



Phytochemical investigation and antimicrobial effects of *Moringa oleifera*  
Lam. extract propagated through tissue culture

Asieh Eshag Zadeh<sup>1</sup>, Mahboubeh Taherkhani<sup>2\*</sup> 

<sup>1</sup> Department of Phytochemistry and Essential Oils Technology, Faculty of Pharmaceutical Chemistry, Pharmaceutical Sciences Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

<sup>2</sup> Department of Chemistry, Takestan Branch, Islamic Azad University, Takestan, Iran, Email: [mah.taherkhani@iau.ac.ir](mailto:mah.taherkhani@iau.ac.ir)

Serial 40, 10th year, Number 4, Winter 2023 (75-92)

**Article type:**

Research Full Paper

**Article history**

Received: 2021/12/12

Revised: 2022/1/24

Accepted: 2022/4/7

**Keywords**

Anti bacterial

Extraction

Quercetin

*Moringa oleifera* Lam.

Tissue culture

**Abstract**

*Moringa oleifera* Lam. is a tropical tree belonging to the family Moringaceae with 14 species. This study investigated the phytochemical and antimicrobial effects of *M. oleifera* extract propagated through tissue culture in Iran in the spring of 2016. The extract of plant obtained from tissue culture was extracted by maceration in a solvent, and purified quercetin as a natural compound was extracted through a column and thin layer chromatography, then the molecular structure of flavonoid was identified through Nuclear Magnetic Resonance spectroscopy and Infrared technique. To estimate the antibacterial activity, the total plant extract was obtained by Methanol, Chloroform, and Ethyl acetate and finally the Minimal Inhibitory Concentration (MIC) and the Minimal Bactericidal Concentration (MBC) were determined. The antimicrobial effect of this plant against four bacterial strains of *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Escherichia coli* was investigated by plate well method in a liquid medium. The maximal inhibitory concentration (20 mm) was obtained from the methanolic extract. Also, the best results of MIC and MBC were obtained from the effect of 40 mg/ml of methanolic extract on the *E. coli* strain. Therefore, it is concluded that the extract of *M. oleifera* plant is a rich source of antioxidant compounds such as flavonoids, and also its methanolic extract has significant antimicrobial properties.

Please cite this article as: Eshag Zadeh, A., Taherkhani, M. (2023). Extraction and purification of a natural compound with investigation of antimicrobial effects of *Moringa oleifera* Lam extract propagated through tissue culture, *Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants*. 10(4): 75-92.



© 2023. All Rights Reserved

DOI: 10.30495/ejmp.2022.1947044.1667

DOR: 20.1001.1.23223235.1401.10.4.5.5



## بررسی فیتوشیمیایی و اثر ضد میکروبی عصاره گیاه دارویی *Moringa oleifera* Lam. تکثیر یافته از طریق کشت بافت

آسیه اسحاق زاده<sup>۱</sup>، محبوبه طاهرخانی<sup>۲\*</sup>

<sup>۱</sup> گروه فیتوشیمی و شیمی فناوری اسانس، دانشکده شیمی دارویی، واحد علوم دارویی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

<sup>۲</sup> گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، واحد تاکستان، دانشگاه آزاد اسلامی، تاکستان، ایران، رایانامه: mah.taherkhani@iau.ac.ir

سال دهم، شماره ۴۰، زمستان ۱۴۰۱ / صفحات: ۷۵-۹۲

نوع مقاله:	چکیده
مقاله کامل علمی-پژوهشی	گیاه گز روغنی ( <i>Moringa oleifera</i> Lam.) یک درخت گرمسیری متعلق به خانواده Moringaceae و دارای ۱۴ گونه در آفریقا، ماداگاسکار، آسیای غربی و شبه قاره هند است. این تحقیق به بررسی فیتوشیمیایی و اثرات ضد میکروبی عصاره گیاه <i>M. oleifera</i> تکثیر یافته از طریق کشت درون شیشه‌ای در ایران می‌پردازد. در بهار سال ۱۳۹۵، با کشت بافت اثرات محیط را بر روی مقدار و میزان ترکیبات فیتوشیمیایی حذف کردیم و بدین صورت از توان و پتانسیل ژنتیکی گیاه آگاه شدیم. عصاره گیاه کشت بافتی به روش خیساندن در حلال، استخراج و در نهایت ترکیب کوئرستین به‌عنوان یک فلاونوئید از طریق کروماتوگرافی ستونی و لایه نازک، استخراج، خالص سازی و سپس از طریق طیف سنجی رزونانس مغناطیسی هسته و تکنیک مادون قرمز شناسایی و تعیین ساختار مولکولی گردید. همچنین اثر آنتی میکروبی عصاره تام این گیاه توسط خیساندن در سه حلال متانول، کلروفرم و اتیل استات علیه چهار سویه باکتریایی <i>Staphylococcus aureus</i> ، <i>Bacillus subtilis</i> ، <i>Pseudomonas aeruginosa</i> و <i>Escherichia coli</i> به روش چاهک پلیت در محیط مایع مورد بررسی قرار گرفت و در نهایت حداقل غلظت مهار کنندگی رشد (MIC) و حداقل غلظت کشندگی باکتری (MBC) برای سویه‌های مذکور تعیین گردید. بزرگترین‌هاله عدم رشد مربوط به عصاره متانولی و به میزان ۲۰ میلی متر بدست آمد. مؤثرترین نتیجه با توجه به مقادیر MIC و MBC مربوط به تأثیر عصاره متانولی بر روی سویه <i>E. coli</i> با غلظت ۴۰ mg/ml بدست آمد. در نتیجه عصاره گیاه <i>M. oleifera</i> منبع غنی از مواد آنتی‌اکسیدانی نظیر فلاونوئیدها و همچنین عصاره متانولی آن دارای خاصیت آنتی میکروبی قابل توجهی می‌باشد.
تاریخ ارسال: ۱۴۰۰/۹/۲۱	
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۰/۱۱/۴	
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱/۱۸	
<b>واژه‌های کلیدی:</b>	
آنتی باکتریال	
استخراج	
کشت بافت	
کوئرستین	
گز روغنی	

استناد: اسحاق زاده، آ.، طاهرخانی، م. (۱۴۰۱). بررسی فیتوشیمیایی و اثر ضد میکروبی عصاره گیاه دارویی *Moringa oleifera* Lam.

تکثیر یافته از طریق کشت بافت. فصلنامه اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی، ۱۰ (۴)، ۷۵-۹۲.

DOI: 10.30495/ejmp.2022.1947044.1667  
DOR: 20.1001.1.23223235.1401.10.4.5.5

ناشر: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرگان

© نویسندگان.



## مقدمه

گیاه *Moringa oleifera* Lam. یک درخت گرمسیری متعلق به خانواده Moringaceae است که دارای ۱۴ گونه می باشد (Meireles et al., 2020). این گیاه در جنوب ایران به نام گز روغنی مشهور است، که به عنوان مهمترین منعقد کننده طبیعی دنیا شناخته شده است (Anwar et al., 2007). گونه *M. oleifera* بومی هند شمالی و معروف ترین گونه در بین همه گونه ها می باشد. این درخت نسبت به خشکی مقاوم بوده و به درخت معجزه معروف است (Anzano et al., 2021). گونه دیگری از این درخت به نام *Moringa peregrina* (خار عروس) بومی کشور ایران است و در نواحی بیابانی استان سیستان و بلوچستان رشد می نماید و دارای خاصیت تصفیه آب و ضد میکروبی می باشد (Kebreab, 2004). برگ های درخت *M. oleifera* سرشار از ویتامین ها، مواد معدنی و پروتئین ها می باشد (Katayon et al., 2006)، به طوری که در ۱۰۰ گرم از برگ خشک *M. oleifera* می توانیم ۷ برابر بیشتر از پرتقال ویتامین C، ۱۰ برابر بیشتر از هویج ویتامین A، ۱۷ برابر بیشتر از شیر کلسیم، ۹ برابر بیشتر از ماست پروتئین، ۱۵ برابر بیشتر پتاسیم نسبت به موز و ۲۵ برابر بیشتر از اسفناج آهن دریافت کنیم (Meireles et al., 2020).

بخش های مختلف گیاه گز روغنی برای درمان چندین بیماری مانند سوء تغذیه، دیابت، نابینایی، کم خونی، فشار خون بالا، استرس، افسردگی، پوست، آرتريت، مفاصل و سنگ کلیه استفاده می شود (Farooq et al., 2021). اختلالات این گیاه همچنین توانایی کمک به حفظ سلامت سیستم قلبی عروقی، سطح گلوکز خون و ایجاد فعالیت آنتی اکسیدانی، ضد التهابی و ضد سرطانی و همچنین تنظیم دستگاه ادراری و شیردهی را در زنان شیرده از خود نشان داد (Meireles, et al., 2020). تقریباً تمام قسمت های

مختلف *M. oleifera* به عنوان مواد تشکیل دهنده در داروهای گیاهی سنتی مورد استفاده قرار می گیرد و سرشار از ساپونین، تانن، فلاونوئیدها، فنولیک ها و قند احیا کننده می باشد (Wallace et al., 2021). برگ های گیاه *M. oleifera* منبع ویتامین ها و مواد معدنی بوده و به صورت پودری و کپسول شده با ارزش غذایی بسیار بالا به فروش می رود (Mukunzi et al., 2011)، به طوری که دمنوش برگ تازه و خرد شده این گیاه شامل پروتئین، ویتامین B، ویتامین C، آهن، ریبوفلاوین (B<sub>2</sub>)، ویتامین A (بتا-کاروتن) و منیزیم می باشد. گیاه *M. oleifera* به صورت خوراکی در سالاد به کار می رود و برگ های تازه آن که حاوی مقادیر زیادی از ویتامین C و ویتامین A است (Mukunzi et al., 2011). همچنین عصاره دانه *M. oleifera* تأثیر اندکی بر pH دارد و در حذف کدورت های بالای آب (تصفیه آب) به کار می رود (Bina et al., 2007). تمام قسمت های *M. oleifera* از جمله دانه ها، برگ ها، ریشه ها، گل ها، ساقه، غلاف دارای ارزش دارویی سنتی هستند، به طوری که *M. oleifera* سرشار از ترکیبات گیاهی مختلف مانند فلاونوئیدها، کاروتنوئیدها، ایزوتیوسیانات ها، پلی فنل، ساپونین ها، آلکالوئیدها، گلیکوزیدهای قلبی، کربوهیدرات ها و گلوکوزینولات ها است (Shah and Oza, 2020). گیاه *M. oleifera* نه تنها پاتوژن ها از جمله باکتری ها، قارچ ها، ویروس ها و انگل ها را از بین می برد، بلکه از التهاب مزمن مانند آسم، کولیت و بیماری های متابولیک نیز جلوگیری می کند و همچنین اختلالات ایمنی ناشی از تحریک فیزیکی و شیمیایی، مانند مسمومیت با فلزات، عوارض جانبی دارو، یا حتی اثرات نامطلوب افزودنی های غذایی را کاهش داده و بیماری های خود ایمنی مانند آرتريت روماتوئید، درماتیت آتوپیک و ام اس نیز می توانند توسط این گیاه مهار شوند (Biswas

Luteolin, Kaempferitrin, Isoquercitrin, acid quercetin و rutin (Zhang et al., 2020). تاکنون در ایران، تحقیقی از نظر فیتوشیمیایی و بیولوژیکی بر روی گیاه ارزشمند *M. oleifera* تکثیر شده از طریق کشت درون شیشه‌ای صورت نگرفته است. در نتیجه هدف از این تحقیق، بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره گیاه کشت بافتی *M. oleifera* به همراه استخراج، خالص سازی و شناسایی ترکیب طبیعی موجود در آن می باشد. عملیات جداسازی و خالص سازی ترکیب طبیعی توسط تکنیک‌های کروماتوگرافی ستونی، لایه نازک و شناسایی آن توسط روش‌های طیف سنجی  $^{13}\text{C-NMR}$  و  $^1\text{H-NMR}$  و IR صورت گرفت. همچنین اثرات ضد میکروبی به روش چاهک پلیت و بررسی حداقل غلظت مهار کنندگی رشد (MIC) و بررسی حداقل غلظت کشنده باکتری (MBC) صورت گرفت.

