Journal of North Khorasan
University of Medical Sciences
No 57, Volume 15, Issue 1

Research Article

Design of Nanoemulsions Containing Essential Oil of Artemisia Kopetdaghensis: Investigation of Antioxidant Properties and Antimicrobial Activity on Two Isolates from Clinical Specimens

Elyas Salahi[1], Ahmad Asgharzadeh[2]*, Amir Amani[3], Maryam Besharati[4], Maryam Tatari[5]

[1] PhD Candidate in Horticultural Science, Shirvan Branch, Islamic Azad University, Shirvan, Iran
[2] Assistant Professor, Department of Horticulture, Shirvan Branch, Islamic Azad University, Shirvan, Iran
[3] Professor of Pharmaceutics, Department of Advanced Technologies, School of Medicine, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran
[4] Postdoc Researcher, Department of Advanced Technologies, School of Medicine, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran
[5] Assistant Professor, Department of Agronomy, Shirvan Branch, Islamic Azad University, Shirvan, Iran

*Corresponding author: Ahmad Asgharzadeh, Department of Horticulture, Shirvan Branch, Islamic Azad University, Shirvan, Iran. E-mail: asg.ahmad@yahoo.com

DOI: 10.32592/nkums.15.1.10

How to Cite this Article:
Salahi E, Asgharzadeh A, Amani A, Besharati M, Tatari M Design of Nanoemulsions Containing Essential Oil of Artemisia Kopetdaghensis: Investigation of Antioxidant Properties and Antimicrobial Activity on Two Isolates from Clinical Specimens. J North Khorasan Univ Med Sci. 2023;15(1):10-17. DOI: 10.32592/nkums.15.1.10

Received: 13 July 2022
Accepted: 20 September 2022

Keywords:
Artemisia kopetdaghensis
Antimicrobial
Essential oil
Nanoemulsion

Abstract

Introduction: The Artemisia plant is known by its scientific name, which is the exclusive species of Kopeh Daghi in Iran. The present study aimed to design a nanoemulsion of the essential oil of Kopeh Daghi and investigate its antimicrobial activity on the gram-negative bacteria *Escherichia coli* and the gram-positive bacteria *Staphylococcus aureus*.

Method: At first, the essential oil extraction was performed using a Clevenger. Nanoemulsion was prepared by a spontaneous method using Tween 80 as oil in water. The size of nanoparticles was determined using the dynamic light scattering method. The antioxidant and antibacterial effects of Nanoemulsion at a concentration of 15% of essential oil were investigated.

Results: In the current research, 38 compounds were identified in the species of *Artemisia kopetdaghensis*, of which Davanone, with 28.89%, was the most effective substance. The results of the antioxidant test demonstrated that pure essential oil (IC_{50}= 7.05 mg/ml) and Nanoemulsion containing essential oil (IC_{50}= 46.51 mg/ml) had the highest antioxidant activity, respectively. Furthermore, regarding the inhibition of bacterial growth, Nanoemulsion was the most effective in *Staphylococcus aureus* with a non-growth zone diameter of 8 mm. In *Escherichia coli*, pure essential oil was the most effective, with a non-growth zone diameter of 9 mm.

Conclusion: In general, the antibacterial properties of 15% nanoemulsion were better compared to 15% essential oil. Moreover, Nanoemulsion containing the medicinal plant essential oil had more antioxidant properties compared to 15% essential oil.

[Downloaded from journal.nkums.ac.ir on 2025-12-05]

Copyright © *2023 The Author(s); Published by Journal of North Khorasan University of Medical Sciences. This is an open access article, distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (http://creativecommons.org/licenses /by-nc/4.0/) which permits others to copy and redistribute material just in noncommercial usages, provided the original work is properly cited.*

مجله دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی
دوره ۱۵، شماره ۱، بهار ۱۴۰۲

مقاله پژوهشی

طراحی نانوامولسیون‌های حاوی اسانس گونه درمنه کپه داغی (Artemisia kopetdaghensis): بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی و فعالیت ضدمیکروبی بر دو سویه بیمارستانی

الیاس صلاحی[۱]، احمد اصغرزاده[۲*]، امیر امانی[۳]، مریم بشارتی[۴]، مریم تاتاری[۵]

[۱] دانشجوی دکتری علوم باغبانی، واحد شیروان، دانشگاه آزاد اسلامی، شیروان، ایران
[۲] استادیار، گروه باغبانی، واحد شیروان، دانشگاه آزاد اسلامی، شیروان، ایران
[۳] استاد فارماسیوتیکس، گروه فناوری‌های نوین، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران
[۴] پسادکتری، گروه فناوری‌های نوین، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران
[۵] استادیار، گروه زراعت، واحد شیروان، دانشگاه آزاد اسلامی، شیروان، ایران

*نویسنده مسئول: احمد اصغرزاده، گروه زراعت، واحد شیروان، دانشگاه آزاد اسلامی، شیروان، ایران. ایمیل: asg.ahmad@yahoo.com

DOI: 10.32592/nkums.15.1.10

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۴/۲۲
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۹/۲۶

واژگان کلیدی:
اسانس
درمنه کپه داغی
ضدمیکروبی
نانوامولسیون

چکیده

مقدمه: گیاه درمنه با نام علمی Artemisia شناخته می‌شود که گونه کپه داغی انحصاری ایران است. هدف از این مطالعه، طراحی نانوامولسیون اسانس درمنه کپه داغی و بررسی فعالیت ضدمیکروبی آن بر باکتری گرم منفی *اشریشیا کلی* و باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* است.

روش کار: در ابتدا، اسانس‌گیری با استفاده از دستگاه کلونجر انجام شد. نانوامولسیون به‌روش خودبه‌خودی و با استفاده از توئین ۸۰ به‌صورت روغن در آب تهیه شد. اندازه نانوذرات با استفاده از روش پراکندگی نور دینامیکی تعیین شد. اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتریایی نانوامولسیون در غلظت ۱۵ درصد از اسانس بررسی شد.

