مجله دنیای میکروب ها
سال سوم، شماره سوم (پیاپی ۸)، پاییز ۱۳۸۹
صفحات ۱۹۳ - ۱۸۶

Original Article

بررسی فعالیت‌های آنتی اکسیدانی و ضد باکتریایی عصاره‌های متانولی پنیرک و حنا بر برخی از باکتری‌های روده‌ای

زهرا حجتی بناب[۱]، الهامه نیکخواه*[۲]

[۱]مربی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد بناب، گروه میکروبیولوژی، [۲]مربی، مرکز تحقیقات کاربردی دارویی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

چکیده

سابقه و هدف: دو گیاه پنیرک و حنا به طور گسترده‌ای در طب سنتی آذربایجان شرقی کاربرد دارند. ترکیبات مؤثر موجود در این گیاهان می‌تواند عاملی برای فعالیت‌های زیستی این گیاهان و در نتیجه کاربردهای درمانی آن‌ها باشد. هدف از این پژوهش، ارزیابی فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی عصاره متانولی گیاه پنیرک و حنا بود.

مواد و روش‌ها: برای ارزیابی ظرفیت جمع‌آوری رادیکال‌های سوپراکسید توسط عصاره‌های متانولی گیاهان مورد بررسی، از سیستم اتواکسیداسیون پیروگالول استفاده شد. همچنین برای سنجش فعالیت‌های ضدمیکروبی از روش انتشار دیسک در برابر ۳ میکروارگانیسم روده‌ای استفاده گردید. سپس حداقل غلظت بازدارنده رشد باکتری نیز محاسبه گردید.

یافته‌ها: روش مورد استفاده به منظور سنجش فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی برای سنجش میزان جمع آوری رادیکال‌های سوپراکسید در مورد عصاره تام گیاهان مورد نظر مناسب نبود. اما در مورد روش‌های آنتی‌باکتریال، هر سه باکتری حساس به عصاره متانولی بودند و به طور متوسط قطر مهاری بین ۴ تا ۱۵ میلی‌متر را داشتند.

نتیجه‌گیری: نتایج پژوهش نشان داد که عصاره‌های تام گیاهان مورد استفاده، دارای اثرات ضدمیکروبی مناسبی بودند، اما اثر آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی نداشتند.

واژگان کلیدی: آنتی‌اکسیدان، ضدباکتری، رادیکال‌های آزاد، باکتری‌های روده‌ای

دریافت مقاله: شهریور ۱۳۸۹ پذیرش برای چاپ: آبان ۱۳۸۹

مقدمه

میکروارگانیسم‌ها نقش مهمی در ایجاد بیماری‌های انسان ایفا می‌کنند. مرگ و میر فراوان ناشی از این عوامل، همواره بشر را بر آن داشته تا به دنبال راه‌های مقابله با میکرارگانیسم‌ها باشد. با افزایش تعداد سویه‌های باکتریایی مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌های گوناگون، تلاش‌های بسیاری برای استفاده از توان بالقوه خاصیت ضدمیکروبی گیاهان انجام گرفته است. از طرف دیگر ظهور سویه‌های مقاوم در میان باسیل‌های گرم منفی و کوکسی‌های گرم مثبت مانند جنس‌های سودوموناس، کلبسیلا، انتروباکتر، استافیلوکوکوس و انتروکوکوس مشکلاتی را در درمان عفونت‌های ناشی از این باکتری‌ها به وجود آورده است (۱). ترکیبات

*) آدرس برای مکاتبه: تبریز، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، مرکز تحقیقات کاربردی دارویی، گروه فارماکوگنوزی
تلفن: ۰۹۱۴۴۲۰۱۹۳۵
پست الکترونیک: tu8084@yahoo.com

