	۶/۴
Camphene	۹۸۷	۱/۷	Brinell acetate	۱۲۸۵	۰/۲
β -Pinene	۹۹۰	۰/۳	β - Cobain	۱۳۴۹	۰/۲
Octene	۱۰۰۰	۴/۲	δ - Elemene	۱۳۷۵	۰/۱
Myrcene	۱۰۲۹	۰/۶	α -Guorjenone	۱۴۰۹	۱/۴
α -Terpinene	۱۰۳۳	۰/۳	β - Caryophyllene	۱۴۱۸	۰/۲
P-Cymene	۱۰۴۵	۰/۳	β - Guorjenone	۱۴۲۸	۱/۶
Limonene	۱۰۴۷	۱/۲	Aromadendrons	۱۴۳۸	۳/۹
Cineol-1,8	۱۰۶۸	۰/۲۵	α -Humulene	۱۴۵۳	۵
Cis -Ocimene	۱۰۷۳	۰/۶	Aromadendrons (ALLO)	۱۴۶۱	۳/۱
γ -Terpinene	۱۰۸۹	۰/۸	γ - Marilyn	۱۴۷۷	۰/۷
Trans-Sabinene hydrate	۱۱۰۴	۰/۴	D -Germacrene	۱۴۸۱	۰/۶
Terpinolene	۱۱۱۹	۱/۲	Valencene	۱۴۹۶	۱/۸
Cis-Sabinene hydrate	۱۱۲۲	۱/۶	α - Marilyn	۱۵۰۲	۰/۷
Linalool	۱۱۳۹	۹/۳	γ -Kadynn	۱۵۱۶	۱/۶
α -Thujene	۱۱۴۲	۱/۳	δ -Kadynn	۱۵۲۶	۵/۵
β -Thujone	۱۱۵۱	۸/۴	Ledene	۱۵۷۳	۱/۴
Camphor	۱۱۶۴	۲/۹	Globule	۱۶۰۰	۱۶



شکل ۱- کروماتوگرام GC اسانس گیاه دارویی مریم‌گلی (*Salvia officinalis*)