#### مواد و روش‌ها

استخراج، خالص سازی و شناسایی ترکیب طبیعی: برگ گیاه *M. oleifera* در بهار سال ۱۳۹۵ از شرکت دانش بنیان سلول فناور دارو واقع در کرج، مقابل درب غربی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران خریداری شد. به میزان ۴۰۰ گرم برگ‌های گیاه پس از خشک شدن، آسیاب و به روش خیساندن در مخلوط حلال‌های متانول: دی اتیل اتر: نرمال هگزان (به نسبت ۱:۱:۱) عصاره گیری و سپس توسط حلال هگزان، چربی گیری شد. عصاره حاصل به ستون کروماتوگرافی افزوده شد و به ترتیب توسط حلال‌های هگزان، اتیل استات و متانول به عنوان فاز متحرک شسته شد. برای مشخص شدن تعداد ترکیب‌ها در هر فراکشن، کروماتوگرافی لایه نازک (TLC) بر روی ورقه‌های آلومینیوم آماده 60 Kieselgel انجام شد. در نهایت فراکشن‌هایی که دارای کروماتوگرام مشابه

عصاره (et al., 2020; Xiao et al., 2020) آلکالوئیدی *M. oleifera* پتانسیل پیشگیری و درمان سرطان ریه را دارد (Xiao et al., 2021). همچنین این گیاه برای درمان فشار خون بالا و کلسترول بالا استفاده می شود. همچنین این گیاه دارای خواص ضد سرطان، ضد تومور، ضد التهاب، ضد کبد سمی، ضد درد بوده و دارای خواص مدر می باشد (Asare et al., 2012). برگ‌های *M. oleifera* سرشار از پروتئین، چربی به میزان کم، فیبر، خاکستر، ویتامین C، کلسیم، فسفر و پتاسیم می باشد. این یافته‌ها نشان می‌دهد که برگ‌های *M. oleifera* سرشار از مواد مغذی حیاتی برای رژیم غذایی انسان و حیوان است (Sultana, 2020). طبق مطالعه قبلی صورت گرفته، فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی برگ گیاه *M. oleifera* Lam به میزان ۱۷ برابر بیشتر از عصاره آبی این گیاه است. در صورتی که در سنجش میزان سیتوتوکسیسیته به روش MTT، عصاره آبی در مقایسه با عصاره متانولی سمیت کمتری از خود نشان داده است (Landázuri et al., 2020). گیاه *M. oleifera* به دلیل وجود ترکیبات فیتوشیمیایی فعال مانند آلکالوئیدها، فلاونوئیدها، هورمون‌ها، فنل‌ها و کربوهیدرات‌ها به صورت دارویی استفاده می شود. خاکستر، رطوبت، فیبر، کربوهیدرات، پروتئین، چربی، تانن، فیتات، ویتامین C، بتاکاروتن و اسید فولیک از جمله ترکیبات فیتوشیمیایی فعال در آن هستند (Lenin et al., 2020). عصاره برگ‌های گیاه *M. oleifera* منبع غنی از ترکیبات فلاونوئیدی و فنلی بوده و با از بین بردن رادیکال‌های آزاد، فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی را از خود نشان می‌دهند (Nizioł-Łukaszewska et al., 2020). عصاره فنلی برگ *M. oleifera* دارای اثر ضد التهابی در روده و برای بهبود کولیت بکار رفته و عمده فنل‌های اصلی قابل شناسایی در آن عبارتند از Astragalin، chlorogenic

کدورتی در لوله ظاهر شد که این کدورت همان استاندارد ۰/۵ مک فارلند بود. شیرابه میکروبی حاصل حاوی  $10^8 \times 1/5$  cfu/mL میکروب می باشد. این مقایسه چشمی و در محیطی که دارای نور کافی است انجام گرفت (Balouiri, et al., 2016; Hendra et al., 2017; Khoroushi et al., 2011).

**بررسی اولیه اثر ضد میکروبی عصاره ها به روش چاهک پلیت:** از محیط کشت مولر هیتون آگار ۱۷ گرم پودر در ۵۰۰ میلی لیتر آب مقطر حل و استریل شد. سپس در پلیت پخش شد و پس از بستن محیط کشت، سطح آن توسط سوآپ استریل از سوسپانسیون میکروبی نیم مک فارلند هر کدام از سویه های باکتری کشت داده شد. سپس ۴ عدد چاهک با قطر ۶ میلی متر در سطح محیط کشت ایجاد شد و در هر چاهک غلظت های مختلف از عصاره های تهیه شده به میزان ۱۰۰  $\mu$ L اضافه شد. پلیت ها به مدت ۲۴ ساعت در گرمخانه در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده شد و در نهایت قطر هاله های عدم رشد در اطراف چاهک اندازه گیری شد. دیسک های آغشته به متانول، کلروفرم، اتیل استات و دی متیل سولفوکساید ۲۰٪ را به عنوان شاهد منفی و دیسک های آنتی بیوتیکی جنتامایسین را به عنوان شاهد مثبت در نظر گرفته و نتیجه بر اساس اندازه هاله عدم رشد گزارش شد (Moeini et al., 2015; Hendra et al., 2011).

**بررسی حداقل غلظت مهار کنندگی رشد (MIC) به روش رقیق سازی در محیط مایع:** ۳۰ mg/ml از عصاره کلروفرمی، متانولی و اتیل استاتی در حلال ۲۰٪ دی متیل سولفوکساید تهیه شد. برای تهیه عوامل میکروبی نیز در محیط مولر هیتون برات استریل، سوسپانسیون میکروبی با کدورت معادل نیم مک فارلند تهیه شد. ۱۰۰  $\mu$ L از محیط کشت مولر هیتون برات در همه حفره ها و ۱۰۰  $\mu$ L از عصاره در اولین حفره از میکروپلیت مورد نظر ریخته شد. سپس

بودند به یکدیگر اضافه و از فراکشن هایی که در TLC لکه های ترکیب طبیعی به جای گذاشتند، پس از خالص سازی توسط دستگاه طیف سنجی رزونانس مغناطیسی هسته ( $^1\text{H-NMR}$ ،  $^{13}\text{C-NMR}$ ) طیف گرفته شد (Taherkhani and Rustaiyan, 2016).

**بررسی اثر آنتی میکروبی:** از اندام های هوایی خشک گیاه مورد نظر توسط روش خیساندن در حلال، سه عصاره متانولی، کلروفرمی و اتیل استاتی تهیه شد. از سویه های میکروبی مورد نظر (*Escherichia coli*، *Pseudomonas aeruginosa*، *Staphylococcus aureus* و *Bacillus subtilis*) پس از یکنواخت کردن سوسپانسیون، به محیط با کشت مایع و یا جامد منتقل شد. محیط های تلقیح شده در گرمخانه ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده شد و پس از ۲۴ ساعت میکروارگانیزم های مورد نظر رشد کرده و آماده استفاده شدند. محیط مولر هیتون با حل شدن ۳۴ گرم محیط در یک لیتر تحت آب مقطر تحت حرارت و همزدن حل شد تا یک محلول زلال و شفاف به دست آمد و برای استریل شدن در اتوکلاو با دمای ۱۲۱ درجه سانتیگراد به مدت ۱۵ دقیقه قرار داده شد در دمای محیط کشت ۵۰-۴۵ درجه سانتی گراد مقدار ۱۳ میلی لیتر از محیط در پلیت ریخته و سپس محیط کشت داخل پلیت ها سرد و سفت شدند. درب پلیت ها بسته و در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. از این محیط کشت به طور عمومی، جهت بررسی نتایج MIC با روش Serial Dilution Method استفاده شد. pH محیط  $7/4 \pm 0/2$  تنظیم گردید. به میزان ۲۱ گرم از محیط با یک لیتر آب مقطر مخلوط گردید و تا دمای جوش حرارت داده و سپس استریل شد. برای مقایسه تعداد باکتری های تست شده از استاندارد ۰/۵ مک فارلند استفاده شد. برای این منظور ۹۹ میلی لیتر اسید سولفوریک ۱٪ با یک میلی لیتر کلرور باریم ۱۷۵٪ مخلوط و در اثر رسوب باریم سولفات

فرکشن از ستون کروماتوگرافی بدست آمد و فرکشن‌های ۲۷+۲۸+۲۹ باهم مخلوط گردیدند و بعد از TLC و خالص سازی، ترکیب طبیعی توسط تکنیک‌های طیف سنجی شناسایی شده و تعیین ساختار شد. این ترکیب با نام کوئرستین و فرمول مولکولی  $C_{15}H_{10}O_7$  متعلق به گروه فلاونوئیدها می‌باشد.

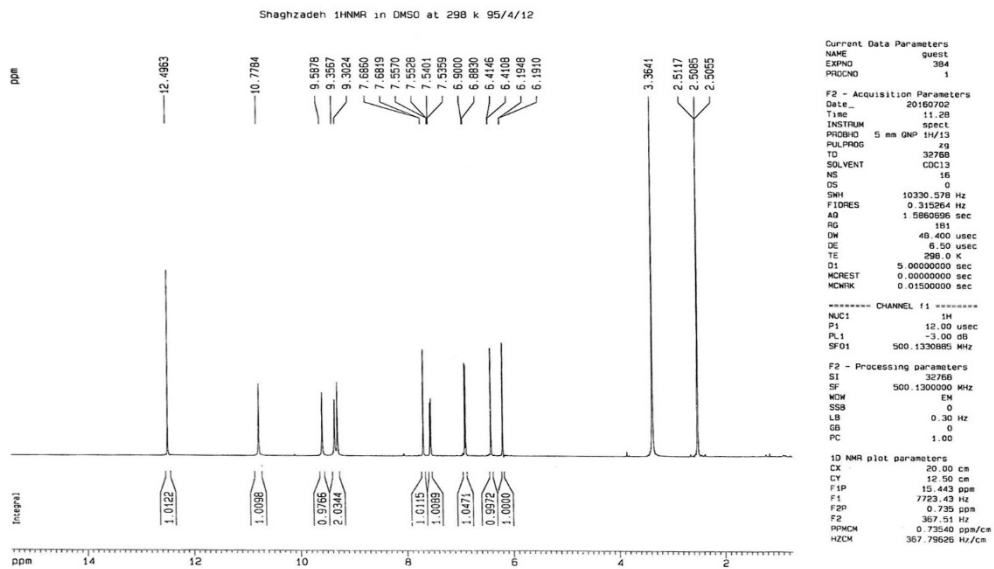
همانطور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود دو دسته سیگنال مربوط به پروتون‌های آروماتیک و پروتون‌های هیدروکسی گروه فنولی دیده می‌شود. مطابق بزرگنمایی شکل ۲، پروتون‌های شماره ۶ و ۸ که نسبت به هم در موقعیت متا قرار دارند با کوپلاژ ۲ هرتز موجب شکافتگی یکدیگر و ایجاد پیک دوتایی در ناحیه آروماتیک شده است. همچنین پروتون ۶ با پروتون ۵ به دلیل کوپلاژ اورتو با ثابت کوپلاژ  $J_{HH} = 8.5$  Hz پیک دابلت و سپس مجدداً با توسط پروتون ۲ در موقعیت متا با ثابت کوپلاژ ۲ هرتز شکافته شده و در نهایت به صورت پیک چهارتایی (دابلت آو دابلت) ظاهر می‌شود. هیدروژن‌های فنولی با خاصیت اسیدی ضعیف به دلیل نپوشیده بودن از نظر الکترونی، در جابجایی شیمیایی بالاتر ظاهر می‌شوند که برای وضوح بیشتر رزونانس مربوط به پروتون‌های این ناحیه به طور اختصاصی، بزرگنمایی این ناحیه از طیف در شکل ۳ آورده شده است، در مورد هیدروژن فنولی شماره ۵، به دلیل برقراری پیوند هیدروژنی درون مولکولی با گروه کربونیل در بالاترین جابجایی شیمیایی ظاهر شده است.

