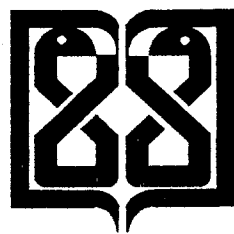




۹۴۳۱۷



دانشگاه علوم پزشکی تهران
دانشکده داروسازی

پایان نامه :

جهت دریافت دکترای عمومی داروسازی

موضوع :

بررسی اثر ضد میکروبی عصاره پلار و غیر پلار ریشه و سرشاخه های گیاهان

Johreniopsis seseloids ، *Peucedanum ruthenicum*

Cervaria cervariifolia

اساتید راهنما :

سرکار خانم دکتر نرگس یاسا

جناب آقای دکتر محمدرضا فاضلی

استاد مشاور :

جناب آقای دکتر سید حمید رضا علوی

نگارش :

نور صبری

۱۳۸۶ / ۶ / ۳

شماره پایان نامه : ۴۶۴۵

سال تحصیلی : ۱۳۸۵-۸۶

۹۴۳۸۷

سپاس و ستایش خداوندی که مرا هستی بخشید و با لطف و مهر پروراند و
پرودگار بی همتایی که مرا به راه کسب دانش هدایت نمود و توان تحمل
دشواریهای آن را بر من هموار ساخت.

خداوندا یاریم کن تا دستی بگیرم و قلبی شاد کنم و مرهم گذارم و زخمی شفا
دهم. یاریم کن تا آنچه از دیده ها و شنیده ها آموخته ام عاشقانه به کار بندم.
الهی مرا مددکن تا دانش اندکم، نه نردبانی باشد برای فزونی تکبر و غرور، نه
ملقه ای برای اسارت و نه دست مایه ای برای تجارت، بلکه گامی باشد برای
تجلیل از تو و متعالی ساختن زندگی خود و دیگران.

ماصل بهترین سالهای زندگی را به بهترین زندگی تقدیم می‌کنم به او که
برایم بهترین است و بهترین‌ها را فواسته است. تقدیم به مادر عزیزتر از جانم،
فورشید فروزنده زندگی، سنگ صبور، به او که روئیدن نهال دانش حاصل
تشویق، بالیدن حاصل صبر و گذشت و فداکاری اوست. اکنون چه کوتاه
لمظه ای است برای ستودن او.

تقدیم به روح آسمانی پدرم.

تقدیم به استاد فرزانه ام خانم دکتر یاسا

که آنچه از ایشان آموختم نه در کتاب و رساله گرد آمده که دنیاست از
فضیلت و انسانیت و شاگردی در مضر ایشان برایم افتخاری بزرگ است.

تقدیم به استاد ارجمند جناب آقای دکتر فاضلی که از راهنمائیهایشان کمال
تشکر را دارم.

تقدیم به استاد ارجمند جناب آقای دکتر علوی که چون استادی صبور مرا در
پایان رساندن این راه یاری نموده اند.

تقدیم به دوستان فوبم در ورودی ۷۹ که دوران دانشجویی ام با حضور سبز آنها
بهترین سالهای زندگی شد و اکنون در کوله بار این راه تنها فاطره مانده است و
بس.

با تشکر از هیأت قضات ممتزم که زحمت قضاوت این پایان نامه را به عهده
داشتند.

فهرست مطالب

صفحه	عنوان
۱	چکیده
۲	فصل اول : مقدمه
۵	۱-۱- گیاه شناسی
۵	۱-۱-۱- راسته چتریان
۶	۱-۱-۲- تیره چتریان
۶	۱-۱-۳- جنس <i>Peucedanum</i>
۷	۱-۱-۴- جنس <i>Johreniopsis</i>
۱۰	۱-۱-۵- جنس <i>Cervaia</i>
۱۴	۲-۱- مطالعات انجام شده بر روی این سه گیاه
۱۹	۳-۱- شیمی کومارین ها
۱۹	۱-۳-۱- تاریخچه کشف کومارینها
۲۰	۲-۳-۱- طبقه بندی کومارینها