ضدمیکروبی به دست آمده از گیاهان می‌توانند با مکانیسم‌های متفاوتی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها، باکتری‌ها را حذف کنند. این مساله از نظر بالینی در درمان عفونت‌های ناشی از سویه‌های مقاوم میکروبی بسیار حائز اهمیت می‌باشد. همچنین اعتقاد بر این است که اثر اکسیداتیو رادیکال‌های آزاد و سایر گونه‌های اکسیژن فعال بر روی ترکیبات سلولی مثل لیپیدها و غشاهای سلولی، می‌تواند موجب ایجاد تعداد زیادی از بیماری‌های دژنرتیو مانند بیماری‌های قلبی، سرطان، التهاب، آرتریت، تضعیف سیستم ایمنی، اشکال در عملکرد مغز و آب مروارید شود (۵-۲). با توجه به دلایل یاد شده امروزه مردم تمایل بیشتری به استفاده از مواد غذایی طبیعی و نیز داروهای گیاهی به جای مواد شیمیایی دارند. در سال‌های اخیر ارزیابی ویژگی‌های عملکردی مواد طبیعی مورد استفاده در رژیم غذایی انسان مورد توجه بوده است (۶).

رادیکال‌های آزاد، مولکول‌هایی ناپایدار با واکنش‌پذیری بسیار بالا بوده که شامل انواع اکسیژن فعال (ROS) و نیتروژن فعال (RNS) می‌باشند. این مولکول‌ها به اشکال متفاوتی از جمله آنیون سوپر اکسید، هیدروکسیل، رادیکال‌های نیتریک اکساید و گونه‌های غیر رادیکالی مثل پراکسید هیدروژن و نیتروز اسید دیده می‌شوند. اشکال مختلف اکسیژن فعال می‌توانند موجب آسیب شوند که این امر در نهایت منجر به ایجاد جهش در مولکول DNA می‌گردد. رادیکال های آزاد برای پایداری خود به سایر مولکول‌ها بدن حمله می‌کنند و در نهایت آسیب‌های سلولی و تشکیل رادیکال های آزاد دیگر به دلیل واکنش‌های زنجیره ای را به دنبال دارند (۷). در مقابل این عوامل، آنتی اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که به مهار بسیاری از واکنش‌های اکسایشی ایجاد شده توسط رادیکال‌های آزاد کمک می‌نمایند و بدین وسیله آسیب وارده به سلول‌ها و بافت‌ها را مهار یا به تأخیر می‌اندازند. از جمله مکانیسم‌های عملکردی آنها واکنش جمع‌آوری گونه‌های رادیکال آزاد اکسیژن و نیتروژن می‌باشد (۷).

همچنین اغلب افراد در هنگام درمان مجبور به استفاده از انواع مختلفی از داروهای شیمیایی دارای عوارض جانبی شدیدتر هستند. از این رو استفاده از برخی گیاهان دارویی به منظور به حداقل رساندن عوارض داروهای شیمیایی مورد توجه بوده است.

از جمله این گیاهان می‌توان به پنیرک (*Malva silvestans*) و حنا (*Lowsonia inermis*) اشاره نمود که در طب سنتی کاربرد گسترده‌ای داشته و گونه‌های مختلف آن بومی بسیاری از مناطق کشور از جمله آذربایجان شرقی می‌باشند. در این مطالعه خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتریایی عصاره متانولی این دو گیاه مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

الف) تهیه عصاره‌های گیاهی: عصاره‌های متانولی گیاهان مورد بررسی به روش ماسراسیون تهیه گردیدند. به این منظور ابتدا گیاهان مورد نظر از منطقه آذربایجان شرقی جمع‌آوری و پس از تعیین گونه در هوای آزاد خشک شده و به شکل پودر درآمدند. سپس ۱۰۰ گرم از این پودر خشک در ۵۰۰ میلی لیتر متانول خیسانده شد و محلول مورد نظر پس از ۴ ساعت از صافی عبور داده شد. این عمل سه تا پنج بار تکرار گردید. در این آزمایش برای خشک کردن عصاره از دستگاه روتاری اواپوریتور در خلأ در دمای حدود ۴۰ درجه سانتیگراد استفاده شد و وزن خشک هر کدام به صورت درصد تعیین گردید.