یافته‌ها: در تحقیق حاضر، ۳۸ ترکیب گونه درمنه کپه داغی شناسایی شد که داوانون با ۲۸/۸۹ درصد، بیشترین ماده مؤثره را به‌خود اختصاص داد. نتایج آزمون آنتی‌اکسیدانی نشان داد که اسانس خالص (IC_{50}= ۷/۰۵میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) و نانوامولسیون حاوی اسانس ۱۵ درصد (IC_{50}=۴۶/۵۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) به‌ترتیب بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را داشته است. همچنین، در زمینه مهار رشد باکتری، نانوامولسیون ۱۵ درصد در باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* با قطر هاله عدم رشد ۸ میلی‌متر، بیشترین کارایی را داشت. در باکتری *اشریشیا کلی*، اسانس خالص با قطر هاله عدم رشد ۹ میلی‌متر، بیشترین کارایی را داشته است.

نتیجه‌گیری: به‌طورکلی، از نظر خواص ضدباکتریایی، نانوامولسیون ۱۵ درصد در مقایسه با اسانس ۱۵ درصد عملکرد بهتری داشته است. همچنین، نانوامولسیون حاوی اسانس ۱۵ درصد گیاه درمنه، خاصیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری در مقایسه با اسانس ۱۵ درصد دارد.

مقدمه

در سالیان اخیر، ترکیبات مختلفی از گیاهان دارویی تهیه شده است که برای معالجه بیماری‌های گوناگون کاربرد دارد. درمنه (Artemisia) از خانواده کاسنی است که رویشگاه آن بیشتر در نواحی خشک و کویری است و اسانس آن عطر فراوانی دارد. همچنین، کاربردهای بیولوژیک آن به‌خوبی شناخته شده است [۱، ۲]. گیاه درمنه ازجمله گیاهان دارویی است که گونه‌های مختلفی در دنیا دارد و ۳۴ گونه از آن در ایران وجود دارد [۴،۳] که در مناطق مختلف ایران رشد می‌کند [۵]. برای گیاه درمنه، خواص متعددی ازجمله ضدمیکروبی، ضدانگلی و ضدویروسی نام برده شده است [۶]. گیاهان دارویی به‌دلیل اینکه منشأ طبیعی دارند و با شرایط محیطی هماهنگ هستند، در جلوگیری از امراض مختلف مفید هستند [۷]. اسانس‌ها ترکیباتی دارند که در تمام قسمت‌های گیاه وجود دارد و کاربردهای فراوانی دارند [۸].

بوی درمنه به‌دلیل وجود ترکیبات مونوترپنی، در اسانس آن‌ها است [۹]. بیشترین ترکیبات اسانس درمنه به‌ترتیب شامل آلفاپینن و سینئول است [۱۰]. نانوامولسیون‌های روغن در آب و آب در روغن به‌صورت دو مایع جداگانه هستند که قابلیت حل شدن ندارند و تنها با کمک یک سورفکتانت مناسب، این عمل امکان‌پذیر است [۱۱]. به‌طورکلی، اندازه ذرات نانوامولسیون کمتر از ۵۰۰ نانومتر است [۱۲]. هرچه اندازه قطرات نانوامولسیون کوچک‌تر باشد، ظاهر آن شفاف است و اگر درشت باشد، با رنگ سفید شیری مشخص است [۱۳].

Copyright © 2023 The Author(s); Published by Journal of North Khorasan University of Medical Sciences. This is an open access article, distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) which permits others to copy and redistribute material just in noncommercial usages, provided the original work is properly cited.

[Downloaded from journal.nkums.ac.ir on 2025-12-05]

نانوامولسیون‌ها به‌دلیل پایداری فیزیکی که در بلندمدت دارند، به‌منظور محافظت از داروها در برابر عوامل محیطی مختلف مانند اکسید شدن و هیدرولیز استفاده می‌شوند [۱۴]. همچنین، به‌دلیل قدرت نفوذپذیری زیاد و ماندگاری، برای اندامی خاص استفاده می‌شوند [۱۵].

نانوامولسیون‌ها به‌دلیل اینکه در داروهای با خاصیت آب‌گریزی زیاد حل می‌شوند، مسیری را برای افزایش سرعت حل کردن دارو فراهم می‌کنند [۱۶]. از فناوری نانوامولسیون می‌توان در صنایع آرایشی و به‌صورت موضعی برای کاربردهایی نظیر دهانی [۱۷]، چشمی [۱۸] و پوست [۱۹] استفاده کرد.

هدف اصلی این مطالعه، بررسی اثرات آنتی‌اکسیدانی و همچنین خواص ضدباکتریایی گیاه درمنه کپه داغی، از گونه‌های گیاهی غالب منطقه خراسان شمالی، بر دو باکتری گرم منفی (*اشریشیا کلی*) (*Escherichia coli*) و گرم مثبت (*استافیلوکوکوس اورئوس*) (*Staphylococcs aureuss*) است که منجر به رسیدن به فرمول مناسبی از طریق استفاده هم‌زمان اسانس در ترکیب با سیستم نانوامولسیون برای بررسی تأثیرات ضدباکتریایی در مقابل آلودگی‌های موجود شد.

روش کار

مواد

مواد آزمایشی شامل توئین ۸۰ (شرکت مرک آلمان)، محیط کشت مولر هینتون آگار (شرکت مرک آلمان) و آب مقطر دو بار تقطیر بود. اسانس از گیاه درمنه کپه داغی تهیه شد که در آذر ۱۴۰۰ از منطقه گلیان شیروان جمع‌آوری شده بود. نمونه گیاهی مدنظر با شماره هرباریومی MP1201 توسط کارشناسان گیاهان دارویی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خراسان شمالی تأیید شد.

اسانس‌گیری

پس از جمع‌آوری گیاهان از محیط و خشک کردن آن‌ها در سایه، گیاهان به قطعات ریز تبدیل شدند و به‌روش تقطیر با بخار، با استفاده از دستگاه کلونجر (یک لیتری ساخت ایران) اسانس آن استخراج شد. سپس، با استفاده از سدیم سولفات، آب اضافی خارج و اسانس در یخچال نگهداری شد.

