



## بررسی فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و ضد باکتریایی عصاره‌های متانولی پنیرک و حنا بر برخی از باکتری‌های روده‌ای

زهرا حجتی بناب<sup>۱</sup>، الهامه نیکخواه<sup>۲\*</sup>

<sup>۱</sup>مربی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد بناب، گروه میکروبیولوژی، آمربی، 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 ضد میکروبی 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 ضد میکروبی از روش انتشار دیسک در برابر ۳ میکروارگانیزم روده‌ای استفاده گردید. سپس حداقل غلظت بازدارنده رشد باکتری نیز محاسبه گردید.

یافته‌ها: روش مورد استفاده به منظور سنجش فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی برای سنجش میزان جمع‌آوری 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 مهارتی بین ۴ تا ۱۵ میلی‌متر را داشتند.

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

واژگان کلیدی: آنتی‌اکسیدان، ضد باکتری، رادیکال‌های آزاد، باکتری‌های روده‌ای

دریافت مقاله: شهریور ۱۳۸۹ پذیرش برای چاپ: آبان ۱۳۸۹

### مقدمه

تعداد سویه‌های باکتریایی مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌های گوناگون، تلاش‌های بسیاری برای استفاده از توان بالقوه خاصیت ضد میکروبی 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

میکروارگانیزم‌ها 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 میکروارگانیزم‌ها باشد. با افزایش

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

از جمله این گیاهان می توان به پنیرک (*Malva silvestans*) و حنا (*Lowsonia inermis*) اشاره نمود که در طب سنتی کاربرد گسترده ای داشته و گونه های مختلف آن بومی بسیاری از مناطق کشور از جمله آذربایجان شرقی می باشند. در این مطالعه خواص آنتی اکسیدانی و ضدباکتریایی عصاره متانولی این دو گیاه مورد بررسی قرار گرفته است.

### مواد و روش ها

الف) تهیه عصاره های گیاهی: عصاره های متانولی گیاهان مورد بررسی به روش ماسراسیون تهیه گردیدند. به این منظور ابتدا گیاهان مورد نظر از منطقه آذربایجان شرقی جمع آوری 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 اوپوریتور در خلأ در دمای حدود ۴۰ درجه سانتیگراد استفاده شد و وزن خشک هر کدام به صورت درصد تعیین گردید.

ب) بررسی فعالیت های ضد میکروبی: سویه های استاندارد باکتری های اشریشیا کلی، کلبسیلا آکسی توکا و انتروباکتر کلوآکه از کلکسیون میکروبی سازمان پژوهش های علمی و صنعتی ایران تهیه شد. سپس از روش انتشار دیسک برای ارزیابی فعالیت ضد میکروبی استفاده شد. در این روش ابتدا دیسک های استریل در محلول عصاره انداخته شدند و پس از خیس خوردن از آن ها استفاده گردید. محیط کشت مولهینتون آگاری که از قبل تهیه شده بود به ضخامت ۵ میلی متر به پتری دیش های انتخابی استریل اضافه شد. سپس نمونه باکتری توسط اپلیکاتور از محیط کشت پایه برداشته و به محیط کشت تلقیح گردید. دیسک های آماده حاوی عصاره که حلال آن ها کاملاً تبخیر شده بود به کمک پنس استریل در فواصل معین از یکدیگر بر روی محیط کشت قرار داده شدند. همچنین فعالیت آنتی باکتریایی دیسک های آنتی بیوتیک استاندارد (سفتیزوکسیم و کوتریموکسازول) نیز در پتری دیش های جداگانه ارزیابی گردید. در نهایت پتری دیش های تلقیح شده در

ضد میکروبی به دست آمده از گیاهان می توانند با مکانیسم های متفاوتی نسبت به آنتی بیوتیک ها، باکتری ها را حذف کنند. این مساله از نظر بالینی در درمان عفونت های ناشی از سویه های مقاوم میکروبی بسیار حائز اهمیت می باشد. همچنین اعتقاد بر این است که اثر اکسیداتیو رادیکال های آزاد و سایر گونه های اکسیژن فعال بر روی ترکیبات سلولی مثل لیپیدها و غشاهای سلولی، می تواند موجب ایجاد تعداد زیادی از بیماری های دژنرتیو مانند بیماری های 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 سال های اخیر ارزیابی ویژگی های عملکردی مواد طبیعی مورد استفاده در رژیم غذایی انسان مورد توجه بوده است (۶).