ب)بررسی فعالیت‌های ضدمیکروبی: سویه‌های استاندارد باکتری‌های اشریشیا کلی، کلبسیلا اکسی توکا و انتروباکتر کلوآکه از کلکسیون میکروبی سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه شد. سپس از روش انتشار دیسک برای ارزیابی فعالیت ضدمیکروبی استفاده شد. در این روش ابتدا دیسک‌های استریل در محلول عصاره انداخته شدند و پس از خیس خوردن از آن‌ها استفاده گردید. محیط کشت مولرهینتون آگاری که از قبل تهیه شده بود به ضخامت ۵ میلی‌متر به پتری دیش‌های انتخابی استریل اضافه شد. سپس نمونه باکتری توسط اپلیکاتور از محیط کشت پایه برداشته و به محیط کشت تلقیح گردید. دیسک‌های آماده حاوی عصاره که حلال آن‌ها کاملاً تبخیر شده بود به کمک پنس استریل در فواصل معین از یکدیگر بر روی محیط کشت قرار داده شدند. همچنین فعالیت آنتی‌باکتریایی دیسک‌های آنتی‌بیوتیک استاندارد (سفتیزوکسیم و کوتریموکسازول) نیز در پتری دیش‌های جداگانه ارزیابی گردید. در نهایت پتری‌دیش‌های تلقیح شده در

جدول ۱: میانگین قطر هاله عدم رشد باکتری توسط عصاره های متانولی گیاهان مختلف ±SD.

میکروارگانیسم	پنیرک	حنا	شاهد (سفتیزوکسیم)	شاهد (کوتریموکسازول)
اشریشیا کلی	٤/٤٥ ± میلی متر ٥/٦٦	١/٢٦ ± میلی متر ٩	٣٥	٣٠
کلبسیلا	٢/٤٤ ± میلی متر ١	١/٦ ± میلی متر ١٠/١٦		
انتروباکتر	٣/٦١ ± میلی متر ٢/٣٣	٢/٠٦ ± میلی متر ٩/٦٦		

دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه گذاری شد و پس از ۲۴ ساعت قطر هاله‌های عدم رشد ایجاد شده در اطراف دیسک‌ها با کولیس اندازه‌گیری گردیدند. همچنین از روش رقت لوله‌ای برای تعیین حداقل غلظت بازدارنده رشد باکتری (MIC) استفاده گردید.

ج) ظرفیت جمع‌آوری رادیکال‌های سوپر اکسید: در ابتدا ۹ میلی‌لیتر از محلول بافر تریس- HCl دارای ۸/۲pH (۵۰ میلی‌مول در لیتر) به درون لوله آزمایش اضافه و در حمام آب گرم با دمای ۲۵ درجه سانتی گراد به مدت ۲۰ دقیقه انکوبه گردید. سپس ۴۰ میکرولیتر از محلول پیروگالول (۴۵ میلی‌مول در لیتر از پیروگالول در ۱۰ میلی‌مول در لیتر از HCl) که از قبل در دمای ۲۵ درجه‌سانتی‌گراد انکوبه شده بود توسط یک سرنگ همیلتون به لوله آزمایش اضافه و مخلوط گردید. مخلوط حاصل در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ دقیقه انکوبه شد. سپس جهت اتمام سریع واکنش یک قطره اسکوربیک اسید به مخلوط اضافه گردید. پس از ۵ دقیقه جذب در طول موج ۴۲۰ نانومتر به عنوان A_0 اندازه گیری گردید. در این مطالعه A_0 نشان‌دهنده سرعت اکسیداسیون پیروگالول می‌باشد. سرعت اتواکسیداسیون(A_1) توسط روش یاد شده اندازه‌گیری گردید و این بار غلظت معینی از عصاره به درون محلول بافر تریس- HCl اضافه شد. در نهایت یک کنترل شاهد از عامل به عنوان A_2 به دست آمد. درصد جمع‌آوری رادیکال‌های سوپراکسید بر اساس فرمول زیر پس از سه بار تکرار محاسبه گردید:

$$\text{درصد جمع آوری} = [A_0 - (A_1 - A_2)] \times 100 / A_0$$

د) آنالیز آماری داده‌ها: تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نسخه هجدهم نرم افزار SPSS و آزمون تحلیل واریانس داده‌ها (ANOVA) انجام گرفت. مرز معنی‌داری در $p<۰/۰۵$ قرار داده شد.

