بررسی تأثیر عصاره متانولی ۴ بخش مختلف گیاه غافث (*Agrimonia eupatoria*) بر روی رشد و تکثیر سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی انسان و ۱۲ نوع باکتری بیماری‌زا

مطهره مسجدی[۱]، مهرناز کیهان‌فر[۲]*، ماندانا بهبهانی[۳]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زیست فناوری، دانشکده علوم و فناوری‌های نوین، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران
۲- دانشیار گروه زیست فناوری، دانشکده علوم و فناوری‌های نوین، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران
۳- دانشیار گروه زیست فناوری، دانشکده علوم و فناوری‌های نوین، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران
* آدرس مکاتبه: اصفهان، خیابان هزار جریب، دانشگاه اصفهان، دانشکده علوم و فناوری‌های نوین، گروه زیست فناوری، کدپستی: ۸۱۷۴۶-۷۳۴۴۱
تلفن: ۳۷۹۳۴۴۰۲ (۰۳۱)، نمابر: ۳۷۹۳۲۳۴۲ (۰۳۱)
پست الکترونیک: m.keyhanfar@ast.ui.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۴/۳/۲۲ **تاریخ تصویب:** ۹۵/۵/۲۳

چکیده

مقدمه: امروزه کاربرد گیاهان دارویی در بهبود عملکرد سیستم ایمنی و همچنین علیه باکتری‌های بیماری‌زا مورد توجه می‌باشد.

هدف: در این مطالعه اثر عصاره‌ی متانولی بخش‌های هوایی گیاه غافث بر تکثیر سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی (PBMC) و ۱۲ باکتری بیماری‌زا بررسی شده است.

روش بررسی: در این مطالعه‌ی تجربی عصاره‌ی متانولی سرشاخه، ساقه، بذر و برگ گیاه غافث تهیه گردید و اثر این عصاره بر روی سلول‌های خون محیطی در محیط کشت RPMI در غلظت‌های مختلف µg/ml ۵۰، ۱۰۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۱۵۰۰، ۲۰۰۰، ۲۵۰۰ به روش رنگ‌سنجی MTT مورد ارزیابی قرار گرفت. همچنین اثر غلظت‌های mg/ml ۱ و ۲ و ۴ و ۵ و ۷ و ۱۰ همان عصاره بر باکتری‌های بیماری‌زای استافیلوکوک اورئوس، استافیلوکوک ساپروفیتیکوس، استرپتوکوک موتانس، استرپتوکوک سوبرینوس، استرپتوکوک پیوژنز، باسیلوس سوبتیلیس، باسیلوس لیکنی فرمیس، سالمونلا انتریکا، سراشیا مارسنس، اشرشیا کلای، پروتئوس ولگاریس و پروتئوس میرابیلیس به روش دیسک‌گذاری و در محیط کشت نوترینت آگار مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج: عصاره‌ی تمام بخش‌های هوایی گیاه غافث دارای اثر تحریک‌کنندگی سیستم ایمنی می‌باشند و سرشاخه، ساقه و بذر با بیشترین اثر تحریک‌کنندگی موجب افزایش تکثیر سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی تا میزان ۸ برابر شد. عصاره‌ی متانولی گیاه غافث دارای اثر ضدباکتری بر برخی باکتری‌های گرم مثبت بیماری‌زا بوده و بیشترین اثر ضدباکتری بر باکتری باسیلوس سوبتیلیس در غلظت mg/ml ۴ و باکتری استافیلوکوک اورئوس در غلظت mg/ml ۷ بود.

نتیجه‌گیری: گیاه غافث دارای اثر تحریک‌کنندگی سیستم ایمنی و خاصیت ضدباکتری علیه برخی باکتری‌های بیماری‌زای گرم مثبت است که می‌تواند به عنوان گیاه تعدیل‌کننده سیستم ایمنی برای بیماران نقص ایمنی و در کنترل عفونت‌های باکتریایی کاربرد داشته باشد.