رادیکال های آزاد، مولکول هایی ناپایدار با واکنش پذیری بسیار بالا بوده که شامل انواع اکسیژن فعال (ROS) و نیتروژن فعال (RNS) می باشند. این مولکول ها به اشکال متفاوتی از جمله آنیون سوپر اکسید، هیدروکسیل، رادیکال های نیتریک اکساید و گونه های غیر رادیکالی مثل پراکسید هیدروژن و نیتروز اسید دیده می شوند. اشکال مختلف اکسیژن فعال می توانند موجب آسیب شوند که این امر در نهایت منجر به ایجاد جهش در مولکول DNA می گردد. رادیکال های آزاد برای پایداری خود به سایر مولکول ها بدن حمله می کنند و در نهایت آسیب های سلولی و تشکیل رادیکال های آزاد دیگر به دلیل واکنش های زنجیره ای را به دنبال دارند (۷). در مقابل این عوامل، آنتی اکسیدان ها ترکیباتی هستند که به مهار بسیاری از واکنش های اکسایشی ایجاد شده توسط رادیکال های آزاد کمک می نمایند و بدین وسیله آسیب وارده به سلول ها و بافت ها را مهار یا به تأخیر می اندازند. از جمله مکانیسم های عملکردی آنها واکنش جمع آوری گونه های رادیکال آزاد اکسیژن و نیتروژن می باشد (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.

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

میکروارگانیزم	پنیرک	حنا	شاهد (سفیتیزوکسیم)	شاهد (کو تریموکسازول)
اشریشیا کلی	$4/45 \pm$ میلی متر	$5/66 \pm$ میلی متر	۳۵	۳۰
کلبسیلا	$2/44 \pm$ میلی متر	$1/6 \pm$ میلی متر	۳۵	۳۰
انتروباکتر	$3/61 \pm$ میلی متر	$2/33 \pm$ میلی متر	۳۵	۳۰

استفاده از نسخه هجدهم نرم افزار SPSS و آزمون تحلیل واریانس داده ها (ANOVA) انجام گرفت. مرز معنی داری در  $p < 0/05$  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 آزمون های انتشار دیسک در جدول ۱ مشخص شده است. نتایج نشان داد که عصاره متانولی گیاه پنیرک بر اشریشیا کلی مؤثر می باشد، اما در مورد کلبسیلا فاقد اثر و بر روی انتروباکتر اثر بسیار جزئی 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 باکتری های 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 گروه های باکتری وجود ندارد. در مورد عصاره متانولی گیاه حنا، تنها بین کلبسیلا و انتروباکتر اختلاف معنی داری وجود داشت. نتایج به دست آمده از آزمون های رقت لوله ای (جدول ۲) نشان دادند که عصاره های متانولی گیاهان مورد مطالعه در محیط مایع نیز روی باکتری ها مؤثر می باشد. بیشترین مقدار MIC عصاره های متانولی گیاهان پنیرک و حنا در باکتری اشریشیا کلی مربوط به غلظت  $0/5$  میلی گرم در میلی لیتر بود. همچنین با استفاده از سیستم اتواکسیداسیون

دمای  $37$  درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری شد و پس از  $24$  ساعت قطر هاله های عدم رشد ایجاد شده در اطراف دیسک ها با کولیس اندازه گیری گردیدند. همچنین از روش رقت لوله ای برای تعیین حداقل غلظت بازدارنده رشد باکتری (MIC) استفاده گردید.

