

بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی، آنتی باکتریایی و تعیین محتوی فنلی و فلاونوئیدی کل عصاره های آبی و متانولی گیاه دارویی *Scutellaria peginensis*

مصطفی گواهی^{۱*}، فاطمه قربانی^۲، مجتبی رنجبر^۳، سمیه رهایی^۴، حسین عزیزی^۱

(۱) گروه نانو زیست فناوری، دانشکده زیست فناوری، دانشگاه تخصصی فناوری های نوین آمل، آمل، ایران
(۲) گروه گیاهان دارویی، دانشکده گیاهان دارویی، دانشگاه تخصصی فناوری های نوین آمل، آمل، ایران
(۳) گروه زیست فناوری میکروبی، دانشکده زیست فناوری، دانشگاه تخصصی فناوری های نوین آمل، آمل، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۲/۱۱

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۳/۲۸

چکیده

مقدمه: گیاه *Scutellaria peginensis* یکی از گونه های دارویی با ارزش از خانواده Lamiaceae می باشد. هدف از این آزمایش بررسی اثرات آنتی اکسیدانی و آنتی باکتریایی گیاه *Scutellaria peginensis* بود.

مواد و روش ها: در این مطالعه پس از تهیه عصاره های آبی و متانولی، اثر آنتی اکسیدانی عصاره از دو روش DPPH(2,2-diphenyl-1- picrylhydrazyl) و FRAP(ferric reducing antioxidant power) سنجیده شد. جهت بررسی اثر آنتی باکتریایی علیه ۳ نوع باکتری از روش دیسک دیفیوژن استفاده شد. در این مطالعه هم چنین محتوی فنلی و فلاونوئید کل بررسی شد.

یافته های پژوهش: نتایج نشان داد بیشترین میزان فنل و فلاونوئید کل توسط عصاره متانولی و با روش عصاره گیری شیکر به دست آمد. بیشترین میزان مهار رادیکال آزاد و قدرت احیاکنندگی آهن مربوط به عصاره آبی و روش عصاره گیری شیکر بود. بیشترین میزان قطر هاله عدم رشد برای باسیلوس سرئوس و اشیریشیاکلی در غلظت ۶۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر به ترتیب با اندازه های $15/67 \pm 0/58$ و $25/33 \pm 3/51$ و برای باکتری استافیلوکوکوس اورئوس مربوط به غلظت ۹۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر به اندازه 26 ± 2 بود.

بحث و نتیجه گیری: نتایج نشان داد که نوع حلال و روش عصاره گیری تاثیر زیادی بر میزان ترکیبات آنتی اکسیدانی و اثرات آنتی باکتریایی دارد. با توجه به مطالعات اندکی که در مورد این گیاه انجام شده است، نتایج این مطالعه می تواند گزارش مناسبی برای انجام پژوهش های بیشتر باشد.

واژه های کلیدی: آنتی اکسیدان، آنتی باکتریایی، DPPH، معرف فولین

* نویسنده مسئول: گروه نانو زیست فناوری، دانشکده زیست فناوری، دانشگاه تخصصی فناوری های نوین آمل، آمل، ایران

Email: m.govahi@ausmt.ac.ir

Copyright © 2019 Journal of Ilam University of Medical Science. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution international 4.0 International License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits copy and redistribute the material, in any medium or format, provided the original work is properly cited.

مقدمه

تاریخ نشان می دهد که گیاهان همواره به عنوان یکی از مهم ترین منابع غذایی و دارویی در زندگی بشر به شمار می آمده اند. در صد سال گذشته گیاه درمانی به عنوان شاخه ای از طب سنتی نقش تعیین کننده در درمان بیماری ها ایفا کرده است. در سال های اخیر با توجه به استقبال مردم دنیا به مصرف داروهای گیاهی به دلیل عوارض جانبی کمتر آن نسبت به داروهای شیمیایی، به نظر می رسد تعادل مصرف به نفع داروهای گیاهی در حال رقم خوردن است (۱). داروهای گیاهی امروزه در دنیا به طور وسیعی برای درمان انواع بیماری ها اعم از عفونت های باکتریایی، ویروسی و قارچی تا انواع بیماری های متابولیک و حتی سرطان به کار می رود، منشاء طبیعی دارند (۲). با توجه به آثار جانبی و معایب استفاده از ترکیبات نگهدارنده شیمیایی، گیاهان دارویی و ترکیبات طبیعی را می توان به جای آن ها جهت حفظ و نگهداری مواد غذایی مختلف استفاده کرد. با این وجود و با توجه به این که استفاده از گیاهان به خصوص گیاهان دارویی در دنیای امروز رواج پیدا کرده و تاثیر آن ها در بسیاری از موارد به اثبات رسیده است، هنوز هم در برخی موارد گرایشات به سمت داروها و ترکیبات شیمیایی است و جایگزینی که بتواند از آن ها قوی تر عمل کند، به صورت علنی معرفی نشده است. قابل به ذکر است که هم اکنون گیاهانی وجود دارند که مطالعه ای در رابطه با آن ها صورت نگرفته یا بررسی اندکی روی آن ها انجام شده است. به همین جهت مطالعات پژوهشگران در رابطه با این گونه گیاهان و متابولیت ها و بررسی خواص کاربردی آن ها هم چنان ادامه دارد.