گل واژگان: گیاه غافث، تحریک‌کننده سیستم ایمنی، سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی، ضدباکتری

www.SID.ir
of SID

مقدمه

امروزه گیاهان دارویی در طب سنتی کاربرد وسیعی دارند. داروهای سنتزی متنوع که به عنوان عامل‌های تعدیل‌کننده‌ی سیستم ایمنی استفاده می‌شوند دارای عوارض جانبی متنوع از قبیل نفروتوکسیسیتی، هپاتوتوکسیسیتی، سرکوب مغز استخوان و اختلالات گوارشی هستند [۱]. علاوه بر این آنتی‌بیوتیک‌هایی که به طور مرسوم در درمان بیماری‌های عفونی به کار می‌روند دارای مشکلاتی همچون عوارض جانبی ناخواسته و مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها می‌باشند. امروزه کاربرد گیاهان دارویی در طب سنتی به منظور کاهش این مشکلات مورد توجه می‌باشد.

گیاه غافث با نام علمی *Agrimonia eupatoria* یکی از جنس‌های خانواده‌ی *Rosaceae* می‌باشد که در افغانستان، امریکا، اروپا و ایران وجود دارد. این گیاه در ایران در مناطق تالش، آذربایجان، کردستان، مازندران، رشت، خراسان، لرستان، قزوین، اردبیل، شیراز، دشت مغان، تهران و ارومیه یافت می‌شود [۲]. غافث گیاهی است پایا، به ارتفاع ۶۰-۳۰ سانتی‌متر و دارای ساقه‌ی راست و پوشیده از کرک که در جنگل‌ها، نواحی سایه‌دار، چمنزارها و غیره می‌روید و تقریباً در تمام نیمکره شمالی پراکندگی دارد. تمامی قسمت‌های گیاه شامل ریشه، ساقه، بذر، برگ، سرشاخه و گل آن در طب سنتی کاربرد دارد [۴، ۳]. این گیاه دارای ترکیبات ارزشمندی مانند آگریمونین، کاتچین، پروسیانیدین، کوئرستین، لوتئولین، کامفرول و یوگنول است [۶، ۵]. در طب سنتی، قسمت‌های هوایی این گیاه خاصیت مدر و قابض دارد و برای درمان اسهال، کولیت، مشکلات آپاندیس، التهاب مثانه، مار گزیدگی و زگیل کاربرد دارد [۷]. علاوه بر این، این گیاه برای مشکلات کبدی، کلیوی، سنگ‌های صفراوی، ادم، روماتیسم، بواسیر، جلوگیری از خونریزی، زخم‌های واریسی، التهاب گلو، سل ریوی و سل پوستی استفاده می‌شود [۸]. مطالعات محققان نشان داده که این گیاه دارای خواص آنتی‌اکسیدان، ضدالتهاب، ضدویروس، ضدباکتری، ضدچاقی، ضددیابت، ضدسرطان و ضدآلزایمر می‌باشد. همچنین در طب سنتی این گیاه برای ترمیم زخم‌ها و در درمان بیماری‌های مرتبط با کبد، صفرا و سیستم ایمنی مانند روماتیسم کاربرد دارد [۹، ۸]. در این مطالعه، برای اولین بار اثر عصاره‌ی متانولی ۴ بخش مختلف گیاه غافث بر سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی (PBMC) و همچنین ۷ باکتری بیماری‌زای گرم مثبت شامل استافیلوکوکوس اوئوس، استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس، استرپتوکوک موتانس، استرپتوکوک سوبرینوس، استرپتوکوک پیوژنز، باسیلوس سوبتیلیس و باسیلوس لیکنی فرمیس و همچنین ۵ باکتری گرم منفی شامل اشریشیا کلای، پروتئوس ولگاریس، پروتئوس میرابیلیس، سراشیا مارسنس و سالمونلا اینتریکا مورد ارزیابی و مقایسه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