نتایج

در این مطالعه مقدار ماده مؤثر استخراج شده توسط متانول از گیاهان پنیرک و حنا به ترتیب ۱۲ و ۲۲ درصد گزارش گردید. نتایج به دست آمده از آزمون‌های انتشار دیسک در جدول ۱ مشخص شده است. نتایج نشان داد که عصاره متانولی گیاه پنیرک بر اشریشیاکلی مؤثر می‌باشد، اما در مورد کلبسیلا فاقد اثر و بر روی انتروباکتر اثر بسیار جزیی وجود داشت. عصاره های متانولی حنا بر هر سه گونه باکتری مؤثر بود و هاله عدم رشد باکتری در هر سه مورد مشاهده گردید. همچنین عصاره متانولی گیاهان پنیرک و حنا بر میانگین هاله عدم رشد باکتری‌های انتروباکتر و کلبسیلا اثر مشابه داشتند. نتایج آنالیز آماری در مورد عصاره متانولی گیاه پنیرک نشان داد که اختلاف معنی داری بین هیچ کدام از گروه‌های باکتری وجود ندارد. در مورد عصاره متانولی گیاه حنا، تنها بین کلبسیلا و انتروباکتر اختلاف معنی داری وجود داشت. نتایج به دست آمده از آزمون‌های رقت لوله‌ای (جدول ۲) نشان دادند که عصاره های متانولی گیاهان مورد مطالعه در محیط مایع نیز روی باکتری‌ها مؤثر می‌باشد. بیشترین مقدار MIC عصاره‌های متانولی گیاهان پنیرک و حنا در باکتری اشریشیا کلی مربوط به غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود. همچنین با استفاده از سیستم اتواکسیداسیون

جدول ۲: حداقل غلظت مهارکنندگی MIC عصاره‌های متانولی گیاهان مختلف.

		غلظت های مورد بررسی (میلی گرم/میلی لیتر)							
عصاره	میکروارگانیسم	۱	۰/۷۵	۰/۵	۰/۲	۰/۱	۰/۰۵	کنترل منفی	کنترل مثبت
پنیرک	اشریشیا کلی	+	+	+	−	−	−	−	+
	کلبسیلا	−	−	−	−	−	−	−	+
	انتروباکتر	−	−	−	−	−	−	−	+
حنا	اشریشیا کلی	+	+	+	−	−	−	−	+
	کلبسیلا	+	+	+	+	+	−	−	+
	انتروباکتر	+	+	+	+	+	−	−	+

کنترل منفی= محیط کشت + عصاره کنترل مثبت= محیط کشت + سوسپانسیون میکروبی

پیروگالول، تغییرات منظمی در میزان جمع‌آوری رادیکال‌های سوپر اکسید توسط غلظت‌های مختلف عصاره‌های متانولی گیاهان پنیرک و حنا مشاهده نگردید (جدول ۳).

بحث

به طور کلی گیاهان طیف وسیعی از فعالیت‌های زیستی مانند فعالیت‌های ضدمیکروبی، آنتی‌اکسیدانی و فعالیت‌های دیگر را از خود نشان می‌دهند. مواد شیمیایی استخراج شده از گیاهان به عنوان ترکیبات ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی به دلیل عوارض جانبی کمتر می‌توانند جایگزین داروهای سنتتیک مطرح شوند. در کشور ما نیز همانند دیگر نقاط جهان، اهمیت تحقیق و مطالعه بر روی گیاهان دارویی مشخص شده است (۸). با توجه به نقش مهمی که گیاهان دارویی در درمان برخی بیماری‌های عفونی ایفا می‌کنند در این مطالعه خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتریایی عصاره متانولی دو گیاه پنیرک و حنا را مورد ارزیابی قرارگرفت.