نیاز بدن انسان به آنتی اکسیدان ها مسئله بسیار مهمی است زیرا آنتی اکسیدان ها ترکیباتی هستند که مانع فعالیت رادیکال های آزاد شده و یا سبب حذف آن ها می شوند و از سلول های بدن در برابر اثرات مخرب این ترکیبات حفاظت می کند. در حقیقت آنتی اکسیدان ها ترکیباتی هستند که برای پیش گیری و یا کند نمودن آسیب های ناشی از واکنش های اکسیداسیون در بدن به کار می روند و به

عنوان خنثی کننده رادیکال های آزاد عمل نموده و از این رو باعث پیش گیری از آسیب ناشی از این ترکیبات در بدن می شوند (۳). مسئله دیگر که در درمان های آنتی بیوتیکی مهم است، افزایش مقاومت عفونت های باکتریایی به آنتی بیوتیک ها می باشد. هم چنین بروز عوارض جانبی از کاربرد داروهای شیمیایی به عنوان آنتی بیوتیک در درمان بیماری های عفونی، روند صعودی پیدا کرده است. ترکیبات ضد میکروبی به دست آمده از گیاهان با مکانیسم هایی متفاوت از آنتی بیوتیک ها، باکتری ها را حذف می کنند که این مسئله در درمان عفونت های ناشی از سویه های مقاوم میکروبی از نظر بالینی حائز اهمیت است (۴). با افزایش روزافزون مقاومت باکتری ها به آنتی بیوتیک ها، تلاش در پی جایگزین کردن درمان های جدید در سراسر جهان در حال انجام است (۵). در این مورد از جمله موارد امید بخش، استفاده از گیاهان دارویی می باشد که با بدن انسان سازگاری بالایی دارند (۶).

گیاه بشـقاقی با نام علمی *Scutellaria Pekinensis* از سرشناس ترین اعضای تیره *Lamiaceae* از نمونه گیاهانی است که پژوهش های اندکی در مورد آن صورت گرفت. یک گیاه گلدار چند ساله که ارتفاع ساقه های آن به ۵۰ سانتی متر می رسد. دارای ساقه چهار زاویه ای و برگ های متقابل و گل ها دارای لب های بالا و پایین هستند. این گیاه را می توان در مناطقی با آب و هوایی معتدل یافت. برخی از آن ها بوته ای و چوبی هستند که در خشکی رشد می کنند در حالی که برخی از آن ها ذاتاً آبی هستند. استفاده متداول از *Skullcap* (جنس *Scutellaria*) برای درمان فیشرآنال در درمان کلاسیک چینی به طور گسترده شناخته شده است. هم چنین در درمان هپاتیت، اسهال، التهاب، سرطان و به عنوان مسکن و آرام بخش مورد استفاده قرار می گیرد. به علت کم بودن تحقیقات بر روی این گیاه، مطالعه حاضر به بررسی فعالیت های آنتی اکسیدانی، ضد میکروبی و محتوای فنلی و فلاونوئیدی دو عصاره مختلف متانولی و آبی این گیاه می پردازد.

مواد و روش ها

تهیه نمونه گیاهی: قسمت های هوایی گیاه *Scutellaria Pekinensis* در مرحله گلدهی در اوایل تابستان ۱۳۹۷ از شرق مازندران و از ارتفاعات بهشهر جمع آوری شد. پس از تمیز کردن و جداسازی آلودگی از نمونه گیاهی، در دمای اتاق و به دور از نور مستقیم آفتاب خشک شد. به منظور به کار گیری مفیدتر در مراحل بعدی آزمایشات با استفاده از دستگاه آسیاب برقی، آسیاب و پودر شد.

تهیه عصاره: از این نمونه گیاهی هم عصاره آبی و هم عصاره متانولی تهیه گردید. برای تهیه عصاره های آبی و الکلی از روش مرادی و همکاران (۲۰۱۵) با اندکی تغییرات استفاده شده است (۷): ۱-روش مگنت: ابتدا ۱۰ گرم از نمونه گیاهی پودر شده را وزن کرده و در یک ارلن ریخته و به آن ۱۰۰ میلی لیتر حلال (آب مقطر یا متانول ۸۰ درصد) اضافه گردید. مگنت را در ارلن قرار داده و به مدت ۱ ساعت بر روی هیتز در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد گذاشته شد. ۲-روش بنماری-شیکر: ابتدا ارلن حاوی ۱۰ گرم نمونه گیاهی و ۱۰۰ میلی لیتر حلال (آب یا متانول ۸۰ درصد) به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۷۰ درجه سانتی گراد بنماری قرار گرفت. سپس به مدت ۳ ساعت بر روی شیکر قرار داده شد. ۳-روش شیکر: در این روش ابتدا ۱۰ گرم نمونه گیاهی با ۱۰۰ میلی لیتر حلال مخلوط شده سپس به مدت ۲۴ ساعت بر روی شیکر قرار گرفت.

در انتهای هر سه روش، عصاره های به دست آمده توسط کاغذ واتمن صاف شده و کنجاله گیاهی از عصاره جدا گردید. به منظور جداسازی حلال (آب و متانول) و تهیه عصاره خشک ابتدا از دستگاه روتاری و سپس از آون ۴۰ درجه استفاده شد. به دلیل حساسیت بالای عصاره ها، تا زمان آنالیز در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شدند.