تهیه‌ی نمونه‌ی گیاهی و عصاره‌گیری

در این تحقیق اندام‌های هوایی گیاه، توسط کارشناس مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان از مسیر جاده‌ی نطنز به ابیانه در استان اصفهان شناسایی و جداسازی شد و نمونه‌ی هرباریوم از آن تهیه و در دانشکده‌ی علوم دانشگاه اصفهان با کد هرباریوم ۱۹۵۵۵۲ ثبت شد. قسمت‌های سرشاخه، ساقه، بذر و برگ با دست جداسازی و در دمای اتاق در سایه به صورت جداگانه خشک و سپس آسیاب شد. برای استخراج عصاره‌ی گیاهان روش‌های متعددی وجود دارد که روش‌های پرکولاسیون و خیساندن معمول‌تر هستند [۱۰]. در این تحقیق متانول ۹۶ درصد به دلیل قابلیت جدا کردن متابولیت‌های ثانویه‌ی با ارزش از جمله فلاونوئیدها که به میزان زیادی در گیاه مورد مطالعه وجود دارد به عنوان حلال جهت عصاره‌گیری و به روش خیساندن مورد استفاده قرار گرفت [۱۱، ۵]. به این منظور ۲۰ گرم از هر یک از پودرهای آسیاب شده در ۲۰۰ میلی‌لیتر متانول ۹۶ درصد بر روی شیکر با دور ۳۰ و دمای ۲۵ درجه به مدت ۷۲ ساعت قرار گرفت. عصاره‌ی به دست آمده با استفاده از کاغذ صافی صاف شد. تفاله‌های حاصل دوبار دیگر عصاره‌گیری شد و عصاره‌ی حاصل از آن توسط دستگاه روتاری تغلیظ و نهایتاً در ظروف شیشه‌ای و در فضای باز خشک شد. وزن خشک عصاره‌ها اندازه‌گیری شد و در

Archive of SID
www.SID.ir

نهایت تمامی عصاره‌های خشک شده تا قبل از مصرف در ظروف پلاستیکی دربدار در یخچال نگهداری شدند.

۵۰ میلی‌گرم عصاره‌ی خشک توسط ترازو وزن و در ۵۰۰ µl DMSO با استفاده از ورتکس حل شد. سپس با محاسبه غلظت‌های نهایی ۵۰ µg/ml، ۱۰۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۱۵۰۰، ۲۰۰۰ و ۲۵۰۰ از هر عصاره در زیر هود لامینار فلو و در شرایط کاملاً استریل، با استفاده از بافر PBS رقیق شد و به مقدار لازم به پلیت‌های ۹۶ چاهکی حاوی لنفوسیت‌های انسانی، اضافه شد.

تهیه و کشت سلول‌های لنفوسیت انسانی

مقدار ۱۰ میلی‌لیتر خون از فرد سالم گرفته و در فالکون هپارینه ۱۵ میلی‌لیتر جمع‌آوری شد. ۲/۵ میلی‌لیتر لنفودکس مارک SIGMA در یک فالکون ریخته و ۵ میلی‌لیتر از خون به آرامی بر روی آن ریخته شد و به مدت ۲۰ دقیقه در سانتریفوژ ۳۰۸ ×g قرار داده شد. پس از سانتریفوژ مایع سفید میانی حاوی لنفوسیت جداسازی و در پلیت ۶ چاهکی ریخته شد و در محیط کشت RPMI از شرکت GIBCO کشت داده شد. محیط حاوی ۱۵ درصد سرم جنین گاوی و آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین (۱۰۰ U/ml) و آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین (۱۰۰ mg/ml) و گلوتامین (۲ mM) بود. سپس غلظت‌های تهیه شده از هر عصاره به محیط کشت اضافه شد و پلیت‌های حاوی لنفوسیت‌ها و عصاره در انکوباتور ۳۷ درجه حاوی ۵ درصد دی‌اکسیدکربن به مدت ۴۸ ساعت گرماگذاری شد.