ج) ظرفیت جمع آوری رادیکال های سوپر اکسید: در ابتدا  $9$  میلی لیتر از محلول بافر تریس - HCl دارای  $pH 8/2$  ( $50$  میلی مول در لیتر) به درون لوله آزمایش اضافه و در حمام آب گرم با دمای  $25$  درجه سانتی گراد به مدت  $20$  دقیقه انکوبه گردید. سپس  $40$  میکرولیتر از محلول پیروگالول ( $45$  میلی مول در لیتر از پیروگالول در  $10$  میلی مول در لیتر از HCl) که از قبل در دمای  $25$  درجه سانتی گراد انکوبه شده بود توسط یک سرنگ همیلتون به لوله آزمایش اضافه و مخلوط گردید. مخلوط حاصل در دمای  $25$  درجه سانتی گراد به مدت  $3$  دقیقه انکوبه شد. سپس جهت اتمام سریع واکنش یک قطره اسکوربیک اسید به مخلوط اضافه گردید. پس از  $5$  دقیقه جذب در طول موج  $420$  نانومتر به عنوان  $A_0$  اندازه گیری گردید. در این مطالعه  $A_0$  نشان دهنده سرعت اکسیداسیون پیروگالول می باشد. سرعت اتواکسیداسیون ( $A_1$ ) توسط روش یاد شده اندازه گیری 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 جمع آوری رادیکال های سوپراکسید بر اساس فرمول زیر پس از سه بار تکرار محاسبه گردید:

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

(د) آنالیز آماری داده ها: تجزیه و تحلیل آماری داده ها با

جدول ۲: حداقل غلظت مهارکنندگی MIC عصاره های متانولی گیاهان مختلف.

غلظت های مورد بررسی (میلی گرم/میلی لیتر)								
عصاره	میکروارگانیزم	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

مثبت و گرم منفی بررسی نمودند. مطالعات آن ها نشان داد که این گیاهان دارای خواص آنتی باکتریال به ویژه در برابر باکتری اشیریشیا کلی می باشند (۹). این یافته ها 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 اشیریشیا کلی مشاهده گردید. بررسی های پیربلوطی (Pirbaluti) و همکارانش نشان داد که گیاه پنیرک به همان اندازه که دارای فعالیت های ضد باکتریایی و ضدالتهابی است، برای درمان مشکلات پوستی نیز مفید می باشد (۱۰). ایزلام (Islam) و همکاران در سال ۲۰۱۰ فعالیت های ضدباکتریایی عصاره های هگزانی، کلروفرمی و اتانولی سه گونه دیگر از گیاه پنیرک را مورد بررسی قرار دادند. یافته های آن ها نشان داد که میزان فعالیت عصاره اتانولی بیشتر از آبی بوده است. از طرفی عصاره های هگزانی در برابر باکتری های گرم مثبت و منفی، اثر بهتری نسبت به عصاره های کلروفرمی داشتند (۱۱). رضوی و همکاران در سال ۲۰۱۱ فعالیت زیستی گیاه پنیرک را ارزیابی کردند. محققین یاد شده نشان دادند که عصاره متانولی برگ ها و گل های این گیاه دارای خواص ضدباکتریایی قوی می باشد (۱۲). مطالعات گیاه شناسی نشان داده است که برگ های حنا حاوی ماده ای رنگی به نام لائوسون یا هیدروکسی نفتوکینون

پیروگالول، تغییرات منظمی در میزان جمع آوری رادیکال های سوپر اکسید توسط غلظت های مختلف عصاره های متانولی گیاهان پنیرک و حنا مشاهده نگردید (جدول ۳).