شناسایی ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس

مواد تشکیل‌دهنده اسانس با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی GCMS Shimadzu (مدل QP2010SE ساخت ژاپن) شناسایی شد. این دستگاه به ستون Rtx-5MS (طول ستون ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر، ضخامت فاز ثابت ۰/۲۵ میکرومتر) مجهز است که برنامه دمایی ستون به این نحو تنظیم شد: دمای ابتدایی آون ۶۰ درجه سانتی‌گراد و توقف در این دما به‌مدت ۴ دقیقه، دمای دستگاه تا رسیدن به دمای ۲۹۰ درجه سانتی‌گراد، در هر دقیقه ۱۰ درجه سانتی‌گراد افزایش یافت و به‌مدت ۱۳ دقیقه در این دما باقی ماند. از گاز هلیم به‌عنوان گاز حامل و با سرعت جریان ۰/۹ میلی‌لیتر بر دقیقه و طیف‌سنج جرمی با انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت استفاده شد. شناسایی طیف‌های حاصل با رسم کروماتوگرام یک سری از پارافین‌های نرمال (C_5-C_{30}) تحت شرایط یکسان با تزریق نمونه انجام شد. با توجه به زمان بازداری این ترکیب‌ها، اندیس کواتز برای هر جزء موجود در کروماتوگرام نمونه محاسبه شد.

آماده‌سازی نانوامولسیون

از روش خودبه‌خودی برای تهیه نانوامولسیون استفاده شد. بدین منظور، ابتدا ۱/۲ گرم توئین ۸۰ و ۰/۶ گرم اسانس با ترازوی دیجیتال وزن و با استفاده از همزن مگنت‌دار با هم ترکیب شدند. سپس، ۰/۴ گرم اتانول ۹۶ درصد به ترکیب قبلی افزوده شد. درنهایت، ۱/۷۲ گرم آب مقطر به‌صورت قطره‌ای به فاز قبلی اضافه و با چرخش ۷۰۰ دور در دقیقه، به‌مدت ۱۵ دقیقه فرمولاسیون نهایی تهیه شد [۲۰].

اندازه‌گیری ذرات نانوامولسیون و تعیین پایداری

برای اندازه‌گیری ذرات، از روش پراکندگی نور دینامیکی (Dynamic light scattering) استفاده شد. برای مشخص کردن میزان پایداری نانوامولسیون تهیه‌شده، محلول‌ها به‌مدت ۶۰ روز در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد و ۳ چرخه دمایی ۲۴ ساعته در دمای یخچال (۴ درجه سانتی‌گراد) و دمای محیط (۲۷ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شدند.

بررسی فعالیت ضدباکتریایی

تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (Minimum Inhibitory Concentration) و حداقل غلظت کشندگی (Minimum Bacteriocidal Concenteration) با استفاده از باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* و باکتری گرم منفی *اشریشیا کلی* (سویه‌های بیمارستانی) انجام شد. برای مشخص شدن حداقل غلظت بازدارندگی، از روش رقیق‌سازی در پلیت‌های ۹۶ خانه، رقت‌سازی انجام شد. یک کلونی از هریک ازسویه‌ها، جداگانه به ۱۰ میلی‌لیتر محیط کشت تریپتیک سوی براث منتقل شد. سپس، در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرم‌خانه‌گذاری انجام شد. سپس، کدورت محیط کشت‌های حاوی باکتری با استفاده از آب مقطر استریل به غلظت معادل ۰/۵ مک فارلند (10^8CFU/ml) (کلنی باکتری در واحد/ میلی لیتر) تنظیم شد. ۱۰۰ میکرولیتر از محیط کشت روی محیط کشت مولر هینتون آگار به‌وسیله سوآپ استریل کشت یکنواخت داده شد. سپس، ۵۰ میکرولیتر از نانوامولسیون حاوی اسانس، اسانس خالص و اسانس ۱۵ درصد وزنی، روی دیسک‌های خالی استریل بارگذاری شد. در ادامه، دیسک حاوی تیمار با پنس استریل با فواصل استاندارد ۱/۵ سانتی‌متر از لبه پلیت، روی سطح محیط کشت قرار گرفت و به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرم‌خانه‌گذاری شد. میانگین قطر هاله عدم رشد برحسب میلی‌متر، با استفاده از خط‌کش اندازه‌گیری شد [۲۱]. از دیسک حاوی آنتی‌بیوتیک

[Downloaded from journal.nkums.ac.ir on 2025-12-05]

سفوتاکسیم به‌عنوان کنترل مثبت استفاده شد [۲۲].

بررسی اثرات آنتی اکسیدانی با روش DPPH (۲ و ۲- دی فنیل- ۱- پیکریل هیدرازیل) (Diphenyl picrylhydrazyl)

در این روش، ابتدا ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول متانولی نمونه مدنظر (در غلظت‌های ۰/۱ و ۰/۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) در یک لوله آزمایش ریخته شد. سپس، به آن ۰/۱ میلی‌لیتر محلول متانولی دی فنیل پیکریل هیدرازیل (شرکت سیگما-آلدریچ ساخت آمریکا) اضافه شد (۰/۱۶ میلی‌مولار). محتویات هر لوله با ورتکس کاملاً مخلوط و پس از گذشت ۳۰ دقیقه، در دمای اتاق و در تاریکی، جذب آن‌ها در طول موج ۴۹۰ نانومتر با استفاده از دستگاه میکروپلیت ریدر (الایزا ریدر) مدل elx800 Ts (محصول کارخانه بیوتک آمریکا) در برابر بلانک حاوی متانول خوانده شد. هرچه قدرت آنتی‌اکسیدانی نمونه بیشتر باشد، رنگ محلول حاصل زردتر است [۲۳]. برای محاسبه IC_{50} عصاره‌های مدنظر از نرم‌افزار Graphpad Prism نسخه ۵ استفاده شد.

روش آماری

برای تحلیل داده‌ها، از نرم‌افزار SAS (Statistical Analysis System) و برای مقایسه میانگین‌ها، از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد استفاده شد.