بررسی اثر عصاره‌ی متانولی بر لنفوسیت به روش سنجش MTT

برای بررسی اثر عصاره بر روی رشد و تکثیر لنفوسیت از روش رنگ سنجی MTT استفاده شد. اساس این تست بر پایه‌ی قدرت احیاکنندگی آنزیم سوکسینات دهیدروژناز میتوکندریایی استوار است. سلول‌های زنده، حاوی میتوکندری بیشتر و در نتیجه دارای قدرت احیاکنندگی بیشتر هستند. این آنزیم، کریستال‌های زرد رنگ تترازولیوم با فرمول شیمیایی MTT (3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide) را به کریستال‌های ارغوانی رنگ فورمازان احیا می‌کند که با روش رنگ‌سنجی الایزا، میزان جذب آن اندازه‌گیری می‌شود [۱۲].

برای انجام این روش پس از اثر دادن عصاره بر روی لنفوسیت و پس از گرماگذاری، ۱۰۰ µl محلول سوپرناتانت رویی حذف شد. سپس ۲۰ µl محلول MTT (با غلظت ۵ µg/ml) به عنوان سوبسترا به ول‌ها افزوده و برای فرصت دادن به عمل آنزیم، به مدت ۴ ساعت گرماگذاری انجام شد. سپس به منظور حل کردن کریستال‌های فورمازان، محلول ۰/۰۴ مولار اسید کلریدریک در ۲- پروپانول به اضافه‌ی تریتون X-۱۰۰ اضافه شد. در نهایت جذب محلول با استفاده از دستگاه الایزا ریدر در طول موج ۵۷۰ nm خوانده شد. در این آزمایش از DMSO به عنوان شاهد استفاده شد. آزمایش برای هر غلظت با سه بار تکرار انجام و درصد بقاء سلول‌ها با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد.

۱۰۰ × جذب کنترل منفی/جذب چاهک = درصد بقا

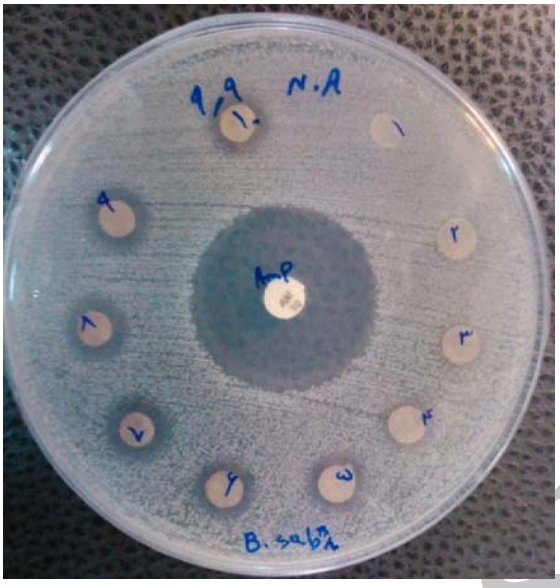
سویه‌های باکتری مورد آزمایش و نحوه‌ی تهیه‌ی محیط کشت

سویه‌های باکتری که در این مطالعه استفاده شد شامل ۷ باکتری بیماری‌زای گرم مثبت استافیلوکوکوس اوئوس، استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس، استرپتوکوک موتانس، استرپتوکوک سوبرینوس، استرپتوکوک پیوژنز، باسیلوس سوبتیلیس و باسیلوس لیکنی فرمیس و همچنین ۵ باکتری گرم منفی اشریشیاکلای، پروتئوس ولگاریس، پروتئوس میرابیلیس، سراشیا مارسنس و سالمونلا اینتریکا بود که همه‌ی باکتری‌ها در محیط کشت نوترینت آگار و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرماگذاری شدند.

بررسی اثر ضدباکتری عصاره‌ی متانولی به روش دیسک‌گذاری

برای هر باکتری کدورت نیم مک فورلند با استفاده از PBS تهیه شد و به روش چمنی بر روی پلیت‌های حاوی نوترینت آگار کشت داده شد. سپس دیسک‌های استریل ۶ mm به عصاره‌های گیاهی آغشته شد و به آرامی بر روی پلیت‌های حاوی باکتری گذاشته شد. از دیسک‌های آنتی‌بیوتیک حاوی ۱۰ µg آمپی‌سیلین از شرکت پادتن طب به عنوان شاهد برای همه‌ی باکتری‌ها استفاده شد. سپس تمامی پلیت‌ها در انکوباتور ۳۷ درجه به مدت یک شبانه روز گرماگذاری شدند. در نهایت هاله‌ی عدم رشد باکتری با استفاده از خط‌کش میلی‌متری اندازه‌گیری شد (شکل شماره ۱).