۱۰۰  $\mu$ L از حفره اول توسط سمپلر در حفره دوم ریخته و این کار تا حفره آخر انجام شد از حفره آخر نیز ۱۰۰  $\mu$ L خارج شد. در آخر به میزان ۱۰۰  $\mu$ L از سوسپانسیون میکروبی موردنظر در داخل همه حفره‌ها تزریق شد. دو ردیف از میکروپلیت شاهد مثبت و منفی تشکیل شده از شاهد مثبت شامل ۱۰۰  $\mu$ L سوسپانسیون میکروبی و ۱۰۰  $\mu$ L محیط کشت مولر هیتتون برات و شاهد منفی شامل ۱۰۰  $\mu$ L عصاره و ۱۰۰  $\mu$ L محیط کشت مولر هیتتون برات می‌باشد. میکروپلیت به مدت ۲۴ ساعت در گرمخانه قرار گرفت و کدورت ناشی از رشد باکتری تلقیح شده بررسی شد. بیشترین رقت از عصاره که در آن کدورتی مشاهده نگردید (عدم رشد) به عنوان MIC در نظر گرفته شد (Khoroushi et al., 2017).

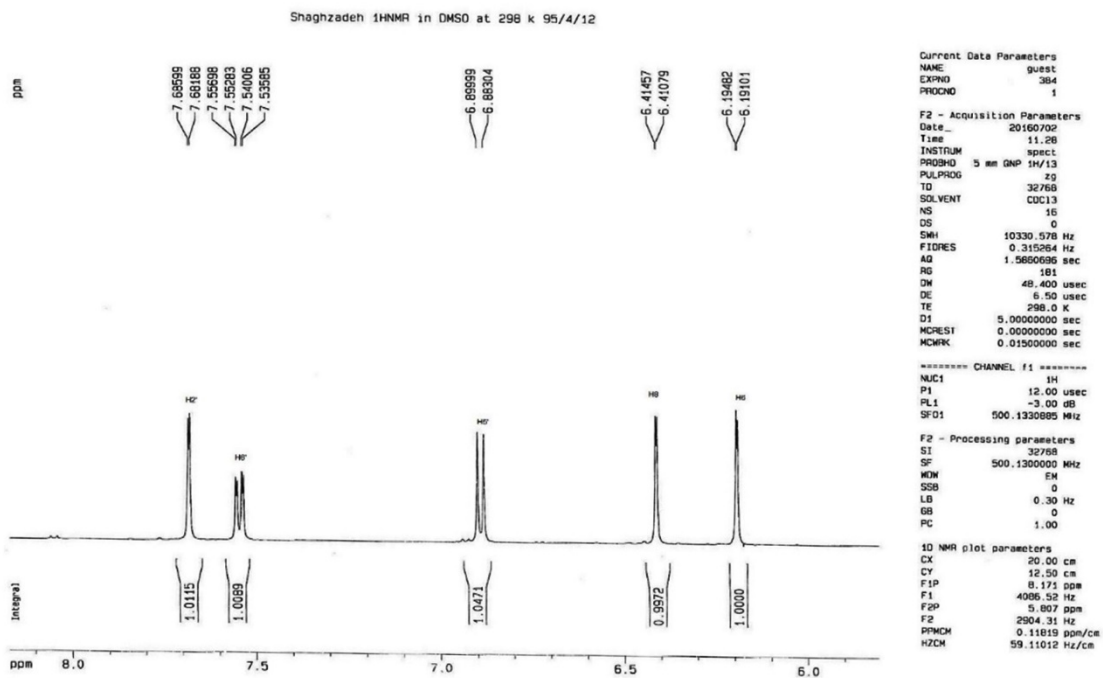
**بررسی حداقل غلظت کشنده باکتری (MBC):**  
۱۰۰  $\mu$ L توسط سمپلر برداشته، بر سطح محیط کشت مولر هیتتون آگار کشت داده شد. سپس محیط‌های کشت تلقیح داده شده به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شدند. پلیت مربوط به حفره‌ای که حاوی کمترین غلظت عصاره بود و در آن رشد باکتری مشاهده نگردید، به عنوان MBC در نظر گرفته شد.

## نتایج

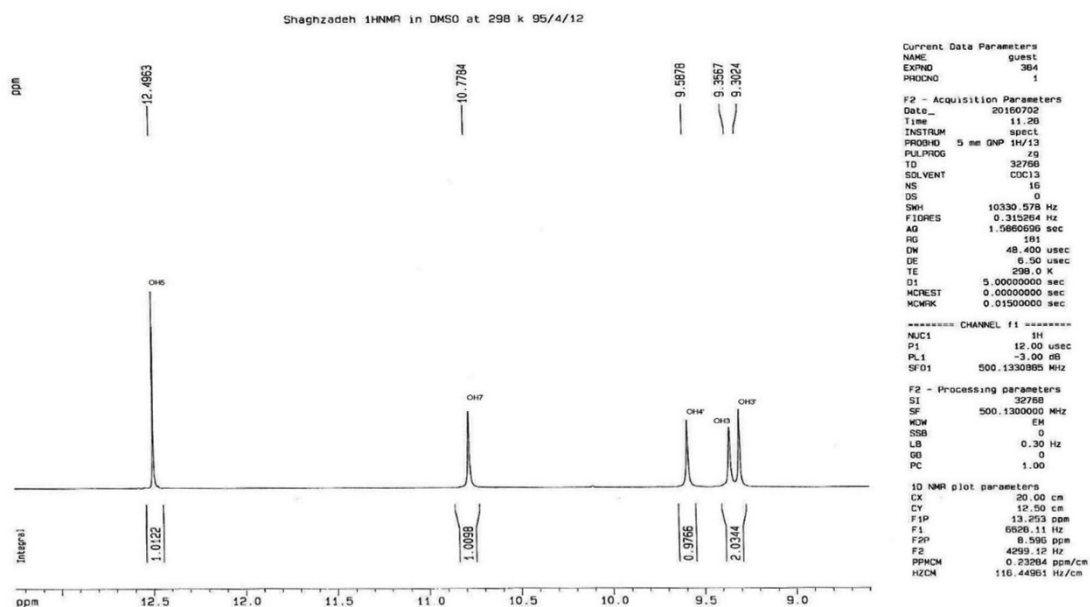
بررسی ترکیبات شیمیایی موجود در عصاره به روش طیف سنجی  $^{13}C$ -NMR و  $^1H$ -NMR و IR: پس از انجام مراحل خالص سازی به تعداد ۳۰



شکل ۱: طیف <sup>1</sup>H-NMR ترکیب کوئرستین استخراج شده از عصاره گیاه *M. oleifera*



شکل ۲: بزرگنمایی طیف <sup>1</sup>H-NMR ترکیب کوئرستین از عصاره گیاه *M. oleifera* (شیفت شیمیایی ۶-۸ ppm)



شکل ۳: بزرگنمایی طیف  $^1\text{H-NMR}$  ترکیب کوئرستین از عصاره گیاه *M. oleifera* (شیفت شیمیایی ppm ۹-۱۳)

نتایج حاصل از شکافتگی پروتون‌ها در طیف  $^1\text{H-NMR}$  مربوط به ترکیب کوئرستین در جدول ۱ آورده شده است.

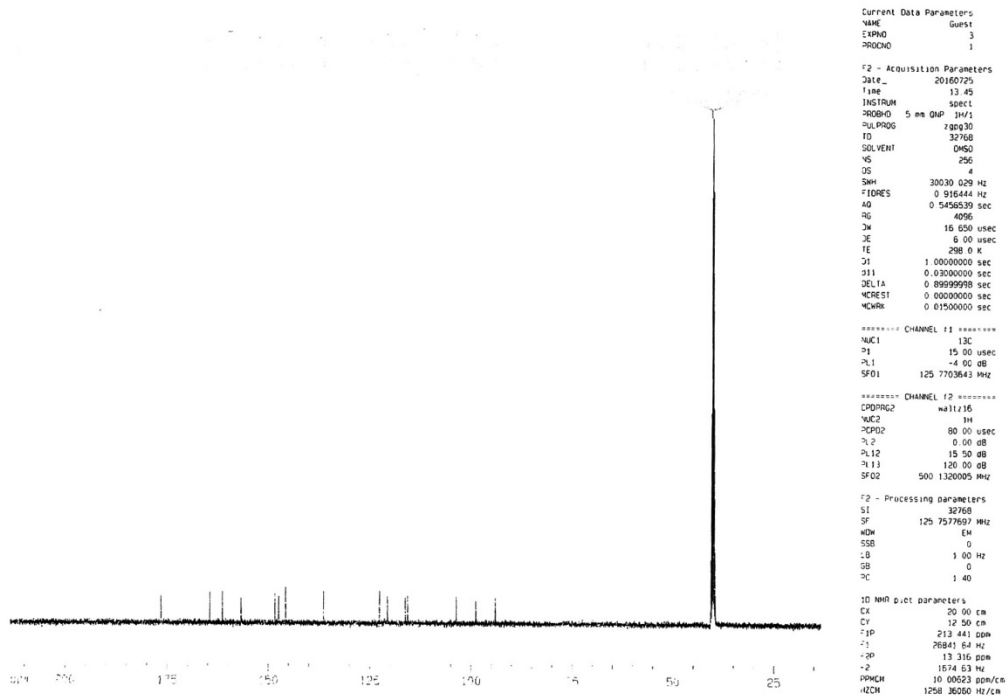
جدول ۱: نتایج مربوط به طیف  $^1\text{H-NMR}$

شماره پروتون	جابجایی شیمیایی $\delta$ (ppm)	شکافتگی	انتگرال	ثابت کوپلاژ (Hz)
$\text{H}_1$	۶/۱۹	d	1H	$\text{J}_{1,2} = 2\text{J}$
$\text{H}_8$	۶/۴۱	d	1H	$\text{J}_{8,7} = 2\text{J}$
$\text{H}_5'$	۶/۸۸	d	1H	$\text{J}_{5',6'} = 8/5\text{J}$
$\text{H}_6'$	۷/۵۵	d.d	1H	$\text{J}_{2',3'} = 2\text{J}$ و $\text{J}_{6',5'} = 8/5\text{J}$
$\text{H}_2'$	۷/۶۸	d	1H	$\text{J}_{2',3'} = 2\text{J}$
$\text{OH}_3'$	۹/۳۰	s	1H	
$\text{OH}_3$	۹/۳۵	s	1H	
$\text{OH}_4'$	۹/۵۸	s	1H	
$\text{OH}_7$	۱۰/۷۷	s	1H	
$\text{OH}_5$	۱۲/۴۹	s	1H	

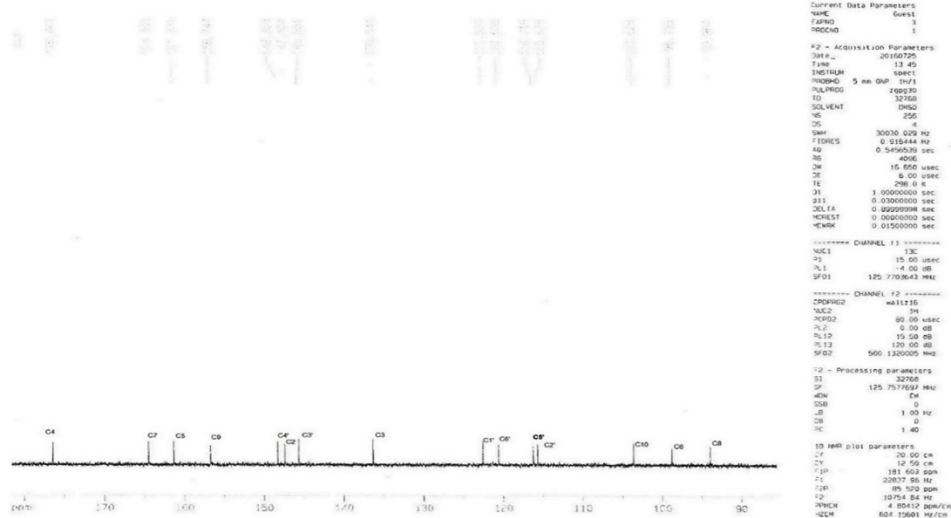
نتایج طیف‌های  $^{13}\text{C-NMR}$ : طیف‌های حاصل از  $^{13}\text{C-NMR}$  در شکل ۴ و بزرگنمایی آن در شکل ۵ آورده شده است.