گیاه پنیرک به دلیل داشتن ترکیبات خاصی مانند موسیلاژها، تانن‌ها و اسانس‌های فرار دارای خواص ضد التهابی و مُسهل ملایم می‌باشد. والتر (Walter) و همکاران در سال ۲۰۱۱ فعالیت‌های ضدباکتریایی چندین گیاه از جمله پنیرک را بر باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی بررسی نمودند. مطالعات آن‌ها نشان داد که این گیاهان دارای خواص آنتی باکتریال به ویژه در برابر باکتری اشریشیا کلی می‌باشند (۹). این یافته‌ها با نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر هم خوانی دارد. به طوری که بیشترین فعالیت ضدباکتریایی عصاره متانولی گیاه پنیرک نیز در مقابل باکتری اشریشیا کلی مشاهده گردید. بررسی‌های پیربلوطی (Pirbaluti) و همکارانش نشان داد که گیاه پنیرک به همان اندازه که دارای فعالیت‌های ضد باکتریایی و ضدالتهابی است، برای درمان مشکلات پوستی نیز مفید می‌باشد (۱۰). ایزلام (Islam) و همکاران در سال ۲۰۱۰ فعالیت‌های ضدباکتریایی عصاره‌های هگزانی، کلروفرمی و اتانولی سه گونه دیگر از گیاه پنیرک را مورد بررسی قرار دادند. یافته‌های آن‌ها نشان داد که میزان فعالیت عصاره اتانولی بیشتر از آبی بوده است. از طرفی عصاره‌های هگزانی در برابر باکتری‌های گرم مثبت و منفی، اثر بهتری نسبت به عصاره‌های کلروفرمی داشتند (۱۱). رضوی و همکاران در سال ۲۰۱۱ فعالیت زیستی گیاه پنیرک را ارزیابی کردند. محققین یاد شده نشان دادند که عصاره متانولی برگ‌ها و گل‌های این گیاه دارای خواص ضدباکتریایی قوی می‌باشد (۱۲). مطالعات گیاه شناسی نشان داده است که برگ‌های حنا حاوی ماده‌ای رنگی به نام لاوسون یا هیدروکسی نفتوکینون

جدول ۳: ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی روش اتواکسیداسیون پیروگالول.

	غلظت های مورد بررسی (میلی گرم /میلی لیتر)					
عصاره	۱	۰/۷۵	۰/۵	۰/۲	۰/۱	۰/۰۵
پنیرک	-	-	-	-	-	+
حنا	-	-	+	+	+	-