تعیین فنل کل: محتوای فنل کل در عصاره های مختلف اندام هوایی گیاه بشقابی بر اساس روش فولین سیوکالتیو انجام شد (۸). مطابق با این روش ۳۰۰ میکرولیتر عصاره گیاهی با غلظت یک میلی گرم بر میلی لیتر با ۱۵۰۰ میکرولیتر معرف فولین ۱ مولار مخلوط شد. در ادامه ۱/۸۹ سی سی آب دیونیزه به این

مخلوط اضافه شد و پس از ورتکس ترکیب حاصل به مدت ۳ دقیقه در یک مکان ثابت قرار داده شد. سپس ۱۲۰۰ میکرولیتر کربنات سدیم (۲۰ درصد) و ۱/۷ سی سی آب دیونیزه به ترکیب بالا اضافه کرده تا حجم نهایی به چهار هزار میکرولیتر برسد. پس از ورتکس مجدد ترکیب به مدت ۹۰ دقیقه در تاریکی قرار گرفت. جذب نمونه در طول موج ۷۶۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروسکوپی خوانده شد. منحنی استاندارد توسط محلول های ۲۵، ۷۵، ۱۰۰، ۱۷۵ و ۳۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر گالیک اسید تهیه شد. میزان فنل کل بر اساس میلی گرم گالیک اسید بر گرم وزن عصاره مشخص می شود که این ترکیب یک ترکیب مرجع جهت تعیین محتوای فنل می باشد (۸).

تعیین فلاونوئید کل: محتوای فلاونوئید بر اساس روش رنگ سنجی آلومینیوم کلراید انجام شد (۹). طبق این روش ۱۵۰۰ میکرولیتر عصاره با غلظت ۱ میلی گرم بر میلی لیتر با ۱۵۰۰ میکرولیتر کلراید آلومینیوم (۱۰ درصد) ترکیب و به مدت ۴۰ دقیقه در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد نگه داشته شد. سپس جذب آن در طول موج ۴۱۵ نانومتر اندازه گیری شد. جهت رسم منحنی استاندارد از پنج غلظت ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۳۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر کوئرستین استفاده می شود و میزان فلاونوئیدها به صورت میلی گرم کوئرستین در گرم عصاره گیاهی مشخص می شود.

تعیین فعالیت آنتی اکسیدانی

روش ارزیابی میزان مهار رادیکال آزاد *2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)* در این روش یک سی سی از غلظت های مختلف عصاره (۷۰، ۱۵۰ و ۳۰۰ میکروگرم در میلی لیتر) با یک سی سی DPPH (۳۰۰ میکرومولار) ترکیب و در ادامه حجم نهایی ترکیب با متانول به چهار هزار میکرولیتر رسید. سپس فالكون ها ورتکس و به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی نگه داشته شد. جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت شد. درصد مهار رادیکال DPPH با استفاده از معادله:

$$I (\%) = (A_0 - A_s) / A_0 \times 100$$

محاسبه گردید که در اینجا A_0 جذب کنترل(حاوی همه اجزا واکنشگر بدون نمونه) و A_s جذب نمونه می باشد(۱۰).

بررسی قدرت/حیاکنندگی/آهن(FRAP): جهت تعیین عملکرد آنتی اکسیدانی به روش توانایی احیاکنندگی آهن(FRAP) از یک واکنش اکسیداسیون احیا استفاده می شود که با تغییر رنگ همراه است(۱۱). در این روش ابتدا یک سی سی از عصاره با غلظت های ۱۵۰، ۳۰۰ و ۵۰۰ میکروگرم در میلی لیتر با یک سی سی بافر فسفات ۰/۲ مولار با $pH=6/6$ و یک سی سی پتاسیم فری سیانات ۱ درصد ترکیب شده و به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد قرار گرفت. در ادامه یک سی سی تری کلرواستیک اسید ۱۰ درصد به ترکیب بالا افزوده و به مدت ۱۰ دقیقه در سه هزار دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس در یک لوله آزمایش جدید یک سی سی از مایع رویی با یک سی سی آب مقطر و ۴۰۰ میکرولیتر از کلرید آهن ۰/۱ درصد ترکیب شده و جذب آن در طول موج ۷۰۰ نانومتر قرائت شد.

بررسی فعالیت آنتی باکتریایی: در این مطالعه باکتری های استافیلوکوکوس اورئوس(گرم مثبت) (ATCC 65138)، باسیلوس سرئوس(گرم مثبت) (ATCC 11778)، اشیریشیاکلی(گرم منفی) (PTCC 1399) مورد استفاده قرار گرفته است. جهت سنجش خاصیت آنتی باکتریال عصاره گیاه بشقابی از روش دیسک دیفیوژن استفاده شد. به منظور استفاده از این روش ابتدا باکتری ها در محیط کشت نوترینت آگار جهت تشکیل کلونی کشت داده شد. پس از ۲۴ ساعت با استفاده از لوب استریل یک کلونی از هر باکتری برداشته و در ارلن حاوی محیط کشت نوترینت برات(مایع) کشت داده شد. پس از گذشت ۱۸ تا ۲۴ ساعت با استفاده لوب استریل باکتری ها به صورت چمنی بر روی محیط کشت مولر هینتون کشت داده شدند. برای بررسی فعالیت آنتی باکتریال، از عصاره متانولی به دست آمده از طریق روش شیکر استوک ۱ گرم عصاره خشک در ۱ میلی لیتر حلال تهیه شد. غلظت های ۳۰۰، ۶۰۰ و ۹۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر از هر عصاره تهیه و ۵۰ میکرولیتر از هر غلظت بر روی

دیسک های بلانک تزریق شد. پس از گذشت ۲۴ ساعت از کشت باکتری ها در محیط کشت مولر هینتون دیسک های تهیه شده با فواصل مناسب بر روی این محیط کشت قرار داده شد. سپس درب پلیت ها را بسته و به مدت ۱۸ تا ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه گردید. در این مطالعه از آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین به عنوان نمونه کنترل استفاده شد(۱۲).