- ۳-۳-۱- مشخصات شیمیایی و فیزیکی کومارینها ۲۱
- ۴-۳-۱- کروماتوگرافی کومارینها ۲۴
- ۵-۳-۱- اهمیت کومارینها و آخرین تحقیقات فارماکولوژی ۲۴
- ۴-۱- میکروب شناسی ۲۷
- ۱-۴-۱- اترشیا کلی ۲۷
- ۱-۱-۴-۱- خواص کشت ۲۷
- ۲-۱-۴-۱- بیماریزایی در حیوان ۲۸
- ۳-۱-۴-۱- بیماریزایی در انسان ۲۸
- ۴-۱-۴-۱- مقاومت ۲۸
- ۵-۱-۴-۱- خصوصیات بیوشیمیایی ۲۹
- ۶-۱-۴-۱- درمان ۲۹
- ۷-۱-۴-۱- اپیدمیولوژی و پیشگیری و درمان ۲۹
- ۲-۴-۱- سودوموناس آئروژنیوزا ۳۰
- ۱-۲-۴-۱- کشت ۳۰
- ۲-۲-۴-۱- بیماریزایی ۳۱
- ۳-۲-۴-۱- درمان ۳۲
- ۴-۲-۴-۱- اپیدمیولوژی و پیشگیری ۳۳
- ۱-۳-۴-۱- استاف اورئوس و استاف اپیدرمیدیس ۳۳
- ۲-۳-۴-۱- کشت ۳۵
- ۳-۳-۴-۱- بیماریزایی در حیوان ۳۶

- ۱-۴-۳-۴- بیماریزایی در انسان..... ۲۶
- ۱-۴-۳-۵- مقاومت ۲۷
- ۱-۴-۳-۶- خصوصیات بیوشیمیایی ۲۸
- فصل دوم : مواد و روشها ۴۰
- ۲-۱- جمع آوری گیاهان ۴۱
- ۲-۱-۱- جمع آوری گیاه *P.ruthenicum* ۴۱
- ۲-۱-۲- جمع آوری گیاه *J.seseloides* ۴۲
- ۲-۱-۳- جمع آوری گیاه *C.cervariifolia* ۴۲
- ۲-۲- مواد و دستگاههای مورد استفاده ۴۳
- ۲-۲-۱- مواد و وسایل مورد استفاده در بخش گیاهی ۴۳
- ۲-۲-۲- مواد و وسایل مورد استفاده در بخش میکروبی ۴۴
- ۲-۳- نحوه عصاره گیری و جدا سازی فاز پلار و غیر پلار ۴۶
- ۲-۴- میکروارگانسیم های مورد مطالعه ۴۶
- ۲-۵- فعال سازی و آماده سازی نمونه های میکروبی مورد آزمایش ۴۷
- ۲-۶- روشهای موجود جهت سنجش حساسیت ضد میکروبی ۴۷
- ۲-۶-۱- روش سیلندر پلیت ۴۹
- ۲-۶-۲- روش چاهک پلیت ۴۹
- ۲-۶-۳- روش قطره پلیت ۵۰
- ۲-۶-۴- روش دیسک کاغذی ۵۰

عنوان	صفحه
۲-۶-۲- بررسی اثرات ضد میکروبی به روش cup plate method	۵۰
۲-۶-۲-۱- تهیه نمونه برای سنجش از طریق روش cup plate method	۵۱
۲-۷-۲- تعیین MIC و MBC	۵۲
۲-۷-۲-۱- تعیین MIC به روش Macro dilution	۵۲
۲-۷-۲-۲- تعیین MBC	۵۲
۲-۷-۲-۳- تعیین نمونه برای سنجش از طریق MIC و MBC	۵۲
فصل سوم : نتایج و جداول	۵۴
فصل چهارم : بحث	۶۴
منابع	۶۷
Abstract	۷۱

فهرست جداول

صفحه	عنوان
۵۵.....	جدول ۱-۳-
۵۸.....	جدول ۲-۳-

فهرست تصاویر

صفحه	عنوان
۱۳.....	شکل ۱-۱.....
۱۵.....	شکل ۲-۱.....
۱۶.....	شکل ۳-۱.....
۱۸.....	شکل ۴-۱.....
۲۱.....	شکل ۵-۱.....
۲۶.....	شکل ۷-۱.....
۵۹.....	شکل ۱-۳.....
۶۰.....	شکل ۲-۳.....
۶۱.....	شکل ۳-۳.....
۶۲.....	شکل ۴-۳.....
۶۳.....	شکل ۵-۳.....