Archive of SID
www.SID.ir



شکل شماره ۱- هاله‌ی عدم رشد باکتری باسیلوس سوبتیلیس (*Bacillus subtilis*)

۱= mg/ml ۱ و ۲= mg/ml ۲ و ۳= mg/ml ۳ و ۴= mg/ml ۴ و ۵= mg/ml ۵ و ۶= mg/ml ۶ و ۷= mg/ml ۷ و ۸= mg/ml ۸ و ۹= mg/ml ۹ و شاهد= آمپی سیلین ۱۰µg/disc

نتایج

نتایج عصاره‌گیری

بازده متوسط تولید عصاره بر حسب وزن عصاره خشک در ۱۰۰ گرم گیاه خشک تعیین و حدود ۱۳ درصد محاسبه شد.

نتایج اثر تحریک‌کنندگی عصاره‌ی متانولی غافث بر تکثیر سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی

نتایج حاصل نشان داد که عصاره تمامی قسمت‌های هوایی گیاه غافث، شامل سرشاخه، ساقه، بذر و برگ آن به روش وابسته به دوز قادر به تکثیر سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی و افزایش میزان درصد بقای سلول‌ها هستند. در این میان سرشاخه، ساقه و بذر به صورت وابسته به دوز تا غلظت ۲۵۰۰ µg/ml دارای بیشترین اثر تحریک کنندگی تا میزان ۸ برابر بوده و برگ تا غلظت ۱۵۰۰ µg/ml به صورت وابسته به دوز موجب افزایش ۴ الی ۵ برابری تکثیر لنفوسیت‌ها شد.

نتایج حاصل از بررسی فعالیت ضدمیکروبی عصاره متانولی سرشاخه، ساقه، بذر و برگ گیاه غافث بر باکتری‌های بیماری‌زا در جدول شماره ۱ نتایج حاصل از اثر عصاره‌ی متانولی قسمت‌های مختلف گیاه غافث بر باکتری‌های بیماری‌زا نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌کنید عصاره‌ی متانولی غافث اثر ضدباکتری بر هیچ یک از باکتری‌های بیماری‌زای گرم منفی شامل اشرشیاکلای، سالمونلاانتریکا، سراشیا مارسنس، پروتئوس ولگاریس و پروتئوس میرابیلیس و دو باکتری گرم مثبت شامل استافیلوکوک ساپروفیتیکوس و باسیلوس لیکنی فرمیس نداشت. عصاره‌ی متانولی تمامی نمونه‌ها در غلظت ۱۰ mg/ml دارای اثر ضدباکتری بر استرپتوکوک موتانس و عصاره سرشاخه و برگ در غلظت ۱۰ mg/ml دارای اثر ضدباکتری بر استرپتوکوک سوبرینوس و استرپتوکوک پیوژنز بود. سرشاخه در غلظت ۷ mg/ml و برگ در غلظت ۱۰ mg/ml اثر ضدباکتری علیه استافیلوکوک اورئوس داشت. سرشاخه با حداقل غلظت مهار کنندگی معادل ۴ mg/ml دارای اثر ضدباکتری بر باکتری باسیلوس سوبتیلیس بود.