تجزیه و تحلیل آماری: نتایج حاصل از بررسی به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار (Mean $\pm$ SD) بیان گردید و نمونه ها در سه تکرار بررسی شدند. این محاسبات با استفاده از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۱۶ و مقایسه میانگین ها با آزمون دانکن در سطح $P<0.05$ انجام گرفت.

یافته های پژوهش

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر انواع حلال و روش های مختلف عصاره گیری برای فنل کل، فلاونوئید، DPPH و FRAP معنی دار ($P<0.01$) بودند.

نتایج مقایسه میانگین

فنل کل: مقایسه میانگین تیمارها نشان داد که بیشترین میزان فنل کل در حلال متانولی با میزان $27/98 \pm 2/48$ نسبت به حلال آبی با میزان $26/47 \pm 0/49$ مشاهده شد. هم چنین در بین روش های مختلف عصاره گیری، بالاترین میزان فنل کل مربوط به روش شیکر با میزان $28/81 \pm 2/13$ و کمترین میزان فنل کل مربوط به روش عصاره گیری با بنماری به میزان $25/86 \pm 0/90$ بود. در بررسی مقایسه میانگین اثرات متقابل حلال و روش عصاره گیری، تیمار حلال الکلی با روش عصاره گیری شیکر با مقدار $30/74 \pm 0/35$ نسبت به سایر تیمارها بالاترین مقدار را دارا بوده است.

فلاونوئید کل: با استفاده از مقایسه میانگین مشخص شد که بیشترین میزان فلاونوئید کل مربوط به حلال متانولی با میزان $72/45 \pm 6/48$ نسبت به حلال آبی با میزان $36/034 \pm 2/99$ است. هم چنین بالاترین مقدار فلاونوئید کل مربوط به روش روش شیکر به مقدار $52/72 \pm 23/39$ و کمترین مقدار مربوط

به روش مگنت با مقدار $50/33 \pm 20/02$ بود. در بررسی مقایسه میانگین اثرات متقابل حلال و روش های عصاره گیری، تیمار حلال الکلی با روش عصاره گیری شیکر به میزان $81/076 \pm 0/048$ نسبت به سایر تیمارها بالاترین مقدار را دارا بوده است.

میزان مهار رادیکال /آزاد (DPPH): طبق نتایج حاصل از مقایسه میانگین تیمارها بیشترین میزان مهار رادیکال های آزاد مربوط به حلال آبی با میزان $80/45 \pm 3/72$ نسبت به حلال الکلی با میزان $80/06 \pm 1/58$ می باشد. بیشترین میزان مهارکنندگی در بین روش های عصاره گیری مربوط به روش شیکر با میزان $81/35 \pm 3/54$ و کمترین میزان مربوط به روش بنماری به مقدار $78/87 \pm 3/13$ بود. در بررسی مقایسه میانگین اثرات متقابل حلال و روش های عصاره گیری، بالاترین میزان مهارکنندگی مربوط به

تیمار حلال آبی با روش شیکر به میزان $84/58 \pm 0/02$ نسبت به سایر تیمارها است.

قدرت /حیاکنندگی آهن (FRAP): با بررسی نتایج حاصل از مقایسه میانگین تیمارها بیشترین میزان قدرت احیاکنندگی در حلال آبی با میزان $0/412 \pm 0/07$ نسبت به حلال الکلی با میزان $0/296 \pm 0/02$ مشاهده شد. هم چنین در بین روش های عصاره گیری، بالاترین میزان قدرت احیاکنندگی مربوط به روش شیکر با میزان $0/411 \pm 0/11$ و کمترین میزان احیا کنندگی مربوط به روش مگنت با میزان $0/317 \pm 0/02$ بود. در بررسی مقایسه میانگین اثرات متقابل حلال و روش های عصاره گیری، تیمار حلال آبی به روش شیکر با میزان $0/505 \pm 0/001$ بالاترین میزان قدرت احیاکنندگی آهن را نسبت به سایر روش ها داراست (جدول شماره ۱).