چکیده:

گیاهان *Cervaria cervariifolia* و *Johreniopsis seseloides*, *Peucedanum ruthenicum* از طایفه پوسه دانه (peucedanea) و تیره جعفری می باشند. گیاه *P. ruthenicum* از استان مرکزی (اراک) در سال ۱۳۸۲، گیاه *J. seseloides* از گردنه هریس کردستان در سال ۱۳۸۳ و گیاه *C. cervariifolia* از استان گلستان در سال ۱۳۸۲ جمع آوری شدند. سپس ریشه و سرشاخه های آنها در سایه خشک و با آسیاب پودر گردید و هر کدام جداگانه با حلال متانول - آب (80/20) و به وسیله روش پرکولاسیون عصاره گیری شدند. پس از تقطیر عصاره و تغلیظ و جدا کردن عصاره غیر پلار آنها به وسیله کلروفرم، اثر ضد میکروبی دو عصاره پلار و غیر پلار آنها به روش چاهک گذاری تعیین شد. و قطر هاله عدم رشد (بر حسب میلی متر mm) بر روی دو باکتری گرم مثبت: استافیلوکوکوس اورئوس (ATCC ۲۹۷۳۷) و استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس (ATCC ۱۲۲۲۹) و دو باکتری گرم منفی سودوموناس آئروژینوزا (ATCC ۹۰۲۷) و *E. coli* (ATCC ۳۵۲۱۸) تعیین شد. در ادامه با استفاده از روش Macrobrothdilution حداقل غلظت مهار کنندگی (MIC) و همچنین MBC آنها مشخص گردید. که بررسی نتایج اثرات مثبت ضد باکتری را در عصاره این سه گیاه نشان داده است.

فصل اول

مقدمه

بیماریهای عفونی و باکتریایی از جمله بیماریهای شایع در بین مردم دنیا می باشند. این بیماریها افراد هر دو جنس را از تمام نژادها و طبقات اجتماعی- اقتصادی و هر گروه سنی مبتلا می سازند که باعث ناتوانی و کاهش کارایی افراد گردیده و از طرف دیگر درمان این بیماریها مستلزم صرف هزینه های هنگفت خواهد بود.

برای درمان عفونتها از آنتی بیوتیکهایی که به صورت سنتتیک و با استفاده از روشهای شیمیایی ساخته شده اند، استفاده می گردد که مصرف آنها عوارض نامطلوبی که ناشی از سمیت این داروها و یا آلرژی اشخاص نسبت به این داروها است را به دنبال دارد. این مسأله لزوم یافتن داروها و یا ترکیباتی که عوارض جانبی کمتری داشته یا کاملاً فاقد اثرات سمی و مضر باشند را روشن می سازد.

بدیهی است که بهره برداری از مواد آماده ای که دست طبیعت برای ما فراهم کرده است در مقایسه با سنتز ترکیبات شیمیایی بسیار مناسبتر و اقتصادی تر و سالمتر است و به طوریکه امروزه در بسیاری از کشورهای در حال توسعه داروهای گیاهی نقش اصلی را در درمانهای اولیه ایفا می کند (۲۰۱).

ایران به لحاظ شرایط آب و هوایی متنوع، گیاهان دارویی گوناگونی را در چهار گوشه خود پرورش داده است که عطر و رایحه آنها یادآور دردهایی است که در گذشته های نه چندان دور با همین گیاهان درمان و تسکین یافته اند. ولی متأسفانه خواص درمانی بسیاری از گیاهان هنوز شناخته نشده است. در کشورهایی توسعه یافته دانشمندان بر این عقیده هستند که چون منابع طبیعی گیاهان معمولاً فراوان، سالم و پایدار و استاندارد شده می باشند، راه تحقیق بر روی

گیاهان جدید باز است که در نهایت یا به کشف امر درمانی یک گیاه یا استخراج ماده موثره ای از آن منتج می شود.

لذا جا دارد که این بررسی ها در کشورهای در حال توسعه که معمولاً منبع غنی تری از گیاهان دارویی هستند بیشتر انجام شود.

در صورت ادامه تحقیقاتی این چنین که نتایج قابل توجهی از خواص درمانی گیاهان از جمله اثرات ضد میکروبی گیاهان را گزارش کرده شاید بتوان به استخراج و شناخت موادی امیدوار بود که به درمان بعضی از بیماریهای باکتریال پاسخ داده و مهمتر اینکه در پیشگیری از ابتلا به اینگونه بیماریها موثر باشند.