Archive of SID
www.SID.ir

جدول شماره ۱- اثر غلظت‌های مختلف عصاره‌ی متانولی سرشاخه، برگ، بذر و ساقه‌ی گیاه غافث بر باکتری‌های بیماری‌زای گرم مثبت و گرم منفی

میزان قطر هاله عدم رشد باکتری بر حسب میلی‌متر (mm)

نمونه / باکتری	غلظت سرشاخه (mg/ml)						غلظت برگ (mg/ml)						غلظت بذر (mg/ml)						غلظت ساقه (mg/ml)					
	۱	۲	۴	۵	۷	۱۰	۱	۲	۴	۵	۷	۱۰	۱	۲	۴	۵	۷	۱۰	۱	۲	۴	۵	۷	۱۰
S.aureus(G+)	–	–	–	–	۸	۹	–	–	–	–	–	۸	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
S.saprophyticus(G+)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
S.mutans(G+)	–	–	–	–	–	۹	–	–	–	–	–	۹	–	–	–	–	–	۹	–	–	–	–	–	۹
S.sobrinus(G+)	–	–	–	–	–	۸	–	–	–	–	–	۸	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
S.pyogenes(G+)	–	–	–	–	–	۹	–	–	–	–	–	۸	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
B.subtilis(G+)	–	–	۷	۱۱	۱۱	۱۱	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
B.licheniformis(G+)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
E.coli(G-)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
S.enterica(G-)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
S.marcescens(G-)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
P.vulgaris(G-)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
P.mirabilis(G-)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–

قطر دیسک: mm ۶ – شاهد: آنتی‌بیوتیک آمپی‌سیلین، بیشترین اثر ضدباکتریایی بر باکتری استافیلوکوک اورئوس و باکتری باسیلوس سوبتیلیس مشاهده می‌شود. سرشاخه و برگ گیاه بیشترین اثر ضدباکتری را نشان می‌دهند.

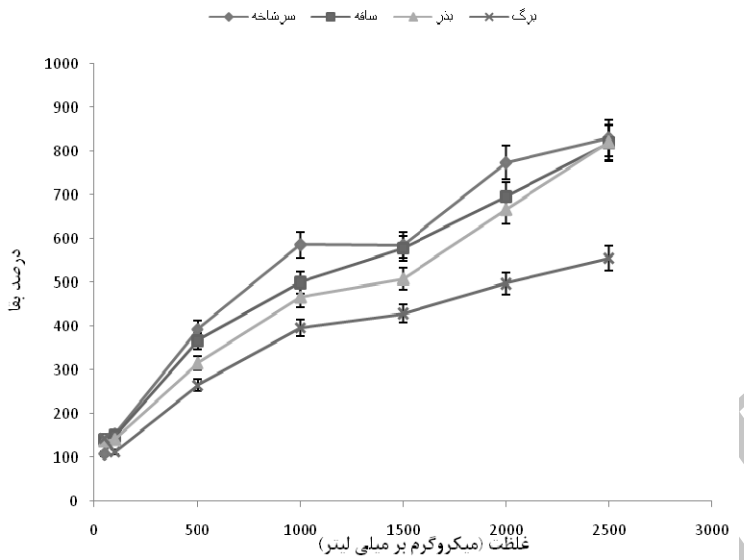
بحث

نتایج به دست آمده از مطالعه عصاره‌ی متانولی گیاه غافث بر سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی مشخص کرد که عصاره‌ی تام تمام بخش‌های هوایی این گیاه موجب تکثیر و افزایش درصد بقای سلول‌ها می‌شود (نمودار شماره ۱). تاکنون تنها یک مطالعه بر روی اثر بخشی گونه‌ی *Agrimonia pilosa* بر سیتوکین‌های سلول‌های PBMC انجام شده است ولی تا به حال مطالعه‌ای بر روی گونه‌ی *Agrimonia eupatoria* انجام نشده است. نتایج حاصل از محققان قبل نشان داده است که گیاه *Agrimonia eupatoria* حاوی آگریمونین، کوئرستین، کاتچین، لوتئولین، کامفرول، روتین، پروسیانیدین و آپیجنین می‌باشد [۱۳]. مطالعات انجام شده بر روی این ترکیبات مشخص کرده است که بعضی از این ترکیبات همانند آگریمونین، کوئرستین، کاتچین، لوتئولین و کامفرول دارای خاصیت تحریک کنندگی سیستم ایمنی هستند.