جدول شماره ۱. مقایسه میانگین تیمارها

تیمار	محتوی فنل کل (میلی گرم گالیک اسید/ گرم عصاره خشک)	محتوی فلاونوئید کل (میلی گرم کوئرستین/ گرم عصاره خشک)	محتوی DPPH (میلی گرم بر میلی لیتر)	محتوی FRAP (میلی مول Fe^{2+} / گرم گیاه خشک)
حلال	**	**	**	**
آبی	$26/47 \pm 0/49^b$	$36/034 \pm 2/99^b$	$80/45 \pm 3/72^a$	$0/412 \pm 0/07^a$
متانولی	$27/98 \pm 2/48^a$	$72/45 \pm 6/48^a$	$80/06 \pm 1/58^b$	$0/296 \pm 0/02^b$
روش های عصاره گیری	**	**	**	**
مگنت	$27/01 \pm 1/27^b$	$50/33 \pm 20/04^c$	$80/54 \pm 0/24^b$	$0/317 \pm 0/02^c$
بنماری	$25/86 \pm 0/90^c$	$52/68 \pm 20/02^b$	$78/87 \pm 3/13^c$	$0/333 \pm 0/07^b$
شیکر	$28/81 \pm 2/13^a$	$59/72 \pm 23/39^a$	$81/35 \pm 3/54^a$	$0/505 \pm 0/001^a$
روش های عصاره گیری × حلال	**	**	**	**
مگنت × آبی	$25/86 \pm 0/30^c$	$37/670 \pm 0/055^e$	$80/76 \pm 0/00^c$	$0/339 \pm 0/001^c$
بنماری × آبی	$26/68 \pm 0/40^c$	$32/062 \pm 0/028^f$	$76/01 \pm 0/08^f$	$0/393 \pm 0/001^b$
شیکر × آبی	$26/87 \pm 0/08^c$	$38/369 \pm 0/000^d$	$84/58 \pm 0/02^a$	$0/505 \pm 0/001^a$
مگنت × الکلی	$28/15 \pm 0/11^b$	$67/683 \pm 0/048^c$	$80/32 \pm 0/00^d$	$0/295 \pm 0/000^e$
بنماری × الکلی	$25/04 \pm 0/06^c$	$68/804 \pm 0/055^b$	$81/84 \pm 0/08^b$	$0/274 \pm 0/000^f$
شیکر × الکلی	$30/74 \pm 0/35^a$	$81/076 \pm 0/048^a$	$78/12 \pm 0/00^e$	$0/318 \pm 0/001^d$

** معنی داری در سطح یک درصد

میانگین های دارای حروف یکسان در هر ستون بیانگر عدم تفاوت معنی دار بین تیمارها در سطح ۵ درصد می باشد.

آنتی باکتریال: در این بخش بررسی قطر هاله های عدم رشد نشان داد که عصاره متانولی گیاه بشقابی در غلظت ۶۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر باعث مهار رشد باکتری های باسیلوس سرئوس با قطر هاله $15/67 \pm 0/58$ میلی متر و اشیریشیاکلی با قطر هاله $25/33 \pm 3/51$ میلی متر و در غلظت ۹۰۰ میلی گرم بر

میلی لیتر باعث مهار رشد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس با قطر هاله 26 ± 2 میلی متر شده است. قطر هاله مهار رشد باکتری به طور میانگین برای تمام باکتری ها برای کنترل (سیپروفلوکساسین) $34/5$ میلی متر می باشد (جدول شماره ۲).

جدول شماره ۲. قطر هاله عدم رشد بر حسب میلی متر عصاره متانولی گیاه بشقابی به روش شیکر

غلظت (mg/ml)	باکتری ها	عصاره متانولی	کنترل
۳۰۰	باسیلوس سرئوس	۱۱±۱	
۶۰۰	(ATCC 11778)	۰/۵۸±۱۵/۶۷	۳۴/۵
۹۰۰		۱/۱۶±۱۴/۳۳	
۳۰۰	اشریشیاکلی	۲۰±۱	
۶۰۰	(PTCC 1399)	۳/۵۱±۲۵/۳۳	۳۴/۵
۹۰۰		۰/۵۸±۱۹/۶۷	
۳۰۰	استافیلوکوکوس اورئوس	۲/۵۲±۲۰/۳۳	
۶۰۰	(ATCC 65138)	۰/۵۸±۲۰/۳۳	۳۴/۵
۹۰۰		۲±۲۶	

بحث و نتیجه گیری

گیاهان دارای ترکیبات متعددی هستند که هر کدام دارای ساختاری متفاوت می باشند. استخراج این ترکیبات به یکسری عوامل بستگی دارد که از مهم ترین آن ها می توان به نوع حلال و روش استخراج اشاره کرد. انتخاب حلال برای هر دسته از ترکیبات گیاهی بسیار مشکل خواهد بود؛ زیرا همراه با این ترکیبات، مواد دیگری نیز وجود دارد که بر درجه حلالیت این مواد تاثیرگذار است (۱۳).

ابراهیم زاده و خلیلی (۲۰۱۵) فعالیت آنتی اکسیدانی گیاهان را به حضور ترکیبات فنلی در آن ها نسبت دادند. ترکیبات فنلی شامل فنل های ساده (با یک حلقه آروماتیک دارای دست کم یک گروه هیدروکسی) با دو بخش فنلی هستند که فلاونوئیدها را تشکیل می دهند (۱۴). فلاح و همکاران (۲۰۱۲) در یک گزارش بیان کردند ترکیبات فنلی تقریباً در تمام بخش های گیاه وجود دارند و در اکثر فرآیندهای فیزیولوژیک مانند رشد سلولی، جوانه زنی دانه و رسیدن میوه نقش دارند (۱۵). از مهم ترین مشخصه های این گروه می توان به خاصیت آنتی اکسیدانی آن ها اشاره کرد که به آن ها امکان از دست دادن هیدروژن و به دام انداختن رادیکال آزاد را می دهد (۱۶).