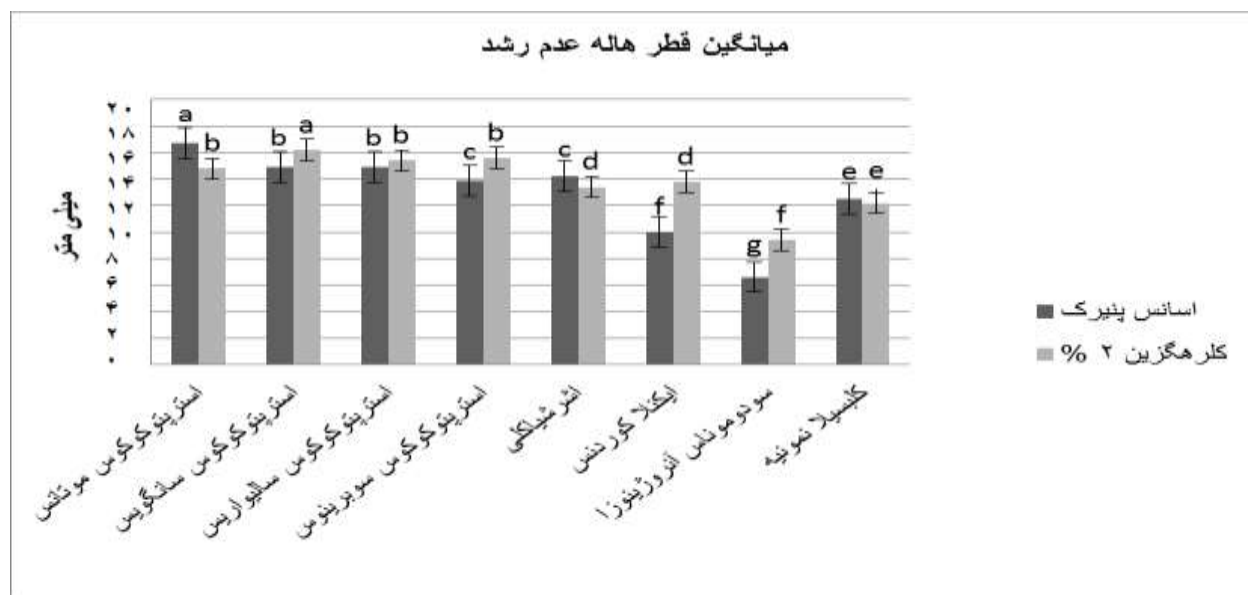
نتایج حاصل از آزمایشات ضد میکروبی در شکل ۲ و مقادیر MIC اسانس گیاه دارویی مریم‌گلی بر باکتری‌های عامل عفونت دهانی در جدول ۲ نمایش داده شده است. پس از انجام آزمون آنتی‌باکتریال مشخص گردید که اسانس گیاه دارویی مریم‌گلی دارای اثرات مهارکنندگی قابل توجهی بر روی انواع باکتری‌های گرم منفی و مثبت می‌باشد. نتایج حاصل از آنالیز آماری نشان داد در مورد اسانس گیاه مریم‌گلی، اختلاف معناداری در میزان هاله عدم رشد در باکتری‌های مورد مطالعه مشاهده گردید ($P < 0.05$)، که نشان دهنده این است که اسانس گیاه مریم‌گلی بر روی باکتری‌های مختلف اثر مهارکنندگی متفاوتی دارد. در بررسی اثر اسانس گیاهی بر قطر ممانعت از رشد باکتری‌ها، مشخص شد که بیشترین قطر هاله ممانعت از رشد توسط اسانس گیاه دارویی مریم‌گلی مربوط به *استرپتوکوکوس موتانس* با قطر هاله‌ی ۱۶/۴ میلی‌متر و پس از آن *استرپتوکوکوس سانگویس* با قطر هاله‌ی ۱۴/۲ میلی‌متر و کم‌ترین قطر هاله

عدم رشد مربوط به باکتری *سودوموناس آنروژینوزا* با ایجاد هاله‌ی ۶/۱ میلی‌متری می‌باشد. در مقایسه خاصیت آنتی-باکتریال اسانس مریم‌گلی و دهانشویه کلرگزیدین (شکل ۲)، نتایج حاصل از آنالیز آماری نشان داد که در میانگین قطر هاله عدم رشد اسانس مریم‌گلی و دهانشویه کلرگزیدین بر روی باکتری‌های *استرپتوکوکوس سالیواریس* و *کلبسیلا نمونیه* اختلاف معنی‌دار وجود ندارد ($P < 0.05$). همچنین این نتیجه به دست آمد که خاصیت آنتی‌باکتریال اسانس مریم‌گلی بر روی باکتری *استرپتوکوکوس موتانس* از دهانشویه کلرگزیدین بیشتر است و این اختلاف معنی‌دار می‌باشد. از سوی دیگر، افزایش نسبی در میانگین قطر هاله عدم رشد توسط اسانس مریم‌گلی بر روی باکتری *کلبسیلا نمونیه* نسبت به دهانشویه کلرگزیدین مشاهده شد، اما این اختلاف معنی‌دار نبود؛ بنابراین، باتوجه به نتایج به‌دست آمده از مقایسه میانگین قطر هاله عدم رشد مریم‌گلی با کلرگزین بر روی باکتری‌های شایع عفونت دهانی، مشخص



به اسانس مورد مطالعه از خود نشان دارند. هم‌چنین می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که اثرات مهارکنندگی اسانس این گیاه بر روی باکتری‌های گرم مثبت (استرپتوکوکوس موتانس و استرپتوکوکوس سانگویس) بیشتر از باکتری‌های گرم منفی (سودوموناس آنروژینوزا) است.