۱-۱- گیاه شناسی

جایگاه گیاهان مورد مطالعه در عالم گیاهی:

شاخه (Phyllum)	پیدازادان آوندی (Phanerogames)
زیرشاخه (Subphyllum)	نهاندانگان (Angiospermae)
رده (Class)	دولپه ای (Dicotyledons)
زیررده (Subclass)	جدا گلبرگ (Rosidae)
راسته (Order)	چتریان (Apiales)
تیره (Family)	Umbelliferae (Apiaceae) جعفری
جنس و گونه (Genus & Species)	<i>Peucedanum ruthenicum</i>
جنس و گونه (Genus & Species)	<i>Johreniopsis seseloides</i>
جنس و گونه (Genus & Species)	<i>Cervaria cervaliifolia</i>

۱-۱-۱- راسته چتریان Umbellales

گیاهان این راسته دارای گل آذین چتری با گل‌های ساده، منظم، نر، ماده یا دو جنسی، ۵ پر و ۴ چرخه ای با تخمدان زیرین هستند. کاسبرگها ۵ قطعه ای و بسیار تحلیل رفته اند (صفت یا حالتی وابسته به حالت راپیژین شدن گل). گلبرگها ۵ قطعه ای، آزاد و متناوب با ۵ پرچم موجود در گل اند. مادگی از ۲ تا ۵ بر چه فرو رفته در عمق بافت نهنج و بصورت تخمدانی با ۲ تا ۵ خانه تک تخمکی تشکیل می یابد دارای خامه آزاد، تخمک‌هایی معمولاً تک پوششی با خورش تحلیل رفته و اپیتروپ یا اپوتروپ هستند.

وضع گل آذین چتری، تیپ منظم گلها و سادگی و کاهش آن به ۴ چرخه، تناوب منظم قطعات هرچرخه با چرخه های دیگر، کاهش مادگی به ۲ برچه و صفات خاص تخمکها در تیره چتریان در واقع آخرین مراحل تکاملی در سری جدا گلبرگان است (۳).

۱-۱-۲- تیره چتریان (Umbelliferae):

در این خانواده گل آذین چتری، گل‌های منظم پنج پر و چهار چرخه ای، قطعات چرخه ها متناوب منظم و تخمدان زیرین می باشد که در تمام گیاهان این تیره عمومیت دارند. کاسه گل در این گیاهان بسیار تحلیل رفته است و ۵ پرچم آنها قبل از سایر اندامهای گل ظاهر می شوند. هر یک از ۲ برچه آنها محتوی یک تخمک اپیتروپ، آویخته و تک پوششی است. میوه فندقه مضاعف با محتوی دانه هایی با آلبومین گوشتی و مجاری ترشح کننده خاص است. (۳)

۱-۱-۳- جنس *Peucedanum*

همانطوریکه در چکیده ذکر گردید یکی از جنس های نسبتاً بزرگ این خانواده جنس *Peucedanum* از قبیله *Peucedaneae* و زیر تیره *Apioideae* است. این جنس با حدود ۱۰۰ گونه در تمام نقاط جهان پراکندگی دارد از نظر صفات رویشی و ظاهری تنوع فراوانی را نشان می دهد ولی از نظر ساختمان میوه (حداقل از نظر ساختار بیرونی) تا حدی حالت یک شکلی را نشان می دهد در فلورا ایرانیکا حدود ۲۰ گونه از این جنس وجود دارد که از نظر رویشی مخصوصاً صفات ظاهری برگها بسیار با هم متفاوت می باشند.

از منطقه ایران این جنس اولین بار توسط بواسیر (Boissier) در فلور شرق بر اساس صفات مرفولوژیکی از جمله شکل قطعات انتهایی برگ، تعداد مجراهای رزینی میوه، بال میوه، گریبان و گریبانگ به شش بخش به شرح زیر تقسیم شد:

Selinoidea, Cervariae, Membranacea, Eupeucedanea, Juncea, Pseudoselino

که ۲۹ گونه درون شش بخش بالا قرار دارد.