فلاونوئیدها نیز گروه بزرگی از ترکیبات فنلی با بیش از ۳۰۰۰ ساختار و یکی از مهم ترین ترکیبات ثانویه گیاهان هستند که بیشتر در گیاهان دارویی با مقادیر مختلف یافت می شوند. حدود ۴۰۰۰ نوع ترکیب متعلق به گروه فلاونوئیدها در گیاهان وجود دارند که طی مسیر سنتز فنل پروپانوئید در گیاه سنتز می شوند و

غالباً شامل فلاون، فلاونول و آنتوسیانین ها هست (۱۷، ۱۸).

در این تحقیق، آزمایش ها وجود ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی را تایید می کند. هم چنین بیشترین میزان این ترکیبات مربوط به عصاره متانولی می باشد. مشابه با نتیجه به دست آمده صادقی و همکاران (۲۰۱۴) در گزارشی بیان کردند میزان ترکیبات فنلی فلاونوئیدی در عصاره متانولی زولنگ نسبت به عصاره های دیگر آن بیشتر است و هم چنین این عصاره از فعالیت آنتی اکسیدانی بالاتری برخوردار است (۱۹).

در این مطالعه در رابطه با بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی از روش های DPPH و FRAP استفاده شد که بیشترین قدرت مهارکنندگی رادیکال های آزاد و هم چنین بیشترین قدرت احیاکنندگی مربوط به عصاره آبی می باشد. اساس روش DPPH بر پایه بی رنگ شدن محلول DPPH است که به وسیله آنتی اکسیدان های موجود در عصاره انجام می شود این عمل از طریق مهار رادیکال های آزاد صورت می پذیرد (۱۶). مدل به دام اندازی رادیکال پایدار DPPH به طور گسترده برای ارزیابی توانایی به دام انداختن رادیکال های آزاد در نمونه های مختلف به کار می رود (۲۰). در بررسی تعیین عملکرد آنتی اکسیدانی به روش قدرت احیاکنندگی آهن (FRAP) هر چه غلظت Fe^{2+} کاهش یافته، بیشتر باشد یعنی توانایی عصاره گیاه در کاهش آهن فریک Fe^{3+} بیشتر بوده است (۱۱).

طبق گزارش کامکار و همکاران (۲۰۱۰) در بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی زیره سبز و بلغست بیشترین

قدرت مهارکنندگی مربوط به عصاره آبی بود (۲۱). در مطالعه Sultana و همکاران (۲۰۰۷) در مورد انواع عصاره های Corncob قدرت مهار رادیکال های آزاد عصاره متانولی بالاتر از سایر عصاره ها گزارش شد (۲۲).

در مجموع تناقض در نتایج به دست آمده در تحقیقات مختلف می تواند در ارتباط با تنوع ترکیبات شیمیایی موجود در گیاهان، مکانیزم مختلف واکنش آن ها و کینتیک متفاوت واکنش های مهاري آن ها در روش های انتخابی باشد. ظرفیت آنتی اکسیدانی اندازه گیری شده یک نمونه در ارتباط با روش مورد استفاده و منبع تولید رادیکال آزاد یا عامل اکسید کننده می باشد (۲۱).

نتایج مطالعه فاضلی نسب و همکاران (۲۰۱۷) نشان داد گیاهانی که دارای میزان بالای فنل و فلاونوئید بودند به نسبت خاصیت آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی بالایی داشتند ولی با توجه به این که خاصیت آنتی اکسیدانی مربوط به جز خاصی از ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی بوده است، لذا لزوماً گیاهانی که دارای میزان بالایی از مواد فنلی و فلاونوئیدی باشند خاصیت آنتی اکسیدانی بالایی ندارند (۲۳، ۲۴).

بررسی خواص آنتی باکتریایی نشان داد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس با افزایش غلظت عصاره مقاومت کمتری از خود نشان می دهد و قطر هاله عدم رشد بزرگ تر می شود. انتظار می رود همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند که عصاره متانولی گیاه خوشاریزه اثر ضدباکتریایی بر استافیلوکوکوس اورئوس داشت (۲۵). اما در باکتری های اشریشیاکلی و باسیلوس سرئوس از غلظت ۶۰۰ به بالا میزان قطر هاله عدم رشد باکتری کاهش یافت. بررسی های انجام شده در رابطه با این موضوع بیان گر آن است که احتمالاً غلظت های بالای عصاره سرعت انتشار آهسته تر و یا کمتری نسبت به غلظت های پایین تر دارند و هاله عدم رشد آن ها کوچک تر دیده می شود که این مورد احتیاج به بررسی بیشتر دارد. در مطالعه عزیزیان و همکاران (۲۰۱۸)

عصاره متانولی، بیشترین اثر باکتری کشی را در مقابل باکتری استافیلوکوکوس اورئوس داشته است. در مقابل باکتری باسیلوس سرئوس بیشترین مقاومت را در مقابل تمامی عصاره های گونه های مورد مطالعه داشته است (۱۲). در یک مطالعه در سال ۲۰۱۶ بررسی خواص آنتی باکتریایی نشان داد باکتری اشریشیاکلی در برابر عصاره گیاهان دارای مقاومت بود که دلیل این امر، گرم منفی بودن این باکتری می باشد به این معنی که چون این باکتری دارای لیپید در غشای سلولی خود می باشد در مقابل عصاره ها از خود مقاومت نشان داد. این در حالی است که عصاره ها بر سه باکتری دیگر باسیلوس سوبتیلیس، استافیلوکوکوس اورئوس و میکروکوکوس لوتئوس اثر داشته اند که این امر به دلیل گرم مثبت بودن (فاقد لیپید در غشای سلولی) آن ها می باشد (۲۶).