شد که اسانس گیاه دارویی مریم‌گلی نتایج به نسبت مشابهی را نسبت به دهان‌شویه کلرهگزین از خود نشان می‌دهد. نتایج حاصل از حداقل غلظت مهارکنندگی اسانس گیاه دارویی مریم‌گلی (جدول ۲) نشان داد که باکتری‌های استرپتوکوکوس موتانس، استرپتوکوکوس سانگویس، اشرشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه بیشترین حساسیت را نسبت



شکل ۲- نتایج حاصل از میانگین قطر هاله عدم رشد اسانس مریم‌گلی علیه باکتری‌های جدا شده از بیماران بر حسب میلی‌متر در سه تکرار.

بحث

یکی از شایع‌ترین اپیدمی‌های عفونی عموم بشر در کنار پوسیدگی دندان، عفونت‌های حفره دهان و گلو می‌باشد. در حقیقت حلقه گمشده در سلامت عمومی مردم به سلامت دهان و دندان مربوط است. به طور کلی عفونت حفره دهان و گلو را نباید ساده تلقی کرد، چون ممکن است عفونت از این قسمت‌ها به فضا‌های مهمی که به وسیله عضلات و فاسیا پوشانده شده باشند، گسترش یابد. بعضی از این عفونت‌ها کاملاً شدید و حتی به عنوان تهدیدی برای زندگی مطرح‌اند. مصرف آنتی‌بیوتیک می‌تواند برای عفونت‌های گلو و دهان

جدول ۲- مقادیر MIC اسانس گیاه دارویی مریم‌گلی بر

باکتری‌های عامل عفونت دهانی

ردیف	میکروب‌های مورد آزمایش	mg/ml
۱	استرپتوکوکوس موتانس	۱±۳
۲	استرپتوکوکوس سانگویس	۱±۳
۳	استرپتوکوکوس سالیواریس	۱±۷
۴	استرپتوکوکوس سوپریوس	۱±۵
۵	اشرشیاکلی	۱±۳
۶	ایکلا کوردنس	۱±۵
۷	سودوموناس آنروژینوزا	۱±۸
۸	کلبسیلا پنومونیه	۱±۳



مفید باشد ولی داروهای آنتی بیوتیک در کنار اثرات مثبت، دارای عوارض سوء فراوانی هستند و امروزه با ظهور سویه‌های مقاوم باکتری‌ها، تجدید نظر در دستورالعمل‌ها و اقدامات درمانی امری ضروری به نظر می‌رسد (۳).

بر اساس گزارش سازمان بهداشت جهانی، ۸۰٪ از مردمی که در کشورهای توسعه یافته زندگی می‌کنند، کم و بیش برای درمان از گیاهان دارویی نیز استفاده می‌نمایند. این مساله سبب می‌گردد تا بررسی دقیق‌تری در مورد اثرات درمانی و بی خطر بودن مصرف گیاهان دارویی، انجام شود. در این میان ایجاد مقاومت میکروبی روز افزون نسبت به آنتی بیوتیک‌های موجود سبب می‌گردد در جهت یافتن ترکیبات ضد میکروبی جدید، گیاهان نیز مورد بررسی قرار گیرند. به طور کلی گیاهان دارای اثرات ضد میکروبی با مکانیسم‌های مختلف (بر اساس ترکیبات تشکیل دهنده آن‌ها) و حتی متفاوت از آنتی‌بیوتیک‌ها هستند. مواد شیمیایی استخراج شده از گیاهان به عنوان ترکیبات ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی به دلیل عوارض جانبی کمتر می‌توانند جایگزین داروهای سنتتیک مطرح شوند. گیاهان خانواده نعناع به خصوص جنس *saliva* (مریم‌گلی) به سبب وجود ترکیبات ترپنوئیدی گوناگون نظیر آلفا پیرن و ترکیبات فنلی مانند فلاوونوئیدها، دارای اثرات ضد میکروبی بالایی بر روی باکتری‌های جنس *استرپتوکوکوس*، *استافیلوکوکوس* و نیز باکتری‌هایی مانند *شرشیا کلی*، *کلبسیلا پنومونیه* و *سودوموناس آئروژینوزا* هستند (۱۱).