shaghzadeh 13CNMR in DMSO at 298 K 95/5/4

شکل ۴: طیف  $^{13}\text{C}$ -NMR ترکیب کوئرستین

shaghzadeh 13CNMR in DMSO at 298 K 95/5/4

شکل ۵: بزرگنمایی طیف  $^{13}\text{C}$ -NMR ترکیب کوئرستین

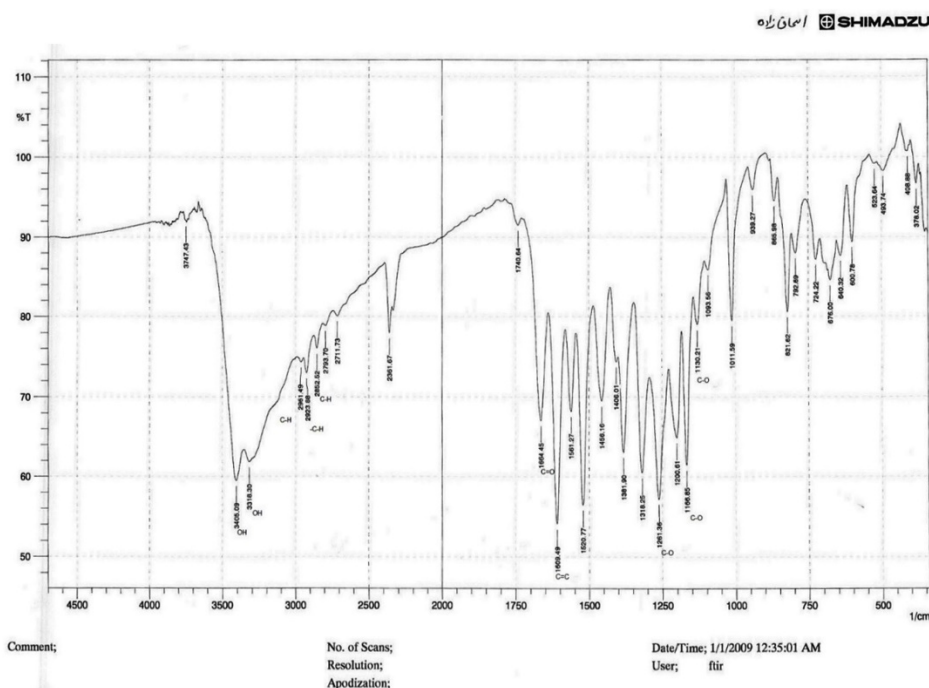
متصل به اتم اکسیژن به شماره‌های ۷، ۵، ۹، ۴، ۲، ۳ و ۳ در جابجایی شیمیایی بالا ظاهر می‌شوند. در ادامه که به سمت میدان‌های قوی‌تر (جابجایی شیمیایی کوچکتر) پیش می‌رویم سیگنال‌های مربوط به کربن ۱، ۲، ۵، ۶، ۷، ۸، ۱۰، ۱۱، ۱۲، ۱۳، ۱۴، ۱۵، ۱۶، ۱۷، ۱۸، ۱۹، ۲۰، ۲۱، ۲۲، ۲۳، ۲۴، ۲۵، ۲۶، ۲۷، ۲۸، ۲۹، ۳۰، ۳۱، ۳۲، ۳۳، ۳۴، ۳۵، ۳۶، ۳۷، ۳۸، ۳۹، ۴۰، ۴۱، ۴۲، ۴۳، ۴۴، ۴۵، ۴۶، ۴۷، ۴۸، ۴۹، ۵۰، ۵۱، ۵۲، ۵۳، ۵۴، ۵۵، ۵۶، ۵۷، ۵۸، ۵۹، ۶۰، ۶۱، ۶۲، ۶۳، ۶۴، ۶۵، ۶۶، ۶۷، ۶۸، ۶۹، ۷۰، ۷۱، ۷۲، ۷۳، ۷۴، ۷۵، ۷۶، ۷۷، ۷۸، ۷۹، ۸۰، ۸۱، ۸۲، ۸۳، ۸۴، ۸۵، ۸۶، ۸۷، ۸۸، ۸۹، ۹۰، ۹۱، ۹۲، ۹۳، ۹۴، ۹۵، ۹۶، ۹۷، ۹۸، ۹۹، ۱۰۰، ۱۰۱، ۱۰۲، ۱۰۳، ۱۰۴، ۱۰۵، ۱۰۶، ۱۰۷، ۱۰۸، ۱۰۹، ۱۱۰، ۱۱۱، ۱۱۲، ۱۱۳، ۱۱۴، ۱۱۵، ۱۱۶، ۱۱۷، ۱۱۸، ۱۱۹، ۱۲۰، ۱۲۱، ۱۲۲، ۱۲۳، ۱۲۴، ۱۲۵، ۱۲۶، ۱۲۷، ۱۲۸، ۱۲۹، ۱۳۰، ۱۳۱، ۱۳۲، ۱۳۳، ۱۳۴، ۱۳۵، ۱۳۶، ۱۳۷، ۱۳۸، ۱۳۹، ۱۴۰، ۱۴۱، ۱۴۲، ۱۴۳، ۱۴۴، ۱۴۵، ۱۴۶، ۱۴۷، ۱۴۸، ۱۴۹، ۱۵۰، ۱۵۱، ۱۵۲، ۱۵۳، ۱۵۴، ۱۵۵، ۱۵۶، ۱۵۷، ۱۵۸، ۱۵۹، ۱۶۰، ۱۶۱، ۱۶۲، ۱۶۳، ۱۶۴، ۱۶۵، ۱۶۶، ۱۶۷، ۱۶۸، ۱۶۹، ۱۷۰، ۱۷۱، ۱۷۲، ۱۷۳، ۱۷۴، ۱۷۵، ۱۷۶، ۱۷۷، ۱۷۸، ۱۷۹، ۱۸۰، ۱۸۱، ۱۸۲، ۱۸۳، ۱۸۴، ۱۸۵، ۱۸۶، ۱۸۷، ۱۸۸، ۱۸۹، ۱۹۰، ۱۹۱، ۱۹۲، ۱۹۳، ۱۹۴، ۱۹۵، ۱۹۶، ۱۹۷، ۱۹۸، ۱۹۹، ۲۰۰، ۲۰۱، ۲۰۲، ۲۰۳، ۲۰۴، ۲۰۵، ۲۰۶، ۲۰۷، ۲۰۸، ۲۰۹، ۲۱۰، ۲۱۱، ۲۱۲، ۲۱۳، ۲۱۴، ۲۱۵، ۲۱۶، ۲۱۷، ۲۱۸، ۲۱۹، ۲۲۰، ۲۲۱، ۲۲۲، ۲۲۳، ۲۲۴، ۲۲۵، ۲۲۶، ۲۲۷، ۲۲۸، ۲۲۹، ۲۳۰، ۲۳۱، ۲۳۲، ۲۳۳، ۲۳۴، ۲۳۵، ۲۳۶، ۲۳۷، ۲۳۸، ۲۳۹، ۲۴۰، ۲۴۱، ۲۴۲، ۲۴۳، ۲۴۴، ۲۴۵، ۲۴۶، ۲۴۷، ۲۴۸، ۲۴۹، ۲۵۰، ۲۵۱، ۲۵۲، ۲۵۳، ۲۵۴، ۲۵۵، ۲۵۶، ۲۵۷، ۲۵۸، ۲۵۹، ۲۶۰، ۲۶۱، ۲۶۲، ۲۶۳، ۲۶۴، ۲۶۵، ۲۶۶، ۲۶۷، ۲۶۸، ۲۶۹، ۲۷۰، ۲۷۱، ۲۷۲، ۲۷۳، ۲۷۴، ۲۷۵، ۲۷۶، ۲۷۷، ۲۷۸، ۲۷۹، ۲۸۰، ۲۸۱، ۲۸۲، ۲۸۳، ۲۸۴، ۲۸۵، ۲۸۶، ۲۸۷، ۲۸۸، ۲۸۹، ۲۹۰، ۲۹۱، ۲۹۲، ۲۹۳، ۲۹۴، ۲۹۵، ۲۹۶، ۲۹۷، ۲۹۸، ۲۹۹، ۳۰۰، ۳۰۱، ۳۰۲، ۳۰۳، ۳۰۴، ۳۰۵، ۳۰۶، ۳۰۷، ۳۰۸، ۳۰۹، ۳۱۰، ۳۱۱، ۳۱۲، ۳۱۳، ۳۱۴، ۳۱۵، ۳۱۶، ۳۱۷، ۳۱۸، ۳۱۹، ۳۲۰، ۳۲۱، ۳۲۲، ۳۲۳، ۳۲۴، ۳۲۵، ۳۲۶، ۳۲۷، ۳۲۸، ۳۲۹، ۳۳۰، ۳۳۱، ۳۳۲، ۳۳۳، ۳۳۴، ۳۳۵، ۳۳۶، ۳۳۷، ۳۳۸، ۳۳۹، ۳۴۰، ۳۴۱، ۳۴۲، ۳۴۳، ۳۴۴، ۳۴۵، ۳۴۶، ۳۴۷، ۳۴۸، ۳۴۹، ۳۵۰، ۳۵۱، ۳۵۲، ۳۵۳، ۳۵۴، ۳۵۵، ۳۵۶، ۳۵۷، ۳۵۸، ۳۵۹، ۳۶۰، ۳۶۱، ۳۶۲، ۳۶۳، ۳۶۴، ۳۶۵، ۳۶۶، ۳۶۷، ۳۶۸، ۳۶۹، ۳۷۰، ۳۷۱، ۳۷۲، ۳۷۳، ۳۷۴، ۳۷۵، ۳۷۶، ۳۷۷، ۳۷۸، ۳۷۹، ۳۸۰، ۳۸۱، ۳۸۲، ۳۸۳، ۳۸۴، ۳۸۵، ۳۸۶، ۳۸۷، ۳۸۸، ۳۸۹، ۳۹۰، ۳۹۱، ۳۹۲، ۳۹۳، ۳۹۴، ۳۹۵، ۳۹۶، ۳۹۷، ۳۹۸، ۳۹۹، ۴۰۰، ۴۰۱، ۴۰۲، ۴۰۳، ۴۰۴، ۴۰۵، ۴۰۶، ۴۰۷، ۴۰۸، ۴۰۹، ۴۱۰، ۴۱۱، ۴۱۲، ۴۱۳، ۴۱۴، ۴۱۵، ۴۱۶، ۴۱۷، ۴۱۸، ۴۱۹، ۴۲۰، ۴۲۱، ۴۲۲، ۴۲۳، ۴۲۴، ۴۲۵، ۴۲۶، ۴۲۷، ۴۲۸، ۴۲۹، ۴۳۰، ۴۳۱، ۴۳۲، ۴۳۳، ۴۳۴، ۴۳۵، ۴۳۶، ۴۳۷، ۴۳۸، ۴۳۹، ۴۴۰، ۴۴۱، ۴۴۲، ۴۴۳، ۴۴۴، ۴۴۵، ۴۴۶، ۴۴۷، ۴۴۸، ۴۴۹، ۴۵۰، ۴۵۱، ۴۵۲، ۴۵۳، ۴۵۴، ۴۵۵، ۴۵۶، ۴۵۷، ۴۵۸، ۴۵۹، ۴۶۰، ۴۶۱، ۴۶۲، ۴۶۳، ۴۶۴، ۴۶۵، ۴۶۶، ۴۶۷، ۴۶۸، ۴۶۹، ۴۷۰، ۴۷۱، ۴۷۲، ۴۷۳، ۴۷۴، ۴۷۵، ۴۷۶، ۴۷۷، ۴۷۸، ۴۷۹، ۴۸۰، ۴۸۱، ۴۸۲، ۴۸۳، ۴۸۴، ۴۸۵، ۴۸۶، ۴۸۷، ۴۸۸، ۴۸۹، ۴۹۰، ۴۹۱، ۴۹۲، ۴۹۳، ۴۹۴، ۴۹۵، ۴۹۶، ۴۹۷، ۴۹۸، ۴۹۹، ۵۰۰، ۵۰۱، ۵۰۲، ۵۰۳، ۵۰۴، ۵۰۵، ۵۰۶، ۵۰۷، ۵۰۸، ۵۰۹، ۵۱۰، ۵۱۱، ۵۱۲، ۵۱۳، ۵۱۴، ۵۱۵، ۵۱۶، ۵۱۷، ۵۱۸، ۵۱۹، ۵۲۰، ۵۲۱، ۵۲۲، ۵۲۳، ۵۲۴، ۵۲۵، ۵۲۶، ۵۲۷، ۵۲۸، ۵۲۹، ۵۳۰، ۵۳۱، ۵۳۲، ۵۳۳، ۵۳۴، ۵۳۵، ۵۳۶، ۵۳۷، ۵۳۸، ۵۳۹، ۵۴۰، ۵۴۱، ۵۴۲، ۵۴۳، ۵۴۴، ۵۴۵، ۵۴۶، ۵۴۷، ۵۴۸، ۵۴۹، ۵۵۰، ۵۵۱، ۵۵۲، ۵۵۳، ۵۵۴، ۵۵۵، ۵۵۶، ۵۵۷، ۵۵۸، ۵۵۹، ۵۶۰، ۵۶۱، ۵۶۲، ۵۶۳، ۵۶۴، ۵۶۵، ۵۶۶، ۵۶۷، ۵۶۸، ۵۶۹، ۵۷۰، ۵۷۱، ۵۷۲، ۵۷۳، ۵۷۴، ۵۷۵، ۵۷۶، ۵۷۷، ۵۷۸، ۵۷۹، ۵۸۰، ۵۸۱، ۵۸۲، ۵۸۳، ۵۸۴، ۵۸۵، ۵۸۶، ۵۸۷، ۵۸۸، ۵۸۹، ۵۹۰، ۵۹۱، ۵۹۲، ۵۹۳، ۵۹۴، ۵۹۵، ۵۹۶، ۵۹۷، ۵۹۸، ۵۹۹، ۶۰۰، ۶۰۱، ۶۰۲، ۶۰۳، ۶۰۴، ۶۰۵، ۶۰۶، ۶۰۷، ۶۰