به طور کلی گیاهان طیف وسیعی از فعالیت آنتی باکتریایی و آنتی اکسیدانی و فعالیت های دیگر را از خود نشان می دهند. با توجه به نتایج به دست آمده از مطالعه اخیر، عصاره گیاه بشقابی دارای خاصیت آنتی باکتریایی است که می توان از این گیاه به عنوان آنتی بیوتیک طبیعی نام برد. علاوه بر این خواص مهارکنندگی رادیکال آزاد و قدرت احیاءکنندگی در عصاره این گیاه مشهود است و هم چنین در رابطه با تشخیص ماهیت ترکیبات آلی آن نیز، میزان قابل توجهی فنل و فلاونوئید در آن مشاهده شد. با توجه به این که مطالعات بسیار اندکی در رابطه با گیاه بشقابی صورت گرفته است، نتایج این تحقیق می تواند گزارش ارزشمندی در رابطه با نقش موثر این گیاه در زمینه آنتی باکتریال و آنتی اکسیدان باشد. این نتایج می تواند بر کشف انواع جدیدتر آنتی بیوتیک ها و داروهای دیگر کمک کند.

سپاسگزاری

این مقاله مستخرج از پروژه دانشجویی بوده و نویسندگان مقاله کمال تشکر و قدردانی را از افراد شرکت کننده در این پژوهش دارند.

کد اخلاق: IR.ausmt.rec.1398.06.6

References

1. Cowan MM. Plant products as antimicrobial agents. Clin Microbiol Rev1999;12:564-82. doi: 10.1128/CMR.12.4.564.
2. Tchakam PD, Lunga PK, Kowa TK, Lonfouo AH, Wabo HK, Tapondjou LA, et al. Antimicrobial and antioxidant activities of the extracts and compounds from the leaves of *Psorospermum aurantiacum* Engl and *Hypericum lanceolatum* Lam. BMC Comple Alt Med2012;12:136. doi: 10.1186/1472-6882-12-136.
3. Akhbari M, Aghajani Z, karimi E, Mazochi A. [Study of chemical compounds of essential oil and Antioxidant and antimicrobial activity of oily compounds of *menthe longifolia*]. Cell Mol Biol Let2016; 6:44-9. doi/abs/10.1080/10412905.2010.9700269. (Persian)
4. Eloff JN. It is possible to use herbarium specimens to screen for antibacterial components in some plants. J Ethnopharmacol1999; 67:355-60. doi.org/10.1016/S0378-8741(99)00053-7.
5. Mazel D, Davies J. Antibiotic resistance in microbes. Cell Mol Life Sci 1999;56:742-54. doi.org/10.1007/s000180050021.
6. Gholami A, Arabestani MR, Ahmadi M. [Evaluation of antibacterial activity of aqueous and methanol extracts of *Allium Jesdianum* plant on a number of pathogenic bacteria resistant to antibiotics]. Pajouhan Sci J2016; 14:18-26. doi: 10.21859/psj-140418.(Persian)
7. Moradi A, Ebrahimipour G, Karkhane M, Marzban A. [Surveying the antioxidant and the antimicrobial effects of aqueous and ethanolic extract of *Rumex alveollatus* L. on in-vitro indicator microorganisms]. J Fasa Uni Med Sci 2015; 4:418-26. (Persian)
8. Hayouni EA, Abedrabba M, Bouix M, Hamdi M. The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. Food Chem 2007; 105:1126-34. doi.org/10.1016/j.
9. Chang CC, Yang MH, Wen HM, Chern JC. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. J Food Drug Anal 2002;10: 178-82.
10. Brandwilliams W, Cuvelier ME, Berset CL. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Leb Wiss Technol1995; 28:25-30. doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5
11. Jafarnezhad A, Firouznia A. [Evaluation of antibacterial activity and antioxidant properties of methanolic extracts of *Jurinea sintenisii* bornm and *Bupleurium rotundifolium*. L]. North Khorasan J Med Sci 2018; 10:22-7. (Persian)
12. Azizianshermeh O, Taherizadeh M, Valizadeh M, Qasemi A. [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]. J Fasa Uni Med Sci 2018; 7:43-9. (Persian)
13. Samsamshariat SH. Extraction of effective components of herbal medicine determination and evaluation methods. 1th ed. Mani Pres Esfahan Publication. 1993; Iran P.12 -3.
14. Khalili M, Ebrahimzadeh MA. [A review on antioxidants and some of their common evaluation method]. J Mazandaran Uni Med Sci2015; 24:188-208. (Persian)
15. Falleh H, Ksouri R, Lucchessi ME, Abdelly C, Magne C. [Ultrasound-assisted extraction effect of extraction time and solvent power on the levels of polyphenols and antioxidant activity of *Mesembryanthemum edule* L. Aizoaceae shoots]. Trop J Pharm Res 2012;11:243-9. (Persian) doi.org/10.4314/tjpr.v11i2.10.
16. Mazarie A, Mousavi SM, Fahmideh N.L. [Assessments of phenolic flavonoid and antioxidant activity of aqueous alcoholic, methanol and acetone extracts of thirteen medicinal plants]. Nov Biol Rep2018;4:299-309. (Persian)
17. Morello JR, Romero MP, Ramo T, Motilva MJ. Evaluation of L phenylalanine ammonia lyase activity and phenolic profile in olive drupe (*Olea europaea* L.) from fruit setting period to harvesting time. Plant Sci 2005; 168:65-72. doi.org/10.1016/j.plantsci.2004.07.013
18. Siriamornpun S, Suttajit M. Microchemical components and antioxidant activity of different morphological parts of Thai wild purslane *Portulaca oleracea*.