یافته‌ها

شناسایی ترکیبات اسانس

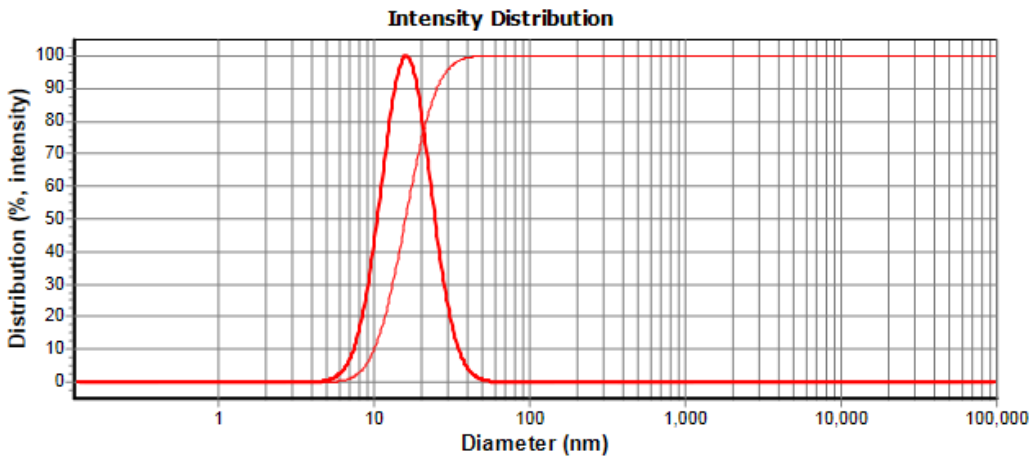
در مجموع، ۳۸ ترکیب از اسانس مدنظر شناسایی شد که میزان آن‌ها در جدول ۱ ذکر شده است.

توزیع اندازه ذرات نانوامولسیون و بررسی پایداری

در مطالعه انجام‌شده، اندازه ذرات به‌دست‌آمده از نانوامولسیون ۱۵ درصد درمنه کپه داغی، ۱۶/۳ نانومتر بود (شکل ۱). در بررسی پایداری، نانوامولسیون‌ها بعد از ۶۰ روز نگهداری در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد و چرخه‌های دمایی سرما-گرما، شفاف باقی ماندند و تغییری در رنگ و اندازه ذرات مشاهده نشد.

جدول ۱. ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس گیاه درمنه کپه داغی

ردیف	ترکیبات	شاخص	درصد
۱	Cyclopentanol	۹۹۹	۰/۴۶
۲	Camphene	۱۰۰۱	۰/۶۵
۳	Sabinene	۱۰۳۶	۰/۴۰
۴	Beta-Myrcene	۱۰۶۳	۷/۱۵
۵	Benzene	۱۱۱۲	۱/۲۰
۶	Beta-Phelladrene	۱۱۲۰	۰/۵۱
۷	1,8-Cineol	۱۱۲۵	۱/۶۸
۸	1,8-Cyclohexndiol	۱۱۵۹	۰/۴۳
۹	Nonilene	۱۱۹۲	۰/۶۸
۱۰	Terpinolene	۱۲۲۴	۰/۳۹
۱۱	Linalool	۱۲۵۴	۵/۹۳
۱۲	Beta-Thujone	۱۲۶۴	۴/۷۸
۱۳	Alpha-Thujone	۱۲۸۲	۱/۲۱
۱۴	Camphor	۱۶۴۵	۷/۹۹
۱۵	Terpendiol	۱۶۶۳	۰/۷۹
۱۶	Lavandalol	۱۶۸۹	۵/۰۹
۱۷	Terpenol	۱۴۱۱	۰/۹۹
۱۸	Benzenemethanol	۱۴۲۸	۰/۴۸
۱۹	Alpha-Terpineol	۱۴۴۳	۰/۴۷
۲۰	2,3-Epoxygerminal	۱۵۴۴	۰/۶۱
۲۱	Neral	۱۵۶۵	۰/۹۹
۲۲	Geraniol	۱۵۹۸	۰/۶۶
۲۳	Geranial	۱۶۴۷	۱/۱۴
۲۴	Bornyl Acetate	۱۶۸۴	۰/۹۳
۲۵	Geranyl Acetate	۱۶۸۹	۰/۳۷
۲۶	Neryl Acetate	۱۷۱۰	۱/۲۱
۲۷	Cis-Jasmone	۱۷۷۱	۱/۰۰
۲۸	Davanone	۲۱۱۷	۰/۵۶
۲۹	Davana Ether	۲۱۷۴	۰/۶۹
۳۰	Zingiberene	۲۱۷۸	۰/۴۹
۳۱	Naphthalene	۲۱۸۱	۰/۵۴
۳۲	Beta-Bisabolene	۲۱۹۰	۰/۸۳
۳۳	Davana oil	۲۱۹۴	۱/۰۵
۳۴	Furanylidene	۲۱۹۷	۱/۲۱
۳۵	Beta-Sesquiphellandrene	۲۲۰۵	۱/۴۴
۳۶	Nerolidol	-	۰/۸۸
۳۷	Spatholenol	-	۰/۸۳
۳۸	Davanone	-	۲۸/۸۹



شکل ۱. میانگین توزیع اندازه ذره‌ای نانوامولسیون گونه درمنه کپه داغی بر حسب نانومتر

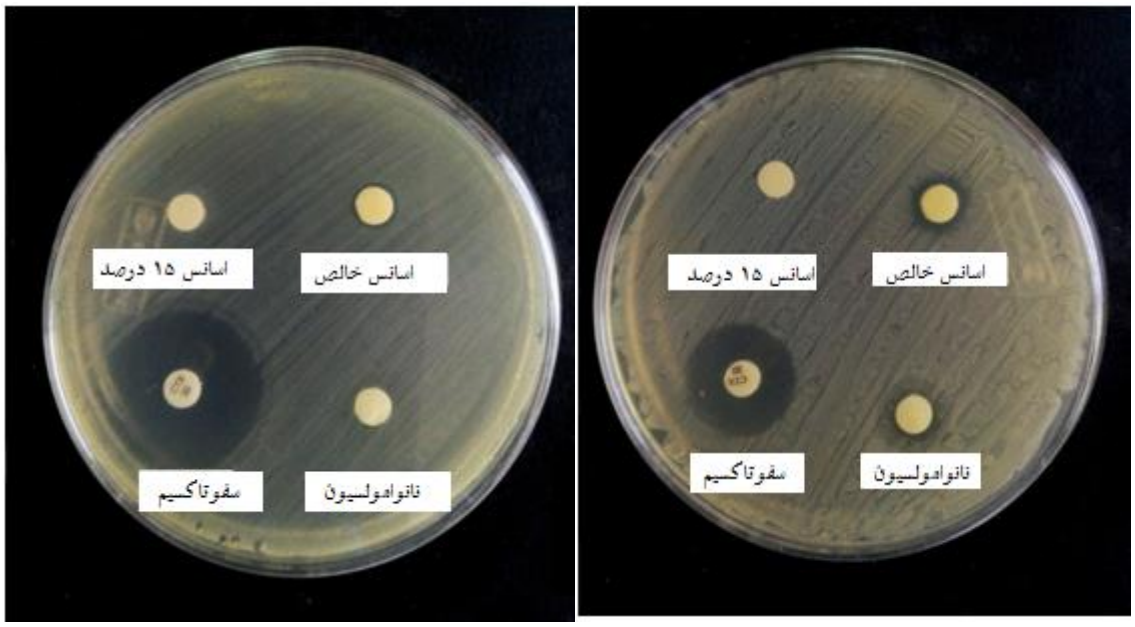
[Downloaded from journal.nkums.ac.ir on 2025-12-05]