تا به حال مطالعات مختلف و متعددی در خصوص بررسی و تجزیه اسانس گونه‌های مختلف گیاه مریم‌گلی و ارزیابی خاصیت ضد میکروب آن صورت گرفته است. در بررسی تراکو و پیتاروکی (۱۲) مشخص گردید که اسانس مریم‌گلی که درصد بالایی از ۱ و ۸-سینئول و آلفا پینن دارد، روی ۶ سوش میکروبی معمول و ۳ سوش قارچ بیماری‌زا اثرات

ضدمیکروبی قابل توجهی نشان داد. همچنین در بررسی هازنداروقلو و کارابی (۱۳) این نتیجه به دست آمد که اسانس مریم‌گلی بر روی باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی اثرات مهار رشد قابل ملاحظه‌ای ظاهر ساخته است. این یافته‌ها با نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر همخوانی دارد. بنابراین با توجه به نتایج مطالعات انجام شده روی خواص ضد میکروبی، این گیاه دارای فعالیت‌های ضد باکتریایی مناسبی علیه بسیاری از پاتوژن‌های انسانی عامل عفونت دهان و پوسیدگی دندان است (۱۴-۱۸).

در این مطالعه خواص ضد باکتریایی گیاه مریم‌گلی در شرایط آزمایشگاهی روی باکتری‌های *استرپتوکوکوس موتانس*، *استرپتوکوکوس سانگویس*، *سودوموناس آئروژیناز*، *شرشیا کلی* و غیره بررسی و اثبات و مشخص شد که اسانس این گیاه، نتایج نسبتاً مشابهی را نسبت به دهان-شویه کلرهگزین از خود نشان می‌دهد. نتایج حاصل از آزمایشات نشان می‌دهد که اسانس گیاه مریم‌گلی مورد تحقیق، بر روی همه باکتری‌های مورد آزمایش در این پژوهش اثر ممانعت کننده داشته است.

اثرات مهار کنندگی اسانس گیاه مریم‌گلی بر روی باکتری‌های گرم مثبت (*استرپتوکوکوس موتانس* و *استرپتوکوکوس سانگویس*) بیشتر از باکتری‌های گرم منفی (*سودوموناس آئروژینوزا*) بود که با نتایج حاصل از هازنداروقلو و کارابی کاملاً مطابقت داشت (۱۳). علت این تفاوت در اثرات مهار کنندگی اسانس بر روی باکتری‌های گرم مثبت و منفی می‌تواند به دلایل مختلفی از جمله تفاوت ساختاری موجود بین دیواره این دو گروه از باکتری‌ها وابسته باشد. وجود لیپوپلی‌ساکاریدهای دیواره سلولی باکتری‌های گرم منفی مانند سدی از عبور مولکول‌های بزرگ و آب‌گریز ممانعت می‌کنند. از آنجایی که اکثر ترکیبات موثر موجود در عصاره‌ها و اسانس‌ها ماهیت آب‌گریزی دارند، لذا می‌توان چنین



نتیجه گرفت که این مواد امکان نفوذ و دسترسی به نقاط فعال داخل باکتری‌های گرم منفی را ندارند و به همین دلیل، معمولاً باکتری‌های گرم منفی در مقایسه با باکتری‌های گرم مثبت مقاومت بیشتری نسبت به ترکیبات گیاه نشان می‌دهند (۱۹).