۸، ۶۰۹، ۶۱۰، ۶۱۱، ۶۱۲، ۶۱۳، ۶۱۴، ۶۱۵، ۶۱۶، ۶۱۷، ۶۱۸، ۶۱۹، ۶۲۰، ۶۲۱، ۶۲۲، ۶۲۳، ۶۲۴، ۶۲۵، ۶۲۶، ۶۲۷، ۶۲۸، ۶۲۹، ۶۳۰، ۶۳۱، ۶۳۲، ۶۳۳، ۶۳۴، ۶۳۵، ۶۳۶، ۶۳۷، ۶۳۸، ۶۳۹، ۶۴۰، ۶۴۱، ۶۴۲، ۶۴۳، ۶۴۴، ۶۴۵، ۶۴۶، ۶۴۷، ۶۴۸، ۶۴۹، ۶۵۰، ۶۵۱، ۶۵۲، ۶۵۳، ۶۵۴، ۶۵۵، ۶۵۶، ۶۵۷، ۶۵۸، ۶۵۹، ۶۶۰، ۶۶۱، ۶۶۲، ۶۶۳، ۶۶۴، ۶۶۵، ۶۶۶، ۶۶۷، ۶۶۸، ۶۶۹، ۶۷۰، ۶۷۱، ۶۷۲، ۶۷۳، ۶۷۴، ۶۷۵، ۶۷۶، ۶۷۷، ۶۷۸، ۶۷۹، ۶۸۰، ۶۸۱، ۶۸۲، ۶۸۳، ۶۸۴، ۶۸۵، ۶۸۶، ۶۸۷، ۶۸۸، ۶۸۹، ۶۹۰، ۶۹۱، ۶۹۲، ۶۹۳، ۶۹۴، ۶۹۵، ۶۹۶، ۶۹۷، ۶۹۸، ۶۹۹، ۷۰۰، ۷۰۱، ۷۰۲، ۷۰۳، ۷۰۴، ۷۰۵، ۷۰۶، ۷۰۷، ۷۰۸، ۷۰۹، ۷۱۰، ۷۱۱، ۷۱۲، ۷۱۳، ۷۱۴، ۷۱۵، ۷۱۶، ۷۱۷، ۷۱۸، ۷۱۹، ۷۲۰، ۷۲۱، ۷۲۲، ۷۲۳، ۷۲۴، ۷۲۵، ۷۲۶، ۷۲۷، ۷۲۸، ۷۲۹، ۷۳۰، ۷۳۱، ۷۳۲، ۷۳۳، ۷۳۴، ۷۳۵، ۷۳۶، ۷۳۷، ۷۳۸، ۷۳۹، ۷۴۰، ۷۴۱، ۷۴۲، ۷۴۳، ۷۴۴، ۷۴۵، ۷۴۶، ۷۴۷، ۷۴۸، ۷۴۹، ۷۵۰، ۷۵۱، ۷۵۲، ۷۵۳، ۷۵۴، ۷۵۵، ۷۵۶، ۷۵۷، ۷۵۸، ۷۵۹، ۷۶۰، ۷۶۱، ۷۶۲، ۷۶۳، ۷۶۴، ۷۶۵، ۷۶۶، ۷۶۷، ۷۶۸، ۷۶۹، ۷۷۰، ۷۷۱، ۷۷۲، ۷۷۳، ۷۷۴، ۷۷۵، ۷۷۶، ۷۷۷، ۷۷۸، ۷۷۹، ۷۸۰، ۷۸۱، ۷۸۲، ۷۸۳، ۷۸۴، ۷۸۵، ۷۸۶، ۷۸۷، ۷۸۸، ۷۸۹، ۷۹۰، ۷۹۱، ۷۹۲، ۷۹۳، ۷۹۴، ۷۹۵، ۷۹۶، ۷۹۷، ۷۹۸، ۷۹۹، ۸۰۰، ۸۰۱، ۸۰۲، ۸۰۳، ۸۰۴، ۸۰۵، ۸۰۶، ۸۰۷، ۸۰۸، ۸۰۹، ۸۱۰، ۸۱۱، ۸۱۲، ۸۱۳، ۸۱۴، ۸۱۵، ۸۱۶، ۸۱۷، ۸۱۸، ۸۱۹، ۸۲۰، ۸۲۱، ۸۲۲، ۸۲۳، ۸۲۴، ۸۲۵، ۸۲۶، ۸۲۷، ۸۲۸، ۸۲۹، ۸۳۰، ۸۳۱، ۸۳۲، ۸۳۳، ۸۳۴، ۸۳۵، ۸۳۶، ۸۳۷، ۸۳۸، ۸۳۹، ۸۴۰، ۸۴۱، ۸۴۲، ۸۴۳، ۸۴۴، ۸۴۵، ۸۴۶، ۸۴۷، ۸۴۸، ۸۴۹، ۸۵۰، ۸۵۱، ۸۵۲، ۸۵۳، ۸۵۴، ۸۵۵، ۸۵۶، ۸۵۷، ۸۵۸، ۸۵۹، ۸۶۰، ۸۶۱، ۸۶۲، ۸۶۳، ۸۶۴، ۸۶۵، ۸۶۶، ۸۶۷، ۸۶۸، ۸۶۹، ۸۷۰، ۸۷۱، ۸۷۲، ۸۷۳، ۸۷۴، ۸۷۵، ۸۷۶، ۸۷۷، ۸۷۸، ۸۷۹، ۸۸۰، ۸۸۱، ۸۸۲، ۸۸۳، ۸۸۴، ۸۸۵، ۸۸۶، ۸۸۷، ۸۸۸، ۸۸۹، ۸۹۰، ۸۹۱، ۸۹۲، ۸۹۳، ۸۹۴، ۸۹۵، ۸۹۶، ۸۹۷، ۸۹۸، ۸۹۹، ۹۰۰، ۹۰۱، ۹۰۲، ۹۰۳، ۹۰۴، ۹۰۵، ۹۰۶، ۹۰۷، ۹۰۸، ۹۰۹، ۹۱۰، ۹۱۱، ۹۱۲، ۹۱۳، ۹۱۴، ۹۱۵، ۹۱۶، ۹۱۷، ۹۱۸، ۹۱۹، ۹۲۰، ۹۲۱، ۹۲۲، ۹۲۳، ۹۲۴، ۹۲۵، ۹۲۶، ۹۲۷، ۹۲۸، ۹۲۹، ۹۳۰، ۹۳۱، ۹۳۲، ۹۳۳، ۹۳۴، ۹۳۵، ۹۳۶، ۹۳۷، ۹۳۸، ۹۳۹، ۹۴۰، ۹۴۱، ۹۴۲، ۹۴۳، ۹۴۴، ۹۴۵، ۹۴۶، ۹۴۷، ۹۴۸، ۹۴۹، ۹۵۰، ۹۵۱، ۹۵۲، ۹۵۳، ۹۵۴، ۹۵۵، ۹۵۶، ۹۵۷، ۹۵۸، ۹۵۹، ۹۶۰، ۹۶۱، ۹۶۲، ۹۶۳، ۹۶۴، ۹۶۵، ۹۶۶، ۹۶۷، ۹۶۸، ۹۶۹، ۹۷۰، ۹۷۱، ۹۷۲، ۹۷۳، ۹۷۴، ۹۷۵، ۹۷۶، ۹۷۷، ۹۷۸، ۹۷۹، ۹۸۰، ۹۸۱، ۹۸۲، ۹۸۳، ۹۸۴، ۹۸۵، ۹۸۶، ۹۸۷، ۹۸۸، ۹۸۹، ۹۹۰، ۹۹۱، ۹۹۲، ۹۹۳، ۹۹۴، ۹۹۵، ۹۹۶، ۹۹۷، ۹۹۸، ۹۹۹، ۱۰۰۰، ۱۰۰۱، ۱۰۰۲، ۱۰۰۳، ۱۰۰۴، ۱۰۰۵، ۱۰۰۶، ۱۰۰۷، ۱۰۰۸، ۱۰۰۹، ۱۰۱۰، ۱۰۱۱، ۱۰۱۲، ۱۰۱۳، ۱۰۱۴، ۱۰۱۵، ۱۰۱۶، ۱۰۱۷، ۱۰۱۸، ۱۰۱۹، ۱۰۲۰، ۱۰۲۱، ۱۰۲۲، ۱۰۲۳، ۱۰۲۴، ۱۰۲۵، ۱۰۲۶، ۱۰۲۷، ۱۰۲۸، ۱۰۲۹، ۱۰۳۰، ۱۰۳۱، ۱۰۳۲، ۱۰۳۳، ۱۰۳۴، ۱۰۳۵، ۱۰۳۶، ۱۰۳۷، ۱۰۳۸، ۱۰۳۹، ۱۰۴۰، ۱۰۴۱، ۱۰۴۲، ۱۰۴۳، ۱۰۴۴، ۱۰۴۵، ۱۰۴۶، ۱۰۴۷، ۱۰۴۸، ۱۰۴۹، ۱۰۵۰، ۱۰۵۱، ۱۰۵۲، ۱۰۵۳، ۱۰۵۴، ۱۰۵۵، ۱۰۵۶، ۱۰۵۷، ۱۰۵۸، ۱۰۵۹، ۱۰۶۰، ۱۰۶۱، ۱۰۶۲، ۱۰۶۳، ۱۰۶۴، ۱۰۶۵، ۱۰۶۶، ۱۰۶۷، ۱۰۶۸، ۱۰۶۹، ۱۰۷۰، ۱۰۷۱، ۱۰۷۲، ۱۰۷۳، ۱۰۷۴، ۱۰۷۵، ۱۰۷۶، ۱۰۷۷، ۱۰۷۸، ۱۰۷۹، ۱۰۸۰، ۱۰۸۱، ۱۰۸۲، ۱۰۸۳، ۱۰۸۴، ۱۰۸۵، ۱۰۸۶، ۱۰۸۷، ۱۰۸۸، ۱۰۸۹، ۱۰۹۰، ۱۰۹۱، ۱۰۹۲، ۱۰۹۳، ۱۰۹۴، ۱۰۹۵، ۱۰۹۶، ۱۰۹۷، ۱۰۹۸، ۱۰۹۹، ۱۱۰۰، ۱۱۰۱، ۱۱۰۲، ۱۱۰۳، ۱۱۰۴، ۱۱۰۵، ۱۱۰۶، ۱۱۰۷، ۱۱۰۸، ۱۱۰۹، ۱۱۱۰، ۱۱۱۱، ۱۱۱۲، ۱۱۱۳، ۱۱۱۴، ۱۱۱۵، ۱۱۱۶، ۱۱۱۷، ۱۱۱۸، ۱۱۱۹، ۱۱۲۰، ۱۱۲۱، ۱۱۲۲، ۱۱۲۳، ۱۱۲۴، ۱۱۲۵، ۱۱۲۶، ۱۱۲۷، ۱۱۲۸، ۱۱۲۹، ۱۱۳۰، ۱۱۳۱، ۱۱۳۲، ۱۱۳۳، ۱۱۳۴، ۱۱۳۵، ۱۱۳۶، ۱۱۳۷، ۱۱۳۸، ۱۱۳۹، ۱۱۴۰، ۱۱۴۱، ۱۱۴۲، ۱۱۴۳، ۱۱۴۴، ۱۱۴۵، ۱۱۴۶، ۱۱۴۷، ۱۱۴۸، ۱۱۴۹، ۱۱۵۰، ۱۱۵۱، ۱۱۵۲، ۱۱۵۳، ۱۱۵۴، ۱۱۵۵، ۱۱۵۶، ۱۱۵۷، ۱۱۵۸، ۱۱۵۹، ۱۱۶۰، ۱۱۶۱، ۱۱۶۲، ۱۱۶۳، ۱۱۶۴، ۱۱۶۵، ۱۱۶۶، ۱۱۶۷، ۱۱۶۸، ۱۱۶۹، ۱۱۷۰، ۱۱۷۱، ۱۱۷۲، ۱۱۷۳، ۱۱۷۴، ۱۱۷۵، ۱۱۷۶، ۱۱۷۷، ۱۱۷۸، ۱۱۷۹، ۱۱۸۰، ۱۱۸۱، ۱۱۸۲، ۱۱۸۳، ۱۱۸۴، ۱۱۸۵، ۱۱۸۶، ۱۱۸۷، ۱۱۸۸، ۱۱۸۹، ۱۱۹۰، ۱۱۹۱، ۱۱۹۲، ۱۱۹۳، ۱۱۹۴، ۱۱۹۵، ۱۱۹۶، ۱۱۹۷، ۱۱۹۸، ۱۱۹۹، ۱۲۰۰، ۱۲۰۱، ۱۲۰۲، ۱۲۰۳، ۱۲۰۴، ۱۲۰۵، ۱۲۰۶، ۱۲۰۷، ۱۲۰۸، ۱۲۰۹، ۱۲۱۰، ۱۲۱۱، ۱۲۱۲، ۱۲۱۳، ۱۲۱۴، ۱۲۱۵، ۱۲۱۶، ۱۲۱۷، ۱۲۱۸، ۱۲۱۹، ۱۲۲۰، ۱۲۲۱، ۱۲۲۲، ۱۲۲۳، ۱۲۲۴، ۱۲۲۵، ۱۲۲۶، ۱۲۲۷، ۱۲۲۸، ۱۲۲۹، ۱۲۳۰،