بررسی فعالیت ضدباکتریایی

جداول ۲ و ۳ و همچنین شکل ۲ نتایج اثرات ضدباکتری نانوامولسیون ۱۵ درصد و اسانس ۱۵ درصد درمنه کپه داغی را علیه *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیا کلی* نشان می‌دهد. با توجه به قطر هاله عدم رشد، نانوامولسیون اسانس ۱۵ درصد درمنه نسبت به اسانس خالص و اسانس ۱۵ درصد (رقیق‌شده) اثرات بهتری علیه *استافیلوکوکوس اورئوس* داشت. همچنین، با وجود اینکه اسانس رقیق‌شده فعالیت ضدمیکروبی در حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی نداشت، نانوامولسیون اسانس ۱۵ درصد فعالیت ضد میکروبی داشت که از اسانس خالص ضعیف‌تر بود.

جدول ۲. ارزیابی فعالیت ضدباکتریایی نانوامولسیون حاوی ۱۵ درصد اسانس، اسانس خالص، اسانس ۱۵ درصد و سفوتاکسیم با توجه به قطر هاله عدم رشد (میلی‌متر) در باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی

باکتری	قطر هاله عدم رشد بر حسب میلی‌متر			
	نانوامولسیون ۱۵ درصد	اسانس خالص	اسانس ۱۵ درصد	سفوتاکسیم (۲۰ µl)
استافیلوکوکوس اورئوس	۸/۰±۰/۵	۱۱/۱±۰/۰	-	۲۱/۰±۱/۱
اشریشیاکلی	-	۹/۰±۱/۱	-	۲۴/۲±۰/۰



شکل ۲. هاله عدم رشد باکتری در نانوامولسیون حاوی اسانس ۱۵ درصد، اسانس خالص، اسانس درمنه کپه داغی ۱۵ درصد و سفوتاکسیم (CTX) بر باکتری‌های گرم مثبت (راست) و گرم منفی (چپ) با روش انتشار دیسک

جدول ۳. حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) در نمونه‌های اسانس درمنه کپه داغی

باکتری	حداقل غلظت بازدارندگی (میکروگرم بر میلی‌لیتر)			حداقل غلظت کشندگی (میکروگرم بر میلی‌لیتر)		
	نانوامولسیون ۱۵ درصد	اسانس خالص	اسانس ۱۵ درصد	نانوامولسیون ۱۵ درصد	اسانس خالص	اسانس ۱۵ درصد
استافیلوکوکوس اورئوس	۱۶۰۰۰	۸۰۰۰	-	۶۴۰۰۰	۳۲۰۰۰	-
اشریشیا کلی	۳۲۰۰۰	۳۲۰۰۰	-	۶۴۰۰۰	-	-

جدول ۴. بررسی اثرات آنتی‌اکسیدانی اسانس ۱۵ درصد، اسانس خالص و نانوامولسیون ۱۵ درصد با روش DPPH

نمونه	IC_{50} (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)
اسانس ۱۵ درصد	۳۷۶/۶۳
نانوامولسیون ۱۵ درصد	۴۶/۵۱
اسانس خالص	۷/۰۵
میسل	
بوتیل هیدروکسی تولوئن	۰/۳

a: مقادیر IC50 بر حسب میلی‌گرم بر میلی‌لیتر

بررسی اثرات آنتی‌اکسیدانی درمنه کپه داغی با روش DPPH

نتایج حاصل از آزمون DPPH (جدول ۴) مشخص کرد که تیمار میسل(نانوامولسیون بدون اسانس) اثرات آنتی‌اکسیدانی نداشته است. بهترین عملکرد در مهار رادیکال‌های آزاد با IC_{50}به‌میزان ۷/۰۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در اسانس خالص مشاهده شد. نانوامولسیون ۱۵ درصد و اسانس خالص به‌ترتیب با ۴۶/۵۱ و ۳۷۶/۶۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، اثرات کمتری داشتند.

بحث

بیشترین ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس درمنه کپه داغی، شامل داوانون (۲۸/۸۹ درصد)، کامفور (۷/۹۹ درصد)، بتا میرسن (۷/۱۵ درصد) و لینالول (۵/۹۳ درصد) بودند. در یک تحقیق که ترکیبات شیمیایی اسانس و عصاره درمنه کوهی بررسی شد، بیشترین ترکیبات شامل ۱ و ۸ سینئول (۲۲/۶۵ درصد)، داوانون (۱۳/۸۲ درصد) و کامفور (۹/۹۲ درصد) بودند [۲۴]. اسانس موجود در گونه درمنه خراسانی نیز

[Downloaded from journal.nkums.ac.ir on 2025-12-05]

شامل سیس-وربونل (۲۶/۷۴ درصد)، ۱ و ۸ سینئول (۲۰/۰۵ درصد)، کامفور (۱۵/۰۶ درصد) و کریسانتینل استات (۸/۵۶ درصد) بودند [۲۵]. ترکیبات اسانس درمنه کرمانی از ۱ و ۸ سینئول (۲۶/۹۳ درصد)، کامفور (۱۶/۹۷ درصد)، آلفا-توجون (۷/۵۲ درصد) و بورنئول (۷/۴۷ درصد) تشکیل شده بود [۲۶]. تفاوت در میزان مقادیر مواد مؤثره موجود در اسانس، طبق گزارشات مختلف، ناشی از نوع محیطی که گیاه در آن رشد می‌کند و همچنین، اختلاف آب‌وهوایی مناطق مختلف است [۲۷].