(۱/۳- ۰/۲۲ درصد)، گلیکوزیدهای فنلی متعدد کومارین، گزانتون، کینوئید، گلیکوزید بتاسیتوسترول و فلاونوئیدهایی مانند لوتئولین و مشتق گلوکوزیدی آن، چربی، رزین، تانن و سایر مواد مانند اسید گالیک، نفتوکینون، لاکسانتون، آکاستین گلیکوزیدی و مقدار کمی آلکالوئید می‌باشند (۱۳). آرون (Arun) و همکاران در سال ۲۰۱۰ خواص ضدباکتریایی و محتوای فنولی عصاره متانولی حنا را بررسی کردند. مطالعه آن‌ها نشان داد که این فعالیت‌ها به دلیل حضور ترکیباتی مانند آلکالوئیدها، فلاونوئیدها، تانن‌ها و کوئینون‌ها در گیاه حنا می‌باشد. همچنین عصاره متانولی حنا بیشترین فعالیت را به ترتیب در برابر باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، اشریشیا کلی و کلبسیلا نشان داد (۱۴). نتایج پژوهش حاضر نیز نشان داد که در مورد عصاره متانولی گیاه حنا، تنها بین کلبسیلا و انتروباکتر اختلاف معنی‌داری وجود دارد. هابال (Habbal) و همکاران در سال ۲۰۱۱ فعالیت ضد باکتریایی گیاه حنا را در برابر گونه‌های سودوموناس نشان دادند (۱۵). سعدابی (Saadabi) در سال ۲۰۰۷ به بررسی فعالیت‌های ضدمیکروبی عصاره‌های آبی، متانولی و کلروفرمی حنا پرداختند. یافته‌های آنها نشان داد که عصاره آبی گیاه حنا دارای خواص قوی تری نسبت به سایر عصاره‌های مورد بررسی بوده است. نتایج آنالیز فیتوشیمیایی نیز نشان داد که حضور آنتراکینون عامل اصلی فعالیت ضدمیکروبی در برگ‌های گیاه حنا می‌باشد (۱۶). فردوس (Ferdous) و همکاران در سال ۱۹۹۰ خصوصیات ضدمیکروبی گیاه حنا (گونه *Lawsonia alba*) را مورد بررسی قرار دادند و دریافتند که هر سه نوع عصاره آبی، اتانولی و کلروفرمی خصوصیات ضدمیکروبی مناسبی را نشان می‌دهند (۱۷). نتایج به دست آمده در پژوهش جاری نیز نشان داد که بیشترین مقدار MIC در گیاهان پنیرک و حنا مربوط به غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره‌های متانولی (در اشریشیا کلی) می‌باشد. مطالعات گسترده‌ای نشان داده است که خاصیت آنتی اکسیدانی گیاهان پنیرک و حنا وابسته به حضور ترکیبات شیمیایی ویژه‌ای مانند فلاونوئیدها و نیز آنتوسیانین‌های موجود در گیاه می‌باشد. این ترکیبات به عنوان جمع‌آوری کننده‌های رادیکال‌های آزاد ونیز مهار کننده پراکسیداسیون لیپیدی شناخته شده‌اند (۱۸). از طرفی روش عصاره گیری و نوع حلال مورد استفاده نیز می‌توانند در فعالیت ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی یک گیاه مؤثر باشد. آفولایان (Afolayan) و همکاران در سال ۲۰۰۸ محتویات فنلی و فعالیت جمع‌آوری رادیکال‌ها را در گونه *Malva parviflora* بررسی کردند. نتایج آن‌ها نشان داد که عصاره متانولی در مهار ABTS (۲و۲ آزینو ۳ اتیل بنزوتیازولین ۶ سولفونیک اسید) نسبت به رادیکال‌های DPPH (۲و۲دی فنیل ۱ پیکریل هیدرازیل) به میزان قابل توجهی موثرتر است. آنها همچنین بیان کردند که استفاده نسبی از این گیاه به عنوان یک داروی بهبود زخم می‌تواند تا حدی به دلیل فعالیت فلاونوئیدهای موجود در عصاره باشد. یافته‌های محققین یاد شده نشان داد که فلاونوئیدها علاوه بر فعالیت ضدالتهابی و ضدباکتریایی می‌توانند مسئول فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی قوی مشاهده شده در فعالیت مهار رادیکال‌های ABTS نیز باشند (۱۹). شلبایا (Shelbaya) و باروس (Barros) در مطالعه‌ای جداگانه بر روی عصاره‌های هیدروالکلی، اترنفتی و برگ‌های پنیرک، فعالیت آنتی اکسیدانی این گیاه را اثبات کردند (۱۵ و۱۶). خداپرست (Khodaparast) و همکاران در سال ۲۰۰۷ با بررسی ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌های آبی و متانولی برگ‌های حنا نشان دادند که عصاره آبی دارای فعالیت مؤثرتری می‌باشد. آن‌ها همچنین بیان کردند که روش استخراج، اثر مهمی بر ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره حنا دارد (۲۰). لینگ (Ling) و همکاران در سال ۲۰۱۰ در بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌های اتانولی و آبی دریافتند که عصاره‌های اتانولی فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی‌تری نسبت به عصاره‌های آبی دارند (۲۱).

برای سنجش ظرفیت جمع‌آوری رادیکال‌های سوپر اکسید دو روش عمده سیستم اتواکسیداسیون پیروگالول و سیستم

ریبوفلاوین وجود دارد. هر دو این روش‌ها بر اساس اندازه گیری فعالیت سوپراکسید دیسموتاز هستند، اما مکانیسم‌های متفاوتی برای تولید رادیکال‌های سوپراکسید دارند و این تفاوت می‌تواند دلیلی بر تفاوت نتایج حاصل از هر کدام باشد. در تحقیق حاضر ظرفیت جمع‌آوری رادیکال‌های سوپر اکسید توسط عصاره‌های متانولی گیاهان مورد مطالعه با استفاده از سیستم اتواکسیداسیون پیروگالول بررسی گردید. یافته‌ها نشان داد که عصاره های متانولی هیچ یک از گیاهان مورد بررسی تغییرات منظمی را نشان نمی‌دهند و در جمع آوری رادیکال های سوپراکسید فعالیت مؤثری ندارند. بنابراین هر ماده موجود در سیستم واکنش موثر بر اکسیداسیون پیروگالول، ممکن است روی نتیجه آزمایش تاثیر داشته باشد. از طرف دیگر به دلیل خام بودن و تفکیک نشدن عصاره متانولی گیاهان مورد بررسی، این امکان وجود دارد که وجود برخی مواد، اکسیداسیون پیروگالول را تشدید و بنابراین اثرات مهاری را کاهش دهد.