- Weed Sci 2010; 58:182-8. doi. 10.1614/WS-D-09-00073.1
19. Sadeghi, AR, Salmaneian SH, Jamsun M, Tabatabaiaamid B. [Identify and measure the phenolic acids radical scavenging activity and reducing power iron methanol extracts and ethanol *Eryngium caucasicum*]. J Res Food Sci Tech 2014; 2: 193-204. (Persian)
20. Lee KW, Kim YJ, Kim DO, Lee HJ, Lee CY. Major phenolics in apple and their contribution to the total antioxidant capacity. J Agr Food Chem 2003; 51:6516-20. doi.10.1021/jf034475w.
21. Kamkar A, Shariatifar N, Jamshidi AH, Mohammadian M. [Study of antioxidant functional of the water, methanol, and ethanol extracts of endemic *cuminum cyminum* L. and *cardaria draba* L. in the In vitro systems]. GMUHS J2010; 15; 16:37-44. (Persian)
22. Sultana B, Anwar F, Przybylski R. Antioxidant potential of corncob extracts for stabilization of corn oil subjected to microwave heating. Food Chem 2007; 1:104:997-1005. doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.12.061
23. Amzadhossain M, Shah MD. A study on the total phenols content and antioxidant activity of essential oil and different solvent extracts of endemic plant *merremia borneensis*. Arab J Chem 2015; 8: 66-71. doi.org/10.1016/j.arabjc.2011.01.007
24. Mirzaei A, Mohammadi J, Mirzaei N, mirzaei M. [The antioxidant capacities an total phenolic contents of some medicinal plants in Iran]. J Fasa Uni Med Sci 2011; 1: 160-7. (Persian)
25. Entezari M, Hashemi M, Ashki M, Ebrahimian S, Bayat M, Azizi Saraji AR, Rohani SR. [Studying the effect *Echinophora platyloba* extract on bactira *Staphillococcus aureus* and *Pseudomonas aeroginosa*) and fungi *Candidia albicans* *Aspergillus flavus* and *Aspergillus niger* in vitro]. World J Med Sci 2009; 1:489-92. (Persian)
26. Balouiri M, Sadiki M, Ibnsouda SK. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. J Pharm Anal 2016; 6:71-9. doi. 10.1016/j.jpha.2015.11.005 PMID: 29403965

Evaluation of Antioxidant and Antibacterial Activity, and Determination of Phenolic and Flavonoid Content of Aqueous and Methanolic Extracts of *Scutellaria pekinensis*

Govahi M^{*1}, Ghorbani F², Ranjbar M³, Rahaiee S³, Azizi H¹

(Received: March 2, 2019

Accepted: November 14, 2019)

Abstract

Introduction: *Scutellaria pekinensis* is one of the most valuable Medicinal species of the Lamiaceae family. The present study aimed to investigate the antibacterial and the antioxidant effects of *Scutellaria pekinensis*.

Materials & Methods: In this study, after extracting the aqueous and methanol extracts, the antioxidant effect of the extract was measure-using DPPH and FRAP methods. Disk diffusion method was use to investigate the antibacterial effect against three types of bacteria. In addition, the study examined phenolic and flavonoidal.

Findings: The results showed that the highest amount of phenol and flavonoid were obtained by methanol extract and shaker extraction method. The highest amount of free radical scavenging (DPPH)

and FRAP were related to aqueous extract and shaker extraction method. The highest inhibition zone diameter for *Bacillus cereus* and *Escherichia coli* in the concentration of 600 mg/ml were 15.67 ± 0.58 , and 25.33 ± 3.15 respectively, and for *Staphylococcus aureus*, the concentration of 900 mg / ml was 26 ± 2 . *Ethics code:* IR.ausmt.rec.1398.06.6

Discussion & Conclusions: The results showed that the solvent type and extraction method had a great impact on the amount of antioxidant compounds and antibacterial effects. Considering the few studies performed about this plant, the results of this study can be a good report for further research.

Keywords: Antioxidant, Antibacterial, DPPH, Folin Reagent

1. Dept of Nanobiotechnology, Faculty of Biotechnology, Amol University of Special Modern Technologies, Amol, Iran

2. Dept of Medicinal Plants, Faculty of Medicinal Plants, Amol University of Special Modern Technologies, Amol, Iran

3. Dept of Microbial Biotechnology, Faculty of Biotechnology, Amol University of Special Modern Technologies, Amol, Iran

*Corresponding author Email: m.govahi@ausmt.ac.ir