برخوردارند. نتایج حاصل از طیف  $^{13}\text{C-NMR}$  در جدول ۲ آورده شده است.

جدول ۲: نتایج طیف  $^{13}\text{C-NMR}$

شماره کربن	دلتا ppm
$\text{C}_8$	۹۳/۹۶
$\text{C}_9$	۹۸/۷۹
$\text{C}_{10}$	۱۰۳/۶۲
$\text{C}_7'$	۱۱۵/۶۷
$\text{C}_5'$	۱۱۶/۲۱
$\text{C}_6'$	۱۲۰/۵۹
$\text{C}_1'$	۱۲۲/۵۸
$\text{C}_2$	۱۳۶/۳۴
$\text{C}_3'$	۱۴۵/۶۶
$\text{C}_2$	۱۴۷/۴۰
$\text{C}_4'$	۱۴۸/۳۰
$\text{C}_9$	۱۵۶/۷۴
$\text{C}_5$	۱۶۱/۳۳
$\text{C}_7$	۱۶۴/۴۸
$\text{C}_1$	۱۷۶/۴۴

نتایج طیف سنجی مادون قرمز: مطابق با شکل ۶، پیک‌های پهن با شدت نسبتاً بالا در فرکانس‌های بالای  $3000\text{ cm}^{-1}$  مربوط به گروه‌های هیدروکسی پیوند مولکول می باشد. همچنین ارتعاشات کششی پیوند C-H منجر به پیک‌های تیز و ظریف در ناحیه  $2900-3000\text{ cm}^{-1}$  می‌شود. فرکانس کششی گروه کربونیل در  $1650\text{ cm}^{-1}$  ظاهر شده است که به دلیل مزدوج شدن با حلقه بنزن، فرکانس آن کمتر از حد انتظار است. پیوندهای  $\text{C}=\text{C}$  آروماتیک که در ناحیه  $1600^1\text{ cm}^{-1}$  ظاهر شده است، در نهایت ارتعاش مربوط به پیوند C-O که در ناحیه  $1000\text{ cm}^{-1}$  تا  $1200\text{ cm}^{-1}$  پیک داده است.



شکل ۶: طیف مادون قرمز ترکیب کوئرستین

۳ تا ۵ آورده شده است. بیشترین قطراله عدم رشد مربوط به عصاره متانولی با غلظت ۴۰ میلی گرم بر میلی لیتر در مقابله با باکتری‌های *S. aureus* و *E. coli* بدست آمد.

نتایج حاصل از بررسی اثر آنتی میکروبی: میانگین قطراله عدم رشد به روش چاهک برای عصاره‌های متانولی، کلروفرمی و اتیل استاتی به ترتیب در جداول

جدول ۳: میانگین قطرهای عدم رشد به روش چاهک (n=۳) برای عصاره متانولی

غلظت \ باکتری	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>
۳۰ mg/ml	۱۶ ± ۰/۵	۱۴ ± ۰/۷	۱۹ ± ۰/۵	۱۰ ± ۰/۷
۴۰ mg/ml	۲۰ ± ۰/۷	۱۶ ± ۱	۲۰ ± ۰/۷	۱۱ ± ۰/۳

میانگین قطرهای عدم رشد (mm) ± انحراف معیار

جدول ۴: میانگین قطرهای عدم رشد به روش چاهک (n=۳) برای عصاره کلروفرمی

غلظت \ باکتری	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>
۳۰ mg/ml	۱۱ ± ۱	۱۰ ± ۰/۵	۱۳ ± ۰/۷	۷ ± ۰/۵
۴۰ mg/ml	۱۶ ± ۱	۱۲ ± ۰/۷	۱۵ ± ۰/۳	۸ ± ۰/۷

میانگین قطرهای عدم رشد (mm) ± انحراف معیار

جدول ۵: میانگین قطرهای عدم رشد به روش چاهک (n=۳) برای عصاره اتیل استاتی

غلظت \ باکتری	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>
۳۰ mg/ml	۱۲ ± ۰/۵	۱۰ ± ۰/۷	۱۴ ± ۱	۹ ± ۰/۷
۴۰ mg/ml	۱۹ ± ۰/۵	۱۲ ± ۰/۵	۱۶ ± ۱	۱۰ ± ۰/۳

میانگین قطرهای عدم رشد (mm) ± انحراف معیار

جدول ۷: بررسی نتایج حاصل از تعیین میزان MIC و

MBC عصاره کلروفرمی

باکتری	MIC	MBC
<i>E. coli</i>	۰/۲۵	۰/۵
<i>S. aureus</i>	۰/۲۵	۰/۵
<i>P. aeruginosa</i>	۰/۵	۱
<i>B. subtilis</i>	۰/۵	۱

جدول ۸: بررسی نتایج حاصل از تعیین میزان MIC و

MBC عصاره اتیل استاتی

باکتری	MIC	MBC
<i>E. coli</i>	۰/۲۵	۰/۵
<i>S. aureus</i>	۰/۲۵	۰/۵
<i>P. aeruginosa</i>	۰/۵	۱
<i>B. subtilis</i>	۰/۵	۱

حداقل غلظت مهارکنندگی رشد باکتری و حداقل

غلظت کشندگی باکتری برای عصاره‌های متانولی، اتیل

استاتی و کلروفرمی به روش Broth Microdilution

انجام شد و پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون، حفره‌های

تست با حفره‌های کنترل منفی مقایسه گردید و پس از

سه بار تکرار آزمایش بیشترین رقتی که در آن کدورت

میکروبی دیده نشد، به عنوان MIC گزارش گردید و

همچنین حداقل غلظت کشندگی باکتری عصاره اندازه

گیری شد و نتایج حاصل MIC و MBC در

جدول‌های ۶ تا ۸ آورده شده است.

جدول ۶: بررسی نتایج حاصل از تعیین میزان MIC و

MBC عصاره متانولی

باکتری	MIC	MBC
<i>E. coli</i>	۰/۱۲۵	۰/۲۵
<i>S. aureus</i>	۰/۲۵	۰/۵
<i>P. aeruginosa</i>	۰/۵	۱
<i>B. subtilis</i>	۰/۵	۱

## بحث

نتایج حاصل از اثرات ضد باکتریایی عصاره متانولی (جداول ۳ تا ۸) به روش حفر چاهک در غلظت‌های مختلف نشان داد که با افزایش غلظت عصاره، اثرات ضد باکتریایی افزایش می‌یابد، به طوری که در غلظت ۴۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بیشترین اثر ضد باکتریایی دیده شد. در این غلظت بیشترین اثر مربوط به عصاره متانولی بر سویه‌های *E. coil* و *S. aureus* باهاله عدم رشد ۲۰ میلی‌متر بدست آمد. تعیین میزان MIC و MBC عصاره‌ها به روش Microdilution نشان داد که بیشترین تأثیر ضد میکروبی مربوط به عصاره متانولی به ویژه برای سویه *E. coil* با MIC برابر با ۰/۱۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و MBC برابر با ۰/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر است. همچنین یک فلاونول به نام کوئرستین با خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضد رادیکال‌های آزاد از عصاره برگ گیاه استخراج و تعیین ساختار مولکولی شد. کوئرستین یک فلاونوئید مهم طبیعی با اثرات بالقوه مفید بر سلامت انسان بوده و به‌طور گسترده در میوه‌ها، سبزیجات و گیاهان دارویی وجود دارد. همچنین کوئرستین دارای اثرات مفیدی بر سه بیماری متابولیک، از جمله دیابت، چربی خون، و بیماری کبد چرب غیرالکلی می‌باشد. به طوری که می‌تواند ترشح انسولین را تقویت کرده، مقاومت به انسولین را بهبود بخشد، سطح چربی خون را کاهش دهد، التهاب و استرس اکسیداتیو را مهار کند، تجمع چربی کبدی را کاهش دهد و اختلالات میکروبی روده را در مدل‌های حیوانی تنظیم کند (Yi et al., 2021). همچنین کوئرستین به عنوان یک آنتی‌اکسیدان طبیعی به طور سنتی برای پیشگیری یا درمان انواع بیماری‌ها مانند سرطان، بیماری‌های قلبی عروقی، سندرم تخمدان پلی‌کیستیک، چاقی، التهاب مزمن و اختلال عملکرد سیستم تولید مثل استفاده می‌شود. کوئرستین به عنوان