پروفسور پیمنف (M.C.Pimenov) از دانشگاه مسکو معتقد است که این جنس بایستی به چند جنس طبیعی کوچک تقسیم شود. او گونه های موجود در منطقه فلورا ایرانیکا را به پنج جنس تقسیم می کند (*Cervaria, Zeravschania, Leutea, Johreniopsis, Demavendia*) که سه جنس اول بعنوان جنسهای جدید معرفی می شوند. البته این مطلب از طریق Hedge در سال 1987 با شک و تردید دیده می شود.

این جنس حدود ۳۰ گونه در اروپا، ۲۰ گونه در ترکیه و قفقاز و نمونه هایی در شرق آسیا و شرق و جنوب آفریقا دارا می باشد. تا زمانی که تمام گونه های فوق مورد مطالعه قرار گیرند بهترین کار مطالعه منطقه ای جنس ها بصورت مجزا می باشد. (۴)

۱-۱-۴- جنس *Johreniopsis*

جنس *Johreniopsis* (توسط پیمنوف 1987) با چهار گونه در محدوده ایران معرفی

شده است که همگی از جنس *Peucedanum* به *Johreniopsis* منتقل شده اند. (۳و۵)

Johreniopsis Oligactic (Rech.F & H.RiedL),M.pimenov.

Syn:*peucedanum Oligactic* (Rech. F & H.RiedL).

Johreniopsis scoparia (Bioss.) M.pimen.

Syn:*peucedanum scoparium*(Bioss) Bioss.

Johreniopsis seseloides(C.A.Mey).M.pimen.

Syn:*peucedanum meyeri*(Bioss.) Bioss.

Johreniopsis stricticaulis (Rech. F.) M.pimen.

Syn:*peucedanum stricticaulis* (Rech. F.) (Bioss). Bioss.

در این پایان نامه به منظور پیروی از فلورا ایرانیکا نام جنس *Johreniopsis* مورد استفاده قرار

می گیرد. گونه های جنس *Johreniopsis* قطعات برگگی بسیار مشابه هم و خطی دارند. اما گیاه

J.stricticaulis قطعات برگگی کاملاً متفاوت از سه گونه دیگر این جنس دارد. در این جنس برگها به

رنگ سبز هستند و به صورت دو بار شانه ای (bipinnate) می باشند و فقط در گونه *J. stricticaulis* به صورت تک شانه ای می باشد. شکل برگ تخم مرغی کشیده و یا نیزه ای می باشد. علاوه بر برگهای قاعده ای، می توان در طول ساقه تا قسمت‌های رأسی ساقه و گاهی تا آخرین گره، برگهای کوچکی را دید. البته گاهی این برگهای ساقه تقسیمات مشابه با برگهای قاعده ای را دارند ولی تعداد انشعابات آنها معمولاً از دو بار بیشتر نمی شود. اما در گونه *J. stricticaulis* علاوه بر برگهای قاعده ای، در قسمت‌های پائینی ساقه نیز گاهی برگهایی می توان دید که بسیار شبیه برگهای قاعده ای می باشد. اما در طول ساقه تا قسمت‌های انتهایی گیاه برگهای ساقه تحلیل رفته اند و تنها یک غلاف کوچک تخم مرغی با حاشیه غشایی باقی مانده است. هر سه گونه جنس *Johreniopsis* فاقد گریبان هستند و گریبانک آنها بسیار باریک و نیزه ای شکل است ولی گونه *J. stricticaulis* دارای گریبان نسبتاً بزرگ با حاشیه غشایی و همچنین تعداد و پهنای گریبانک آنها زیادتر از سه گونه دیگر این جنس می باشد.

ساقه گیاهان جنس *Johreniopsis* توپر (solid) است و کاملاً بدون کرک می باشد و تنها گونه *J. stricticaulis* در قسمت قاعده ای ساقه و پشت برگ کرکدار است. دارای گلبرگهای زرد و یا متمایل به زرد می باشند. میوه های کوچک با نوک نسبتاً تیز دارد که خطوط پشت میوه موئی شکل و کمی برآمده است. بال این میوه بسیار پهن است و سلولهای چوبی اکثر قسمت‌های بال میوه را اشغال می کند و قسمت بسیار کوچکی به صورت غیر چوبی و پارانشیمی باقی می ماند و در منطقه بال حفره ای ندارد و وسعت بال به طور متوسط زیاد است. در *J. oligactis* و *J. platycarpa* وسعت بال بسیار زیاد است.