نتیجه‌گیری

پس از تجزیه شیمیایی اسانس مریم‌گلی جمع‌آوری شده از مشکین‌شهر، مهم‌ترین ترکیبات ضد میکروبی این گیاه شامل لیمونن، آلفا پینن، میرسن، بتا پینن، بتا-کاریوفیل به کمک زمان بازداری و مقایسه آن‌ها با منحنی استاندارد و همچنین مقدار آن‌ها با توجه به سطح زیر منحنی هر ترکیب در طیف کروماتوگراف گازی مشخص گردید. نتایج حاصل از آزمایشات ضد میکروبی اسانس گیاه دارویی مریم‌گلی نشان داد که اسانس این گیاه دارای اثرات مهاری قابل توجهی بر روی انواع باکتری‌های شایع عفونت دهانی است. همچنین در مقایسه قطر هاله عدم رشد مریم‌گلی با کلرگزین، مشخص شد که اسانس دارویی این گیاه نتایج به نسبت

مشابه‌ای را با دهان‌شویه کلرگزین از خود نشان می‌دهد. در نتیجه اسانس این گیاه با غلظت‌های مختلف، پس از انجام مطالعات تکمیل‌تر می‌تواند جایگزین مناسبی برای داروها و دهانشویه‌های شیمیایی در درمان باکتری‌های شایع عفونت دهانی باشد

تشکر و قدردانی

از بخش تحقیق و توسعه شرکت دانش‌بنیان پژوهشگران داروی سبز به دلیل تامین هزینه و امکانات این طرح و همچنین از مسئولین مرکز تحقیقات علوم پایه دانشگاه تبریز به دلیل همکاری در اجرای این تحقیق تشکر و قدردانی به عمل می‌آید

تعارض منافع

نویسندگان این مقاله اعلام می‌کنند که منابع مالی این پژوهش از بخش تحقیق و توسعه شرکت دانش‌بنیان پژوهشگران داروی سبز تامین شده و هیچ گونه منافع تجاری در این راستا وجود ندارد.

References

- Attard E, Pacioni P. The phytochemical and in vitro pharmacological testing of Maltese Medicinal Plants. *Bioactive Compounds in Phytomedicine*. 2011;93-112.
- Zargari A. Medicinal plants, Tehran university publications; 1990. p. 924. (in Persian)
- Prieto-Prieto J, Calvo A. Microbiological basis of oral infections and sensitivity to antibiotics. *Medicina oral, patologia oral y cirugia bucal*. 2004;9:15.
- Jabra-Rizk MA, Falkler WA, Meiller TF. Fungal biofilms and drug resistance. *Emerg Infect Dis* 2004; 10(1): 14-9.
- Pfaller MA, Diekema DJ. Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. *Clin Microbiol Rev* 2007; 20(1): 133-63.
- Kanafani ZA, Perfect JR. Antimicrobial resistance: resistance to antifungal agents: mechanisms and clinical impact. *Clin Infect Dis* 2008; 46(1): 120-8.
- Adams RP. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. Carol Stream, IL: Allured publishing corporation; 2007.



8. Nickavar B, Mojab F and Dolat Abadi R. Analysis of the essential oils of two *Thymus* species from Iran. *Food Chem.* 2005; 90: 609 - 11.
9. Mohammad Eini A. Comparison of Antibacterial Effect of *Malva Sylvestris* L. (Aerial and Root Organs) by MIC. *SSU_Journals.* 2014 Feb 10;21(6):816-22.
10. Dorman HJD & Deans SG. Antimicrobial agents from plants: Antimicrobial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology.* 2000; 88: 308 - 316.
11. Miski M, Ulubelen A, Johansson C and Mabry TJ. Antibacterial activity studies of flavonoids from *Salvia palaestina*. *J Nat Prod* 1983; 46(6): 874-875.
12. Tzakou O, Pitarokili D, Chinou IB and Harvala C. Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Salvia ringens*. *Planta Med* 2001; 67(1): 81-83.
13. Haznedaroglu MZ, Karabay NU and Zeybek U. Antibacterial activity of *Salvia tomentosa* essential oil. *Fitoterapia* 2001; 72(7): 829-831.
14. Kermanshah H, Hashemi KS, Arami SA, Mirsalehian A, Kamalinejad M, Karimi ME, JabalAmoli F. In vitro evaluation of antibacterial activity of hydroalcoholic extract of *Salvia officinalis* and *Pimpinella anisum* against cariogenic bacteria. *Journal of dental medicine.* 2009 Sep 1;22(2).
15. Pitarokili D, Gouladis M, Petsikos– Panayotarou N, Tzakou O. Composition of the essential oils from the flowers and leaves of *Salvia sclarea* L. (Lamiaceae) cultivated in Slovak Republic. *J Agric Food Chem* 2002; 50: 6088-91.
16. Dzamic S, Vukojevic J, Martin PD. Chemical composition and antifungal activity of *Salviasclarea* (Lamiaceae) essential oil. *Arch BiolSci Belgrad* 2008; 60(2): 233-7.
17. Gulcin I, Tansu Uguz M, Oktay M, Beydemir S, Kufrevioglu OI. Evaluation of the antioxidant and antimicrobial activities of Clary Sage (*Salvia sclarea* L.). *Turk J Agric For* 2004; 28: 25-33.
18. Kuzma L, Rozalski M, Walencka E, Rozalska B, Wysokinska H. Antimicrobial activity of diterpenoides from hairy roots of *Salvia sclarea* L., *Salvipisone* as a potential anti-biofilm agent active against antibiotic resistant *Staphylococci*. *Phytomedicine* 2007; 14(1): 31-5.
19. Ferrazzano GF, Amato I, Ingenito A, Zarrelli A, Pinto G, Pollio A. Plant polyphenols and their anti-cariogenic properties: a review. *Molecules* 2011; 16(2):1486-507.2.