یک عامل ضد التهابی، ضد آپوپتوز، آنتی‌اکسیدان و ضد سرطان به ویژه سرطان تخمدان عمل می‌کند (Rashidi et al., 2021). محتویات فنلی گیاه *M. oleifera* شامل گالیک اسید، کوماریک اسید، کوئرستین و اسید ۴-هیدروکسی ۳-متوکسی سینامیک اسید رفتار و پتانسیل سیتوتوکسیک را در برابر سلول‌های سلول سرطانی از خود نشان می‌دهند (Mumtaz et al., 2021). طیف گسترده‌ای از ترکیبات فیتوشیمیایی در بین برگ، گل، میوه، دانه، روغن دانه، پوست و ریشه گیاه *M. oleifera* از گروه آلکالوئیدها و استرول‌ها، پلی‌فنول‌ها و اسیدهای فنولیک، اسیدهای چرب، فلاونوئیدها و گلیکوزیدهای فلاوانول، گلوکوزینولات و ایزوتیوسیانات، ترپن، آنتوسیانین‌ها و غیره وجود دارد که دارای اثرات ضد توموری، آنتی‌اکسیدانی، ضد التهاب، محافظت از قلب و کبد، محافظت کننده عصبی، محافظ بافت و سایر فعالیت‌های بیولوژیکی با افزایش ایمنی می‌باشند (Dhakad et al., 2019). عصاره دانه گیاه *M. oleifera* به‌عنوان یک جایگزین طبیعی آنتی‌باکتریال و آنتی‌اکسیدانی می‌باشد (Reyes-Becerril et al., 2021; Sharma et al., 2020). نتایج کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا نشان داد که اسید گالیک و اسید وانیلیک و به دنبال آن کوئرستین به‌عنوان بیشترین ترکیبات در عصاره الکلی دانه *M. oleifera* وجود دارند (Sharma et al., 2020). فلاونوئیدها اثرات ویتامین C را تقویت کرده و به عنوان آنتی‌اکسیدان عمل می‌کنند. آنها همچنین از نظر بیولوژیکی در برابر سموم کبدی، تومورها، ویروس‌ها و سایر میکروب‌ها فعال هستند (Korkina et al., 1996). در مطالعه قبلی فعالیت ضد باکتریایی عصاره *M. oleifera* بر روی سویه‌های باکتریایی نشان داد که عصاره اتانولی برگ این گیاه وسیع‌ترین طیف فعالیت ضد میکروبی را بر روی باکتری‌های *Pseudomonas*

برابر پراکسیداسیون لیپیدی، تولید NO و رشد سلول‌های تومور فعال تر هستند. اثرات ضد میکروبی قابل توجهی در برابر باکتری‌ها و سویه‌های قارچ توسط هر دو عصاره هیدرواتانولی و آبی این گیاه اثبات شده است (Fernandes et al., 2021). عصاره گیاه *M. oleifera*، دارای تأثیرات درمانی بر روی کولیت موش‌های بیمار می‌باشد (Minaiyan et al., 2014). تحقیق دیگری بر روی عصاره *M. oleifera* جمع آوری شده از موزامبیک نشان داد که این گیاه دارای فلاونوئید کوئرستین و لوتئولین است و روغن اسانسی آن شامل ترکیبات هگزاکوزان (۱۳/۹٪)، هپتاکوزان (۱۱/۴٪) و پنتاکوزان (۱۳/۳٪) بوده و دارای فعالیت آنتی میکروبی خوبی در مقابل سویه‌های *B. cereus* and *P. aeruginosa* و همچنین دارای خاصیت ضد قارچی می‌باشد (Marrufo et al., 2013). گیاه *M. oleifera* به دلیل داشتن پلی فنول‌ها دارای خاصیت آنتی اکسیدانی بالایی می‌باشد (Fahey, 2005). فیتول، تیمول و هیدروکربن‌ها بیشترین غلظت را در روغن اسانسی حاصل از گیاه *M. oleifera* جمع آوری شده از برزیل به خود اختصاص داده اند (Barreto et al., 2009). طبق تحقیق قبلی صورت گرفته، عصاره برگ *M. oleifera* فعالیت‌های آنتی اکسیدانی قوی را از خود نشان داده که از مهمترین ترکیبات آنتی اکسیدان موجود در آن به ترتیب quercetin 3-O-(6"-kaempferol 3-O-rutinoside kaempferol 3-O-glucoside ، (malonyl-glucoside) و مشتق کوئرستین شناسایی شدند (Xu et al., 2020). در یک تحقیق قبلی صورت گرفته، ترکیبات فیتوشیمیایی موجود در عصاره برگ *M. oleifera* رویشی در جنوب هند شناسایی و فعالیت‌های ضدباکتریایی، ضدقارچی و ضدویروسی عصاره‌های آن با استفاده از روش‌های آزمایشگاهی مورد ارزیابی قرار گرفت. در این تحقیق، استخراج عصاره از برگ‌ها

*Bacillus subtilis*، *Proteus vulgaris*، *aeruginosa*، *Streptococcus* و *Staphylococcus epidermidis mutans* داشته است (Amabye and Tadesse, 2016). در تحقیق دیگری، در بین عصاره‌های مختلف تهیه شده از غلاف گل *M. oleifera*، عصاره متانولی و عصاره آبی به ترتیب دارای فعالیت ضد باکتریایی و آنتی اکسیدانی بالاتری بودند (Gull et al., 2016). در یک مطالعه، فعالیت‌های فیتوشیمیایی و ضد باکتریایی عصاره دانه *M. oleifera* بر روی باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی انجام گرفته بود. نتایج فیتوشیمیایی نشان داد که عصاره دانه این گیاه سرشار از آلکالوئیدها، تانن‌ها، ساپونین‌ها، فنل‌ها و فلاونوئیدها به عنوان متابولیت‌های ثانویه است. نتایج به دست آمده از مطالعه ضد باکتریایی نشان داد که عصاره دانه *M. oleifera* دارای قدرت بازدارندگی بالایی در برابر تمامی سویه‌های باکتریایی مورد مطالعه است. به طوریکه مشاهده شد که کامفرول و کوئرستین *Escherichia coli* را مهار می‌کنند. کامفرول، سویه‌های *Pseudomonas*، *Klebsiella pneumonia*، *aeruginosa* و *Streptococcus pneumonia* را مهار می‌کند، در حالی که کوئرستین بالاترین قدرت مهار کنندگی را در برابر سویه *Staphylococcus aureus* در مقایسه با سایر ترکیبات از خود نشان داد. این امر اثربخشی دانه *M. oleifera* را در ریشه کنی برخی عفونت‌های ناشی از باکتری‌ها نشان می‌دهد (Akintelu et al., 2021). دانه‌های گیاه *M. oleifera* شامل سطوح بالایی از پروتئین، چربی و مشتقات فلاوان-۳-اول هستند، در صورتی که در میوه‌ها و گل‌های آن، کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها، اسید سیتریک، فلاونوئیدهای گلیکوزیده و  $\alpha$ -توکوفرول بیشترین غلظت را به خود اختصاص داده اند (Fernandes et al., 2021). عصاره هیدرواتانولی این گیاه نسبت به سایر عصاره‌ها حاوی پلی فنل‌های بیشتری بوده و در

گیاهانی که دارای میزان بالای فنل و فلاونوئید هستند به نسبت خاصیت آنتی اکسیدانی و آنتی میکروبی بالاتری از خود نشان می‌دهند (Govahi et al., 2019; Akya et al., 2014). نتایج تحقیقات قبلی نشان می‌دهد که حلال متانول نقش مؤثری در استخراج ترکیبات ثانویه فنولی و فلاونوئیدی داشته و این ترکیبات نیز منجر به بروز خاصیت آنتی اکسیدانی و آنتی میکروبی می‌شوند (Azizian Shermeh et al., 2018). همچنین پژوهش‌های قبلی نشان داده که حلال‌های اتانول و متانول با نفوذ در داخل سلول‌های گیاهی، ترکیبات طبیعی ثانویه شامل فنول و فلاونوئیدها را بیشتر استخراج می‌کنند (Khorasani Esmacili et al., 2015). در این تحقیق نیز اثبات شد که در بین سه عصاره مورد آزمایش، عصاره متانولی دارای حداکثر میزان فعالیت آنتی میکروبی است.

#### نتیجه گیری نهایی

نتایج حاصل از استخراج ماده مؤثره از کشت بافت گیاه *M. oleifera* نشان دهنده وجود ماده کوئرستین به عنوان یک ترکیب فلاونول می‌باشد. همچنین عصاره متانولی این گیاه دارای خاصیت آنتی میکروبی بالایی بوده و بنابراین می‌توان از روش کشت بافت به منظور تولید صنعتی ماده ارزشمند کوئرستین در مکان‌هایی که امکان کشت طبیعی گیاه *M. oleifera* وجود ندارد استفاده کرد.

#### سپاسگزاری

از واحد علوم دارویی دانشگاه آزاد اسلامی بخاطر در اختیار گذاشتن امکانات آزمایشگاهی تقدیر و تشکر می‌گردد.

توسط دستگاه سوکسله با استفاده از حلال‌های هگزان، بنزن، ایزوپروپانول، متانول و آب صورت گرفت. نتایج آنالیز فیتوشیمیایی وجود آلکالوئیدها، کربوهیدرات‌ها، تانن‌ها، ترکیبات فنلی، ترپنوئیدها، گلیکوزیدهای قلبی، اسیدهای آمینه، روغن‌ها و چربی‌ها را در عصاره‌های مختلف این گیاه اثبات کرد. عصاره‌های آبی و متانولی برگ گیاه *M. oleifera* فعالیت ضدباکتریایی را در برابر سویه‌های مورد آزمایش از خود نشان دادند، همچنین عصاره‌های هگزانی و بنزنی این گیاه نیز دارای فعالیت‌های ضد قارچی بودند، بعلاوه عصاره‌های هگزانی، بنزنی و ایزوپروپانولی فعالیت ضد ویروسی در برابر ویروس هپاتیت B از خود نشان دادند. در نتیجه اثبات می‌گردد که برگ‌های گیاه *M. oleifera* دارای ترکیبات فیتوشیمیایی با خاصیت ضد میکروبی هستند (Bagheri et al., 2020). نتایج به دست آمده از یک تحقیق نشان داده است که بیشترین راندمان استخراج از برگ‌های *M. oleifera* مربوط به عصاره گیری به روش سوکسله و بیشترین میزان فنل و فلاونوئید در آن مربوط به روش استخراج توسط خیساندن بوده است. همچنین نتایج بررسی خواص آنتی اکسیدانی عصاره نشان داد که بیشترین خواص آنتی اکسیدانی مربوط به عصاره بدست آمده به روش سوکسله می‌باشد. همچنین آزمون MTT هم نشان داد که در بین عصاره‌های مختلف، کمترین  $IC_{50}$  مربوط به عصاره استخراج شده به روش سوکسله بوده است (Daghaghele et al., 2022). نتایج به دست آمده از تحقیق دیگری نشان می‌دهد که استخراج به روش اولتراسونیک یک فرآیند موفقیت‌آمیز برای استخراج مواد فلاونوئیدی و فنولیک از برگ‌های گیاه *M. oleifera* است (Daghaghele et al., 2021).