## بحث

به طور کلی گیاهان طیف وسیعی از فعالیت های زیستی مانند فعالیت های ضد میکروبی، آنتی اکسیدانی و فعالیت های دیگر را از خود نشان می دهند. مواد شیمیایی استخراج شده از گیاهان به عنوان ترکیبات ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی به دلیل عوارض جانبی کمتر می توانند 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 بیماری های عفونی ایفا می کنند در این مطالعه خواص آنتی اکسیدانی و ضدباکتریایی عصاره متانولی دو گیاه پنیرک و حنا را مورد ارزیابی قرار گرفت. گیاه پنیرک به دلیل داشتن ترکیبات خاصی مانند موسیلاژها، تانن ها و اسانس های فرار دارای خواص ضد التهابی و مسهل ملایم می باشد. والتر (Walter) و همکاران در سال ۲۰۱۱ فعالیت های ضدباکتریایی چندین گیاه از جمله پنیرک را بر باکتری های گرم

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 لوتولین و مشتق گلوکوزیدی آن، چربی، رزین، تانن و سایر مواد مانند اسید گالیک، نفتوکینون، لاکسانتون، آکاستین گلیکوزیدی و مقدار کمی آلکالوئید می باشند (۱۳). آرون (Arun) و همکاران در سال ۲۰۱۰ خواص ضدباکتریایی و محتوای فنولی عصاره متانولی حنا را بررسی کردند. مطالعه آن ها نشان داد که این فعالیت ها به دلیل حضور ترکیباتی مانند آلکالوئیدها، فلاونوئیدها، تانن ها و کوئینون ها در گیاه حنا می باشد. همچنین عصاره متانولی حنا بیشترین فعالیت را به ترتیب در برابر باکتری های استافیلوکوکوس اورئوس، اشیریشیا 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 معنی داری وجود دارد. هابال (Habbal) و همکاران در سال ۲۰۱۱ فعالیت ضد باکتریایی گیاه حنا را در برابر گونه های سودوموناس نشان دادند (۱۵). سعدابی (Saadabi) در سال ۲۰۰۷ به بررسی فعالیت های ضد میکروبی عصاره های آبی، متانولی و کلروفومی حنا پرداختند. یافته های آنها نشان داد که عصاره آبی گیاه حنا دارای خواص قوی تری نسبت به سایر عصاره های مورد بررسی بوده است. نتایج آنالیز فیتوشیمیایی نیز نشان داد که حضور آنتراکینون عامل اصلی فعالیت ضد میکروبی در برگ های گیاه حنا می باشد (۱۶). فردوس (Ferdous) و همکاران در سال ۱۹۹۰ خصوصیات ضد میکروبی گیاه حنا (گونه *Lawsonia alba*) را مورد بررسی قرار دادند و دریافتند که هر سه نوع عصاره آبی، اتانولی و کلروفومی خصوصیات ضد میکروبی مناسبی را نشان می دهند (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 میلی گرم در میلی لیتر عصاره های متانولی (در اشیریشیا کلی) می باشد. مطالعات گسترده ای نشان داده است که خاصیت آنتی اکسیدانی گیاهان پنیرک و حنا وابسته به حضور ترکیبات شیمیایی ویژه ای مانند فلاونوئیدها و نیز آنتوسیانین های موجود در گیاه می باشد. این ترکیبات به عنوان جمع آوری کننده های رادیکال های آزاد و نیز مهار کننده پراکسیداسیون لیپیدی شناخته شده اند (۱۸). از طرفی روش عصاره گیری و نوع حلال مورد استفاده نیز می تواند در فعالیت ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی یک گیاه مؤثر باشد. آفولایان (Afolayan) و همکاران در سال ۲۰۰۸ محتویات فنلی و فعالیت جمع آوری رادیکال ها را در گونه *Malva parviflora* بررسی کردند. نتایج آن ها نشان داد که عصاره متانولی در مهار ABTS (۲ و ۲ آزینو ۳ اتیل بنزوتیازولین ۶ سولفونیک اسید) نسبت به رادیکال های DPPH (۲ و ۲ دی فنیل ۱ پیکریل هیدرازیل) به میزان قابل توجهی مؤثرتر است. آنها همچنین بیان کردند که استفاده نسبی از این گیاه به عنوان یک داروی بهبود زخم می تواند تا حدی به دلیل فعالیت فلاونوئیدهای موجود در عصاره باشد. یافته های محققین یاد شده نشان داد که فلاونوئیدها علاوه بر فعالیت ضد التهابی و ضد باکتریایی می توانند مسئول فعالیت های آنتی اکسیدانی قوی مشاهده شده در فعالیت مهار رادیکال های ABTS نیز باشند (۱۹). شلبایا (Shelbaya) و باروس (Barros) در مطالعه ای جداگانه بر روی عصاره های هیدروالکلی، اترنفتی و برگ های پنیرک، فعالیت آنتی اکسیدانی این گیاه را اثبات کردند (۱۵ و ۱۶). خداپرست (Khodaparast) و همکاران در سال ۲۰۰۷ با بررسی ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره های آبی و متانولی برگ های حنا نشان دادند که عصاره آبی دارای فعالیت مؤثرتری می باشد. آن ها 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 عصاره های اتانولی و آبی دریافتند که عصاره های اتانولی فعالیت آنتی اکسیدانی قوی تری نسبت به عصاره های آبی دارند (۲۱).