Study of Antibacterial Effect of *Salvia officinalis* Essence and Comparison with Chlorhexidine on some of Bacterial agents of the Oral Cavity

Hojjat Eghbal¹, Arezou Mohammadi², Nima Mohammad Nejad Khiavi^{3*}, Neda Jahani⁴

1-Department of Phytochemistry, Faculty of Chemistry, University of Tabriz, Tabriz, Iran

2- Department of Dentistry, Faculty of Dentistry, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran.

3- Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

4- Research & Development, Green Drug Reserchers, Meshkinshahr, Iran.

Original Article

Received: 24 Jan 2020

Accepted: 16 Nov 2020

*Corresponding Author:

Hojjat Eghbal, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

TEL: 09373482851

Email:

nimanejad7@yahoo.com

ABSTRACT

Introduction

Salvia officinalis is an herbaceous plant that belongs to the family of Lamiaceae (Labiatae). *Salvia officinalis* is one of the most important herbal plants used as a disinfectant in traditional and modern medicine. The aim of this research was to study of antibacterial Effect of *Salvia officinalis* essence and comparison with chlorhexidine on some of the common oral infections of Bacteria.

Materials and Methods

In this research, *Salvia officinalis* was collected from the Anzan Meshgin-Shahr area in the northwest of Iran. The essential oil was extracted by Clevenger's apparatus, GC and GC/MS devices were used for the analysis of essential oil compounds and accurate measurements of the compounds. Then, the effect of the essential oil of the *Salvia officinalis* and control on the common bacteria of the oral infection was evaluated in two ways: Disc diffusion And minimum inhibitory concentration (MIC).

Results

According to the results, the essential oil of the herb has a significant inhibitory effect on the types of gram-negative and positive bacteria. Also, comparing the diameter of the non-growth of the plant with chlorhexin, it was found that the essence of the herb medicine showed relatively similar results to that of the chlorhexin.

Conclusion

According to the findings, the essential oil of the herb has a good anti-microbial effect against the common bacteria of oral infections. As a result, the essential oil of this plant with different concentrations, after completing studies, can be an appropriate alternative for chemical drugs and chemical mouthwashes in the treatment of oral bacterial infections.

Keywords

Salvia Officinalis, *Essential Oil*, *Oral Bacteria*, *Antibacterial Agents*, *Chlorhexidine*

► **Please cite this article as:** Eghbal H, Mohammadi A, Mohammad Nejad Khiavi N, Jahani N. Study of Antibacterial Effect of *Salvia officinalis* Essence and Comparison with Chlorhexidine on some of Bacterial agents of the Oral Cavity. J Neyshabur Univ Med Sci 2021;9(1):94-104.