## References

- Akintelu, S.A., Folorunso, A.S. and Oyebamiji, A.K. (2021). Phytochemical and antibacterial investigation of *Moringa oleifera* seed: experimental and computational approaches. *Eclética Química Journal*, 46(2): 17-25.
- Akya, A., Mojarab, M., Farshchian, M. and Ahmadi, K. (2014). The effect of stem bark extracts of *Tamarix ramosissima* shrub on *Pseudomonas aeruginosa* isolates. *Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences*, 19(4): 128-134.
- Amabye, T.G. and Tadesse, F.M. (2016). Phytochemical and antibacterial activity of *Moringa Oleifera* available in the market of mekelle. *Journal of Analytical and Pharmaceutical Research*, 2(1): 00011. DOI: 10.15406/japlr.2016.02.00011.
- Anwar, F., Latif, S., Ashraf, M. and Gilani, A.H. (2007). *Moringa oleifera*: a food plant with multiple medicinal uses. *Phytotherapy Research*, 21(1):17-25.
- Anzano, A., Ammar, M., Papaiani, M., Grauso, L., Sabbah, M., Capparelli, R. and Lanzotti, V. (2021). *Moringa oleifera* Lam.: a phytochemical and pharmacological overview. *Horticulturae*, 7, 409. <https://doi.org/10.3390/horticulturae7100409>.
- Asare, G.A., Gyan, B., Bugyei, K., Adjei, S., Mahama, R., Addo, P., Otu-Nyarko, L., Wiredu, E.K. and Nyarko, A. (2012). Toxicity potentials of the nutraceutical *Moringa oleifera* supra supplementation levels. *Journal of Ethnopharmacology*, 139(1): 265-272.
- Azizian Shermeh, O., Taherizadeh, M., Valizadeh, M. and Qasemi, A. (2018). Robial and antioxidant activities and determining phenolic and flavonoid contents of the extracts of five species from different families of the medicinal plants grown in Sistan and Baluchestan province. *Journal of Fasa University of Medical Sciences*, 7: 465-479.
- Bagheri, G., Martorell, M., Ramírez-Alarcón, K., Salehi, B. and Sharifi-Rad, J. (2020). phytochemical screening of *Moringa oleifera* leaf extracts and their antimicrobial activities. *Cellular and Molecular Biology (Noisy-le-grand, France)*, 66(1): 20-26. PMID: 32359378.
- Balouiri, M., Sadiki, M. and Ibsouda, S.K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2): 71-79.
- Barreto, M.B., Freitas, J.V.B.D., Silveira, E.R., Bezerra, A.M.E., Nunes, E.P. and Gramosa, N.V. (2009). Volatile and non-volatile chemical constituents of *Moringa oleifera* Lam., Moringaceae. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 19(4): 893-897.
- Bina, B., Shasavani, A., Asghare, G. and Hasanzade, A. (2007). Comparison of water turbidity removal efficiencies of *Moringa oleifera* seed extract and poly-aluminum chloride. *Journal of Water and Wastewater*, 18(1): 24-33.
- Biswas, D., Nandy, S., Mukherjee, A., Pandey, D.K. and Dey, A. (2020). *Moringa oleifera* Lam. and derived phytochemicals as promising antiviral agents: A review. *South African Journal of Botany*, 129: 272-282. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.07.049>.
- Daghaghele, S., Kiasat, A.R., safiodin ardebili, S.M., Mirzajani, R., (2022). Evaluation of different extraction methods of phytochemical and antioxidant compounds of *Moringa oleifera* leaf extract. *Journal of food science and technology (FSCT)*, 18(121) :163-172.
- Daghaghele, S., Kiasat, A.R., Safieddin Ardebili, S.M., Mirzajani, R. (2021). Intensification of extraction of antioxidant compounds from *Moringa Oleifera* leaves Using ultrasound-assisted approach: BBD-RSM design. *International Journal of Fruit Science*, 21(1): 693-705.
- Dhakad, A.K., Ikram, M., Sharma, S., Khan, S., Pandey, V.V. and Singh, A. (2019). Biological, nutritional, and therapeutic significance of *Moringa oleifera* Lam. *Phytotherapy research: PTR*, 33(11):

- 2870-2903.  
<https://doi.org/10.1002/ptr.6475>.
- Farooq, B., Koul, B., Mahant, D. and Yadav, D. (2021). Phytochemical analyses, antioxidant and anticancer activities of ethanolic leaf extracts of *Moringa oleifera* Lam. varieties. *Plants* (Basel, Switzerland), 10(11), 2348.  
<https://doi.org/10.3390/plants10112348>.
- Fahey, J.W. (2005). *Moringa oleifera*: A review of the medical evidence for its nutritional, therapeutic, and prophylactic properties. Part 1. *Trees for Life Journal*, 1: 1-33.
- Fernandes, Â., Bancessi, A., Pinela, J., Dias, M. I., Liberal, Â., Calhelha, R. C., Ćirić, A., Soković, M., Catarino, L., Ferreira, I. and Barros, L. (2021). Nutritional and phytochemical profiles and biological activities of *Moringa oleifera* Lam. edible parts from Guinea-Bissau (West Africa). *Food chemistry*, 341(Pt 1): 128229.
- Govahi, M., Ghorbani, F., Ranjbar, M., Rahaiee, S. and Azizi, H. (2019). Evaluation of antioxidant and antibacterial activity and determination of phenolic and flavonoid content of aqueous and methanolic extracts of *Scutellaria pekinensis*. *Journal of Ilam University of Medical Sciences*, 27(3): 91-100.
- Gull, I., Javed, A., Aslam, M.S., Mushtaq, R. and Athar, M.A. (2016). Use of *Moringa oleifera* flower pod extract as natural preservative and development of SCAR marker for Its DNA based identification. *Bio Med research international*, 2016: 7584318.
- Hendra, R., Ahmad, S., Sukari, A., Shukor, M.Y. and Oskoueian, E. (2011). Flavonoid analyses and antimicrobial activity of various parts of *Phaleria macrocarpa* (Scheff) boerl. fruit. *International Journal of Molecular Sciences*, 12(6): 3422-3431.
- Katayon, S., Megat Mohd Noor, M.J., Asma, M., Abdul Ghani, L.A., Thamer, A.M., Azni, I., Ahmad, J. Khor, B.C., and Suleyman, A.M. (2006). Effects of storage condition of *Moringa oleifera* seeds on its performance in coagulation. *Bioresource Technology*, 97(13): 1455-1460.
- Kebreab, A.G. (2004). *Moringa* seed and pumice as alternative natural materials for drinking water treatment. KTH Land and Water Resources Engineering Univ., Trital wr PhD Thesis 1013.
- Khorasani Esmacili, A., Taha, R.M., Mohajer, S. and Banisalam, B. (2015). Antioxidant activity and total phenolic and flavonoid content of various solvent extracts from in vivo and in vitro grown *Trifolium pretense* L. (Red clover). *Bio Med Research International*, 2015: 1-11.
- Khoroushi M, Khorasgani M R, Aliasghari A. (2017). Determination of minimum inhibitory concentration (MIC) of two plants extract on cariogenic streptococci. *Journal of Dental Medicine*, 30(1) :12-17.
- Korkina, L.G. and Afanas'ev, I.B. (1996). Antioxidant and chelating properties of flavonoids. *Adv Pharmacol* 38: 151-163.
- Landázuri, A.C., Gualle, A., Castañeda, V., Morales, E., Caicedo, A. and Orejuela-Escobar, L. M. (2020). *Moringa oleifera* Lam. leaf powder antioxidant activity and cytotoxicity in human primary fibroblasts. *Natural Product Research*,
- Lenin, S., Ramasamy, S. and Revathy, D. (2021). Evaluate the effectiveness of phytochemical, physicochemical and mineral analysis of *Moringa oleifera* (Drum Stick Leaves). *Indian Journal of Pharmacy & Drugs Studies*, 2(2): 20-24.
- Marrufo, T., Nazzaro, F., Mancini, E., Fratianni, F., Coppola, R., De Martino, L., Bela Agostinho, A. and De Feo, V. (2013). Chemical composition and biologicala of the essential oil from leaves of *Moringa oleifera* Lam. Cultivated in Mozambique. *Molecules*, 18(9): 10989-11000.
- Meireles, D., Gomes, J., Lopes, L., Hinzmann, M. and Machado, J. (2020). A review of properties, nutritional and pharmaceutical applications of *Moringa oleifera*: integrative approach on conventional and traditional Asian medicine. *Advances in Traditional Medicine*, 20: 495-515.



- Minaiyan, M., Asghari, G., Taheri, D., Saeidi, M. and Nasr-Esfahani, S. (2014). Anti-inflammatory effect of *Moringa oleifera* Lam. seeds on acetic acid-induced acute colitis in rats. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 4(2): 127-136.
- Moeini, F., Mohammadi-Sichani, M. and Shahanipoor. K. (2015). Evaluation of the antibacterial effect of methanol and aqueous extracts of *Vaccinium Arctostaphylos* fruit against *Salmonella spp in vitro*. *Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences*, 14(4): 257-268.
- Mukunzi, D., Nsor-Atindana, J., Xiaoming, Z., Gahungu, A., Karangwa, E. and Mukamurezi, G. (2011). Comparison of volatile profile of *Moringa oleifera* leaves from Rwanda and China using HS-SPME. *Pakistan Journal of Nutrition*, 10(7): 602-608.
- Mumtaz, M.Z., Kausar, F., Hassan, M., Javaid, S. and Malik, A. (2021). Anticancer activities of phenolic compounds from *Moringa oleifera* leaves: in vitro and in silico mechanistic study. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 10(12): 1-11.
- Nizioł-Łukaszewska, Z., Furman-Toczek, D., Bujak, T., Wasilewski, T. and Hordyjewicz-Baran, Z. (2020). *Moringa oleifera* L. extracts as bioactive ingredients that increase safety of body wash cosmetics. *Dermatology Research and Practice*, Article ID 8197902, 14 pages,
- Rashidi, Z., Khosravizadeh, Z., Talebi, A., Khodamoradi, K., Ebrahimi, R. and Amidi, F. (2021). Overview of biological effects of quercetin on ovary. *Phytotherapy Research*, 35(1): 33-49.
- Reyes-Becerril, M., Angulo, C. and Silva-Jara, J. (2021). Antibacterial and immunomodulatory activity of *Moringa (Moringa oleifera)* seed extract in Longfin yellowtail (*Seriola rivoliana*) peripheral blood leukocytes. *Aquaculture Research*, 52(9): 4076-4085.
- Shah, K.H. and Oza, M.J. (2020). Comprehensive review of bioactive and molecular aspects of *Moringa oleifera* Lam. *Food reviews international*.
- Sharma, P., Wichaphon, J. and Klangpetch, W. (2020). Antimicrobial and antioxidant activities of defatted *Moringa oleifera* seed meal extract obtained by ultrasound-assisted extraction and application as a natural antimicrobial coating for raw chicken sausages. *International Journal of Food Microbiology*, 332(2): 2020, 108770.
- Sultana, S. (2020). Nutritional and functional properties of *Moringa oleifera*. *Metabolism Open*, 8: 100061.
- Taherkhani, M. and Rustaiyan, A. (2016). Investigation of in vitro cytotoxic, mutagenic and anti-mutagenic effects of shirazolide extracted from *Jurinea leptoloba*. *Natural Product Research*, 17: 1-4.
- Wallace, J.G.S., Kumar, S.N., Smila, V.N., Nivitha, T., Nithaniyal, S., Satapathy, S., Acharya, K. and Mondal, E. (2021). Validation of tribal claims on *Moringa oleifera* lam. using phytochemical analysis. *Plant Archives*, 21(1): 1838-1841.
- Xiao, X., Wang, J., Meng, C., Liang, W., Wang, T., Zhou, B., Wang, Y., Luo, X., Gao, L. and Zhang, L. (2020). *Moringa oleifera* Lam and its therapeutic effects in immune disorders. *Frontiers in pharmacology*, 11: 566783.
- Xie, J., Peng, L. J., Yang, M. R., Jiang, W. W., Mao, J. Y., Shi, C. Y., Tian, Y. and Sheng, J. (2021). Alkaloid extract of *Moringa oleifera* Lam. exerts antitumor activity in human non-small-cell lung cancer via modulation of the JAK2/STAT3 signaling pathway. *Evidence-based complementary and alternative medicine*, Article ID: 5591687.
- Xu, Y., Chen, G. and Guo, M. (2021). Correlations between phytochemical fingerprints of *Moringa oleifera* leaf extracts and their antioxidant activities revealed by chemometric

Yi, H., Peng, H., Wu, X., Xu, X., Kuang, T., Zhang, J., Du, L. and Fan, G. (2021). The therapeutic effects and mechanisms of quercetin on metabolic diseases: pharmacological data and clinical evidence. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*,

Zhang, Y., Peng, L., Li, W., Dai, T., Nie, L., Xie, J., Ai, Y., Li, L., Tian, Y. and Sheng, J. (2020). Polyphenol extract of *Moringa oleifera* leaves alleviates colonic inflammation in dextran Sulfate Sodium-Treated Mice. *Evidence-based complementary and alternative medicine*, Article ID: 6295402.