اسانس خالص در باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس*، در مقایسه با *اشریشیا کلی* با قطر هاله عدم رشد ۱۱ میلی‌متر، عملکرد بیشتری داشت. بررسی حداقل غلظت بازدارندگی نشان داد که اسانس خالص و نانوامولسیون ۱۵ درصد به‌ترتیب با ۸۰۰۰ و ۱۶۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر در باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس*، خاصیت ضدباکتری بهتری در مقایسه با *اشریشیا کلی* داشتند. مطالعات نشان می‌دهند که اثرات ضدباکتریایی عصاره آبی درمنه کوهی در باکتری *اشریشیا کلی* در بازه بین ۱۶۰ تا ۳۲۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر است. همچنین، در باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس*، این بازه بین ۶۰ تا ۱۶۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر است [۲۸]. در گزارشی که اثرات ضدباکتریایی اسانس گونه درمنه شرقی بررسی شد، قطر هاله عدم رشد در باکتری‌های گرم مثبت ۲۰ میلی‌متر گزارش شد که تأثیر قوی اسانس را نشان داد [۲۹].

در بررسی اثرات ضدباکتریایی گونه *درمنه اکه گاراوی هیرون* (*Artemisia Echegarayi Hieron*) مشاهده شد که قطر هاله عدم رشد در باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیا کلی* به‌ترتیب ۹ و ۱۰ میلی‌متر است [۳۰].گزارشی درباره اثرات ضدباکتریایی اسانس درمنه معطر مشخص کرد که هاله عدم رشد در باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیا کلی* به‌ترتیب ۸ و ۷ میلی‌متر بود [۳۱]. دلیل حساسیت زیاد باکتری‌های گرم مثبت نسبت به گرم منفی، احتمالاً به ساختار سلولی آن‌ها مربوط است. به این‌صورت که، در باکتری‌های گرم منفی، برخلاف باکتری‌های گرم مثبت، یک غشای خارجی وجود دارد که از آن‌ها محافظت می‌کند.

تحقیقات زیادی اثرات ضدباکتریایی تعدادی از گونه‌های درمنه را ثابت می‌کند؛ به این‌صورت که حداقل غلظت بازدارندگی عصاره درمنه کوهی و دشتی در باکتری *اشریشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* به‌ترتیب ۱۶۰ و ۸۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود [۲۸]. در یک تحقیق، اثرات ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی اسانس گونه‌های مختلف درمنه بررسی و مشخص شد که باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس*، حساس‌ترین باکتری به این گونه‌ها است [۳۲]. اثرات ضدباکتریایی اسانس *درمنه کوتنسیس* بر قطر هاله عدم رشد *سودوموناس آیرژینوزا*، ۱۳/۴ میلی‌متر به‌دست آمد و به‌میزان ۰/۵ میکرولیتر بر میلی‌لیتر علیه این باکتری خواص ضدباکتریایی قابل قبولی نشان داد [۳۳]. در مطالعه‌ای، اثرات آنتی‌اکسیدانی اسانس گیاه *درمنه تورانیکا* (*Artemisia Turanica*) بررسی شد و نتایج نشان داد که اثر اسانس از بوتیل هیدروکسی تولوئن (Butylated Hydroxy Toluene) (به‌عنوان کنترل مثبت) بیشتر بود [۳۴]. در یک مطالعه در زمینه بررسی خصوصیات ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی اسانس و عصاره درمنه، حساس‌ترین باکتری به تیمارهای آزمایشی، باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* تعیین شد [۳۵]. در تحقیقی نیز مشخص شد که اسانس گونه درمنه اثرات ضدباکتریایی دارد [۳۶].

در یک مطالعه آزمایشگاهی درباره اثرات ضدمیکروبی نانوامولسیون عصاره آبی گیاه نعناع‌فلفلی بر باکتری *اشریشیا کلی*، قطر هاله عدم رشد ۴/۲۱ میلی‌متر به‌دست آمد [۳۷]. در مجموع، نانومواد از دو طریق باعث غیرفعال شدن و مرگ باکتری می‌شوند. در روش مستقیم، نانومواد سبب آزادسازی یون‌هایی می‌شوند که با گروه تیول پروتئین‌های موجود بر سطح سلول باکتری واکنش می‌دهند. نانومواد باعث غیرفعال کردن پروتئین‌ها، کاهش نفوذپذیری غشا و درنهایت، مرگ سلولی می‌شود [۳۹،۳۸].

در این آزمایش، از روش دیسک دیفیوژن استفاده شد. هدف روش‌های آگار میکرودایلوشن و براث میکرودایلوشن، تعیین حداقل غلظت بازدارندگی عامل ضدمیکروبی سنجیده‌شده است که تحت شرایط مشخصی، مانع از رشد باکتری بررسی‌شده می‌شود [۴۰-۴۱]. روش دیسک دیفیوژن آگار، یک روش رایج و کم‌هزینه در اندازه‌گیری حساسیت ضدمیکروبی است. درصورتی‌که، از دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی معتبر استفاده شود، می‌توان از روش دیسک دیفیوژن آگار برای تعیین حساسیت ارگانیسم‌ها به‌منظور غربالگری اولیه و تعیین درمان مناسب استفاده کرد [۴۲].

نتایج آزمایش‌های آنتی‌اکسیدانی نشان داد اسانس خالص با IC_{50}=۷/۰۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر، تأثیر زیادی در مهار رادیکال‌های آزاد دارد. میزان مهارکنندگی در نانوامولسیون ۱۵ درصد، اسانس ۱۵ درصد و بوتیل هیدروکسی تولوئن نیز به‌ترتیب ۴۶/۵۱، ۳۷۶/۶۳ و ۰/۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. در تحقیق دیگری در زمینه خواص آنتی‌اکسیدانی گونه درمنه خراسانی، میزان اسانس درمنه و بوتیل هیدروکسی تولوئن به‌ترتیب ۴/۹ و ۰/۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر به‌دست آمد [۲۵] که با نتایج تحقیق حاضر مشابهت داشت.