این در حالی است که بررسی‌ها نشان داده است که در سیستم ریبوفلاوین، رادیکال‌های سوپراکسید تولید شده و توسط ترکیبات سیستم واکنش تحت تاثیر قرار نمی‌گیرند. حتی اگر هردوی این روش‌ها در مورد گیاهی به کار گرفته شود، مشاهده می‌شود که درصد مهار توسط سیستم ریبوفلاوین نسبت به پیروگالول بیشتر است (۲۲-۲۴). بنابراین پیشنهاد می‌شود تنها زمانی از روش اکسیداسیون پیروگالول استفاده گردد که عصاره به اجزای تشکیل دهنده خود تفکیک شده و یا ترکیبات تشکیل‌دهنده عصاره خام پیچیدگی زیادی نداشته باشند.

نتیجه گیری

با وجود اثر مناسب ضدمیکروبی عصاره‌های تام گیاهان مورد پژوهش، اما اثر آنتی اکسیدانی قابل تشخیص نبود. از این رو ضرورت سنجش روش‌های دیگر برای بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی وجود دارد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از آقای دکتر بابایی، ریاست محترم مرکز تحقیقات کاربردی دارویی دانشگاه علوم پزشکی تبریز و آقای دکتر دل‌آذر ریاست محترم آزمایشگاه فارماکوگنوزی این مرکز و سرکار خانم واحدی، کارشناس محترم آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد بناب به دلیل همکاری صمیمانه کمال امتنان را دارند.

References

1. Oussalah M, Caillet S, Saucier L, Lacroix M. Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli* O157: H7, *Salmonella typhimurium, Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. Food Control. 2007; 18 (5): 414-20.
2. Aruoma OI. Free radicals, oxidative stress and antioxidants in human health and disease. J Am Oil Chem Soc. 1998; 75(2): 199-212.
3. Block G, Langseth L. Antioxidant vitamins and disease prevention. Food Technol. 1994; 48(7): 80-84.
4. Hertog MGL, Feskens EJM, Hollman PCH, Katan MB, Kromhout D. Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: The Zutphen elderly study. Lancet. 1993; 342(8878): 1007-1011.
5. Lee, J Koo, N Min DB. Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals. Compr Rev Food Sci Food Saf. 2004; 3(1): 21-33.
6. Zhonggao C, Felgines O, Texier C, Besson D Jiao, Liu J, Wang S. Antioxidant activities of total pigment extract from blackberries. Food Technol Biotechnol. 2005; 43(1): 97-102.
7. Nikkhah E, Khayami M, Heidari R. Evaluation of nitric oxide scavenging activity of anthocyanins from blackberry (*Morus nigra*), strawberry (*Fragaria vesca*) and berry (*Morus alba Var, Nigra*) extracts. Iran J Med Arom Plants. 2009; 25(1): 120-128.
8. Jalali M, Abedi D, Asghari GH, Rezaee ZA. Study of Anti-Microbial Effect of Pycnocycla Spinosa's Fruit Extracts. J Mazan Uni Med Sci. 2007; 17(59): 76-86. [In Persian].
9. Walter C, Zabta K, Wari S, Afzal I, Malik RN. Antibacterial activityin herbal products used in Pakistan. Pak J Bot. 2011; 43: 155-162.
10. Pirbalouti AG, Yousefi M, Nazari H, Karimi I, Koohpayeh A. Evaluation of burn healing properties of *Arnebia euchorma* and *Malva sylvestris*. Elec J Bio. 2009; 5(3): 62-66.
11. Islam M, Ali E, Asif Saeed M, Jamshaid M, Tahir Javed Khan M. Antimicrobial and irritant activities of the