برای سنجش ظرفیت جمع آوری رادیکال های سوپراکسید دو روش عمده سیستم اتواکسیداسیون پیروگالول و سیستم

است (۲۲-۲۴). بنابراین پیشنهاد می شود تنها زمانی از روش اکسیداسیون پیروگالول استفاده گردد که عصاره به اجزای تشکیل دهنده خود تفکیک شده و یا ترکیبات تشکیل دهنده عصاره خام پیچیدگی زیادی نداشته باشند.

### نتیجه گیری

با وجود اثر مناسب ضد میکروبی عصاره های تام گیاهان مورد پژوهش، اما اثر آنتی اکسیدانی قابل تشخیص نبود. از این رو ضرورت سنجش روش های دیگر برای بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی 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 دل آذر ریاست محترم آزمایشگاه فارماکوتوزی این مرکز و سرکار خانم واحدی، کارشناس محترم آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد بناب به دلیل همکاری صمیمانه کمال امتنان را دارند.

ریبوفلاوین وجود دارد. هر دو این روش ها بر اساس اندازه گیری فعالیت سوپراکسید دیسموتاز هستند، اما مکانیسم های متفاوتی برای تولید رادیکال های سوپراکسید دارند و این تفاوت می تواند دلیلی بر تفاوت نتایج حاصل از هر کدام باشد. در تحقیق حاضر ظرفیت جمع آوری رادیکال های سوپر اکسید توسط عصاره های متانولی گیاهان مورد مطالعه با استفاده از سیستم اتواکسیداسیون پیروگالول بررسی گردید. یافته ها نشان داد که عصاره های متانولی هیچ یک از گیاهان مورد بررسی تغییرات منظمی را نشان نمی دهند 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 بررسی ها نشان داده است که در سیستم ریبوفلاوین، رادیکال های سوپراکسید تولید شده و توسط ترکیبات سیستم واکنش تحت تاثیر قرار نمی گیرند. حتی اگر هر دو این روش ها در مورد گیاهی به کار گرفته شود، مشاهده می شود که درصد مهار توسط سیستم ریبوفلاوین نسبت به پیروگالول بیشتر

### 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 activity in 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 spectrophotometric method on the radical scavenging effect of tea polyphenol and its oxidant. Fine Chemicals. 2000; 17: 241-244.
  24. Zhang WJ, Ge C. Comparison of pyrogallol autoxidation and NBT photoreduction assay in detecting activity of SOD. Journal of Hebei Vocation-Technical Teachers College. 2000; 14: 68-70.



## Evaluation of Antioxidant and Antimicrobial Activities of Methanolic Extract from *Malva silvestans* and *Lawsonia inermis* on intestinal bacteria

Zahra Hojjati Bonab<sup>1</sup>, Elhameh Nik khah<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Microbiology, Bonab Branch, Islamic Azad University, Bonab, Iran.

<sup>2</sup>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 probably 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