نتیجه‌گیری

بیشترین ترکیب تشکیل‌دهنده اسانس گیاه درمنه کپه داغی، داوانون (۲۸/۸۹ درصد) بود. اثرات ضدباکتریایی تیمارهای آزمایشی نشان داد که نانوامولسیون ۱۵ درصد در مقایسه با اسانس ۱۵ درصد، کارایی بهتری داشته است. علاوه بر این، داده‌های به‌دست‌آمده مشخص کرد که نانوامولسیون حاوی اسانس گیاه درمنه (IC_{50}=۷/۰۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر) خاصیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری در مقایسه با اسانس ۱۵ درصد دارد و در مهار رادیکال آزاد موفق عمل کرد. هرچه میزان این عدد کمتر باشد، خاصیت آنتی‌اکسیدانی بیشتر است.

[Downloaded from journal.nkums.ac.ir on 2025-12-05]

سپاسگزاری

نویسندگان از همکاری صمیمانه آزمایشگاه نانوپزشکی دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، همچنین آقای دکتر هادی یزدانی که در تمام مراحل این پژوهش کمال همکاری را داشتند، قدردانی می‌کنند. این مطالعه با کد IR.NKUMS.REC.1400.076 در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی تصویب شد.

تعارض منافع

نویسندگان تعارض منافع ندارند.

References

1. Mahboubi M, Farzin N. Antimicrobial activity of Artemisia sieberi essential oil from central Iran. *Iranian J Microbiol.* 2009;**1**(2):43-48.
2. Hashemi Z, Hojati M, Taharnejad M. Evaluation of antioxidant activity of Artemisia sieberi essential oil on oxidative stability of frying oil. *EJFPP.* 2014;**6**(1):19-35.
3. Alzoreky NS, Nakahara K. Antibacterial activity of extracts from some edible plants commonly consumed in Asia. *Int J Food Microbiol.* 2003;**80**(3):223-230. **DOI:** 10.1016/s0168-1605(02)00169-1 **PMID:** 12423924
4. Tariq KA, Chishti MZ, Ahmad F, Shawl AS. Anthelmintic activity of extracts of Artemisia absinthium against ovine nematodes. *Vet Parasitol.* 2009;**160**(1-2):83-88. **DOI:** 10.1016/j.vetpar.2008.10.084 **PMID:** 19070963
5. Mozaffarian V. Dictionary of Iranian plant names. Tehran: Contemporary Culture Publications; 1996.
6. Hakimi Maybodi MH, Afkhami Aghdaee M, Mijalili BF. An investigation into biological activities of Artemisia Persia's essential oil. *Pajouheshmag.* 2003;**16**(61):2-5.
7. Mazandarani M, Khormali A. Autecology, ethnopharmacology, total phenol and flavonoids and antioxidant activity of Ditrichia graveolens (L.) Greuter. In different extraction from Bandargaz region. *EJMP.* 2015;**6**(2):69-78.
8. Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *Int J Food Microbiol.* 2004; **94**(3):223-253. **DOI:** 10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022 **PMID:** 15246235
9. Prabhakaran J, Maharaj S. Allelopathic potential of Cissus quadrangularis L. on growth of floral millet (Pennesetum typhoides ST. and HUB). *IJRBS.* 2013;**3**(1):18-21.
10. Farzaneh M, Ahmadzadeh M, Hadian J, Tehrani AS. Chemical composition and antifungal activity of the essential oils of three species of Artemisia on some soil-borne phytopathogens. *Commun Agricul Appl Biol Sci.* 2005;**71**(3):1327-1333. **PMID:** 17390897
11. Mason TG, Wilking JN, Meleson K, Chang CB, Graves SM. Nanoemulsions: formation, structure, and physical properties. *J Phys Condens Matter.* 2006;**18**:R635. **DOI:** 10.1088/0953-8984/18/41/R01
12. Sharma A, Kumar P. Understanding implantation window, a crucial phenomenon. *J Hum Reprod Sci.* 2012;**5**(1):2-6. **DOI:** 10.4103/0974-1208.97777 **PMID:** 22870007
13. Aulton ME, Taylor K. Aulton's pharmaceutics: the design and manufacture of medicines. Elsevier Health Sciences; 2013.
14. Zhang Y, Shang Z, Gao C, Du M, Xu S, Song H, et al. Nanoemulsion for solubilization, stabilization, and in vitro release of pterostilbene for oral delivery. *AAPS PharmSciTech.* 2014;**15**(4):1000-1008. **DOI:** 10.1208/s12249-014-0129-4 **PMID:** 24831090
15. Jiang SP, He SN, Li YL, Feng DL, Lu XY, Du YZ, et al. Preparation and characteristics of lipid nanoemulsion formulations loaded with doxorubicin. *Int J Nanomedicine.* 2013;**8**:3141-3150. **DOI:** 10.2147/IJN.S47708 **PMID:** 23990722
16. Yu H, Huang Q. Improving the oral bioavailability of curcumin using novel organogel-based nanoemulsions. *J Agric Food Chem.* 2012;**60**(21):5373-5379. **DOI:** 10.1021/jf300609p **PMID:** 22506728
17. Tiwari SB, Shenoy DB, Amiji MM. Nanoemulsion formulations for improved oral delivery of poorly soluble drugs. *Nanotech.* 2006;**1**:475-478.
18. Calvo P, Vila-Jato JL, Alonso MJ. Comparative in vitro evaluation of several colloidal systems, nanoparticles, nanocapsules, and nanoemulsions, as ocular drug carriers. *J Pharm Sci.* 1996;**85**(5):530-536. **DOI:** 10.1021/js950474+ **PMID:** 8742946
19. Shakeel F, Baboota S, Ahuja A, Ali J, Aqil M, Shafiq S. Nanoemulsions as vehicles for transdermal delivery of aceclofenac. *AAPS PharmSciTech.* 2007;**8**(4):E104. **DOI:** 10.1208/pt0804104 **PMID:** 18181525
20. Saberi AH, Fang Y, McClements DJ. Fabrication of vitamin E-enriched nanoemulsions by spontaneous emulsification: Effect of propylene glycol and ethanol on formation, stability, and properties. *Food Res Int.* 2013;**54**(1):812-820. **DOI:** 10.1016/j.foodres.2013.08.028
21. Asgharisana F, Gaibi S. study of the role of common bacterial etiology in neonatal sepsis in Urumiah Shahid. *NCMBJ.* 2011;**1**(3):17-21.
22. Javanshir A, Karimi E, Homayouni Tabrizi M. Investigation of Antioxidant and anti-bacterial potential of Ricinus communis L. nano-emulsions. *Jundishapur Sci Med J.* 2020;**19**(1):1-9. **DOI:** 10.22118/JSMJ.2020.193939.1761
23. Kang W, Yang H, Hong HJ, Han CH, Lee YJ. Anti-oxidant activities of kiwi fruit extract on carbon tetrachloride-induced liver injury in mice. *Korean J Vet Res.* 2012;**52**(4):275-280.
24. Saeidi P, Ketabchi S, Rowshan V. Assessment of chemical compositions and antibacterial activity of the extract and essential oil of Artemisia aucheri collected from Iran. *JMW.* 2017; **9**(4):346-354.
25. Sardarodiyan M, Arian Far A. Investigation of chemical components, antibacterial and antioxidant properties of essential oil Artemisia Khorasanica in North Khorasan area. *IFSET.* 2019;**11**(1):37-55.
26. Ghanjali A, Pourramezani Harati M. Survey Of antibacterial and antifungal impact of essential oil of Artemisia Kermanensis. *JPEP.* 2013;**7**(28):32-39.
27. Letchamo W, Xu HL, Gosselin A. Variations in photosynthesis and essential oil in thyme. *J Plant Physiol.* 1995;**147**(1):29-37. **DOI:** 10.1016/S0176-1617(11)81408-2
28. Nasirpour M, Yavarmanesh M, Mohhamadi Sani A, Mohamdzade Moghadam M. Antibacterial effect of aqueous extract of Artemisia aucheri, Artemisia sieberi and Hyssopus officinalis L. on the food borne pathogenic bacteria. *FSCT.* 2014;**12**(46):73-84.
29. Hendi E, Sefidkon F, Yousefi M, Teimouri M. Essential oil composition and antimicrobial activities of oil, alcoholic extract of Artemisia sieberi from Firoozkooh region. *IJBIO.* 2012;**25**(3):445-455.
30. Laciar A, Vaca Ruiz ML, Carrizo Flores R, Saad JR. Actividad antibacteriana y antioxidante del aceite esencial extraído de Artemisia echegarayi Hieron.(Asteraceae). *Rev Argent Microbiol.* 2009;**41**(4):226-231.
31. Younessi M, Farmani B, Alirezalu K, Fathizadeh O, Sabzi Nojadeh M. Study of phytochemical composition and antibacterial effects of artemisia fragrans willd. essential oil in different seasons. *FSCT.* 2019;**16**(91):357-367.
32. Erel ŞB, Reznicek G, Şenol SG, Yavaşoğlu NÜ, Konyalioğlu S, Zeybek AU. Antimicrobial and antioxidant properties of Artemisia L. species from western Anatolia. *Turk J Biol.* 2012;**36**:75-84. **DOI:** 10.3906/biy-0912-27
33. Saffari E, Khalili MA, MehrAbadi JF. The antibacterial activity of