extracts of *Malva parviflora L, Malvastrum coromandelianum L*, and *Amaranthus viridis* L. Pak J Pharm. 2010; 20-23 (1 & 2): 3-6.
12. Razavi SM, Zarrini Gh, Molavi Gh, Ghasemi Gh. Bioactivity of *Malva Sylvestris* L, a Medicinal Plant from Iran, Iranian Journal of Basic Medical Sciences. 2011; 14(6): 574-579.
13. Gagandeep Ch, Sandeep G, Priyanka P. *Lawsonia inermis* Linnaeus: A Phytopharmacological Review. Int J Pharma Sci Drug Res. 2010; 2(2): 91-98.
14. Arun P, Purushotham KG, Johnsy jayarani J, kumaraV. In vitro antibacterial activity and flavonoid contents of *Lawsonia inermis* (Henna). Int J PharmTech Res. 2010; 2(2): 1178-1181.
15. Habbal O, Hasson SS, El-Hag AH, Al-Mahrooqi Z, Al-Hashmi N, Al-Bimani Z, Al-Balushi MS, Al-Jabri AA. Antibacterial activity of *Lawsonia inermis* Linn (Henna) against *Pseudomonas aeruginosa*. Asi Pac J Trop Biomed. 2011; 1(3): 173-176.
16. Saadabi A. Evaluation of *lawsonia inermis* Linn, (soudanese henna) leaf extracts as an antimicrobial agent. Res J Biol Sci. 2007; 2(4): 419-423.
17. Ferdous AJ, Islam N, Faroque ABM, Ahsan M. In vitro testing of the leaf extracts of *Lowsonia alba* for antimicrobial properties. Pak J Pharma Sci. 1990; 3(2): 75-79.
18. Stief TW. The physiology and pharmacology of singlet oxygen. Med Hypotheses. 2003; 60(4): 567-572.
19. Afolayan AJ, Aboyade OM, Sofidiya MO. Total phenolic content and free radical scavenging activity of *Malva parviflora* L, (Malvaceae). J Biol Sci. 2008; 8(5): 945-949.
20. Khodaparast H, Hosein M, Dezashibi Z. Antioxidant activity of Henna leaves extracts (*Lawsonia inermis*).World J Dairy Food Sci. 2007; 2 (1): 38-41.
21. Ling LT, Radhakrishnan AK, Subramaniam TH, Cheng MH, Palanisamy UD. Assessment of Antioxidant Capacity and Cytotoxicity of Selected Malaysian Plants. Molecules. 2010; 15(4): 2139-2151.
22. Zhonggao C, Felgines O, Texier C, Besson DJ, Liu J, Wang S. Antioxidant Activities of Total Pigment Extract from Blackberries. Food Technol Biotechnol. 2005; 43(1): 97-102.
23. Li CM, Xie BJ. Investigation with spectrophotomeric method on the radical scavenging effect of tea polyphenol and its oxidant. Fine Chemicals. 2000; 17: 241-244.
24. Zhang WJ, Ge C. Comparation of pyrogallol autoxida-tion and NBT photoreduction assay in detecting activity of SOD. Journal of Hebei Vocation-Technical Teachers College. 2000; 14: 68-70.

Journal of Microbial World
Volume 3, No. 3, Sep. 2010

Evaluation of Antioxidant and Antimicrobial Activities of Methanolic Extract from *Malva silvestans* and *Lowsonia inermis* on intestinal bactria

Zahra Hojjati Bonab[1], Elhameh Nik khah[2]

[1]Department of Microbiology, Bonab Branch, Islamic Azad University, Bonab, Iran.
[2]Drug Applied Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

Abstract

Background and Objectives: Malva silvestans and *Lawsonia inermis* are widely used in the East Azerbaijan folk medicine. The effective compounds of these plants describe probabely their biological activities and therapeutic activity. In this study, methanolic extract of these plants were used to detect antioxidant and antimicrobial activity.

Material and Methods: Superoxide anion radical scavenging assay was used for antioxidant activity test in which the superoxide anion radicals were generated by a pyrogallol auto oxidation system. The antimicrobial activity of methanolic extract of these plants was tested by disc diffusion method against three enteric microorganisms. The minimal inhibitory concentrations (MICs) of methanolic extracts were determined, too.

Results: The used assay for assessment of antioxidant activity in order to determine the accumulation of superoxide radicals in total extract of plant was not appropriate. However, for antibacterial assays, all three bacteria were susceptible to methanolic extract and showed 4 to 15 mm zone of inhibition.

Conclusion: Although the total extracts of plants used in this study had appropriate antimicrobial activities,their antioxidant effects was not significant.

Key words: Antioxidant, Antibacterial, Free Radicals, Enteric Bacteria

Correspondence to: Elhameh Nik khah
E-mail: tu8084@yahoo.com
Tel: +989144201935
Journal of Microbial World 2010 3(3): 186-193