[Downloaded from journal.nkums.ac.ir on 2025-12-05]

Artemisia quettensis essential oil and its synergy with imipenem. *Med J Tabriz Uni Med*. 2019;41(5):80-88. DOI: 10.34172/mj.2019.061

34. Sardarodiyan M, Arianfar A. Essential oil composition, antioxidant and antimicrobial activities of essential oil of Artemisia Turanica on typical foodborne pathogens. *JFST*. 2018; **15**(78):295-309.
35. Niakan M, Attar Pour Yazdi MM, Safaei-Ghomi J, Khaloei M, Djafari Z. Effect of Methanol Extracts of Artemisia persica on Kinetic Growth of S. aureus and B. subtilis Bacteria. *J Med Plants*. 2011;**10**(40):139-143.
36. Kazemi M, Dakhili M, Dadkhah A, Yasrebifar Z, Larijani K. Composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil of Artemisia kermanensis Podl., an endemic species from Iran. *J Med Plants Res*. 2011;**5**(18):4481-4486.
37. Heydari M, Bagheri M. The antimicrobial effects of hydro -extract of Mentha piperita lamiaceae essential oil nanoemulsion on gram -negative bacteria of Escherichia coli: A laboratory study. *J Rafsanjan Univ Med Sci*. 2019;**18**(6):515-528.
38. Sondi I, Salopek-Sondi B. Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on E. coli as a model for Gram-negative bacteria. *J Colloid Interface Sci*. 2004;**275**(1):177-182. DOI: 10.1016/j.jcis.2004.02.012 PMID: 15158396
39. Feng Q, Wu J, Chen G, Cui F, Kim T, Kim J. A mechanistic study of the antibacterial effect of silver Ions on Escherichia coli and Staphylococcus aureus. *J Biomed Mater Res*. 2000;**52**(4):662-668. DOI: 10.1002/1097-4636(20001215)52:4<662::aid-jbm10>3.0.co;2-3 PMID: 11033548
40. Wiegand I, Hilpert K, Hancock RE. Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. *Nat Protoc*. 2008;**3**(2):163–175. DOI: 10.1038/nprot.2007.521 PMID: 18274517
41. Bialvaei AZ, Kal HS. Colistin mechanisms and prevalence of resistance. *Cur Med Res Opin*. 2015;**31**(4):707–721. DOI: 10.1185/03007995.2015.1018989 PMID: 25697677
42. Sedighi I, Solgi A, Alikhani MY, Emad Momtaz H, Mihani F. Comparison of two different disk diffusion agar tests in determination of antibiotic susceptibility for E-coli isolated from urinary tract infection in pediatrics. *Avicenna J Clin Med*. 2010;**17**(1):17-20.

[Downloaded from journal.nkums.ac.ir on 2025-12-05]