همچنین نتایج حاصل از محققان قبل با استفاده از کروماتوگرافی فاز مایع با فشار بالا (HPLC) و طیف سنجی جرمی نشان داده است که قسمت‌های هوایی گیاه غافث حاوی ۰/۶–۰/۹ mg/g فنولیک اسید، ۸/۲–۱۰/۹ mg/g فلاونوئید و ۶/۳–۱۰/۹ mg/g تانن است [۵]. آگریمونین موجود در گیاه غافث گونه‌ی *Agrimonia pilosa* موجب القای تولید اینترلوکین ۱ (سیتوکین تحریک‌کننده سیستم ایمنی) در PBMC ها می‌شود [۱۴]. همچنین فلاونوئیدهای کوئرستین، کاتچین و لوتئولین موجب افزایش ترشح اینترلوکین ۲ (سیتوکین تحریک‌کننده سیستم ایمنی) در PBMC و ماکروفاژها می‌شوند [۱۵]. علاوه بر آن این تحقیقات مشخص کرد که کامفرول موجود در عصاره‌ی متانولی گیاه *Indigofera aspalathoids* موجب افزایش تولید لنفوسیت T و همچنین افزایش تولید سیتوکین‌های تحریک‌کننده سیستم ایمنی مانند اینترلوکین ۲ می‌شود [۳].

با توجه به نتایج حاصل از این مطالعات می‌توان نتیجه گرفت که خاصیت تحریک‌کنندگی سیستم ایمنی در گیاه غافث به علت وجود متابولیت‌های ثانویه با ارزش همانند آگریمونین، کوئرستین، کاتچین، لوتئولین و کامفرول می‌باشد. همچنین به دلیل اینکه در این تحقیق سرشاخه، ساقه و بذر گیاه دارای بیشترین اثر تحریک‌کنندگی بود. احتمالاً بیشترین میزان متابولیت‌های ثانویه گفته شده در این بخش‌ها وجود دارد.

Archive of SID
www.SID.ir



نمودار شماره ۱- اثر عصاره متانولی غلظت‌های مختلف سرشاخه، ساقه، بذر و برگ گیاه غافث بر تکثیر سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی (اختلاف معنی‌دار در سطح P<۰/۰۵ محاسبه شد) تمامی نمونه‌ها از غلظت ۵۰۰µg/ml دارای اختلاف معنی‌دار با شاهد بودند.

نتایج حاصل از بررسی اثر ضدباکتری بخش‌های مختلف عصاره متانولی گیاه غافث بر باکتری‌های بیماری‌زای مورد مطالعه مشخص کرد که این عصاره دارای فعالیت ضدباکتری بیشتری علیه باکتری‌های گرم مثبت و مخصوصاً باسیلوس سوبتیلیس و استافیلوکوک اورئوس می‌باشد و بر باکتری‌های گرم منفی اثر ضدباکتری ندارد.

مطالعاتی که بر روی ترکیبات موجود در این گیاه انجام شده، مشخص کرده است که ترکیباتی مانند کوئرستین، لوتئولین، آپیجنین، کاتچین، کامفرول و روتین موجود در این گیاه دارای فعالیت ضدباکتری می‌باشند. برای مثال کاتچین موجب مهار فعالیت استافیلوکوک اورئوس شده و لوتئولین و آپیجنین به طور اختصاصی موجب مهار فعالیت استافیلوکوک اورئوس‌های مقاوم به متی‌سیلین (MRSA) می‌شوند [۱۷، ۱۶]. در تحقیق دیگری مشخص شد که لوتئولین دارای اثر ضدباکتری بر باسیلوس سوبتیلیس نیز می‌باشد [۱۸]. علاوه بر آن مشخص شد که کوئرستین دارای فعالیت ضدباکتری علیه استرپتوکوک موتانس می‌باشد [۱۹].

با توجه به نتایج حاصل از این تحقیقات و جدول شماره ۱ می‌توان نتیجه گرفت که اثر ضدباکتری سرشاخه، برگ، بذر و ساقه گیاه غافث می‌تواند به علت وجود متابولیت‌های ثانویه با ارزش مانند کاتچین، لوتئولین، آپیجنین و کوئرستین باشد.

نتیجه‌گیری

گیاه غافث با داشتن خاصیت تحریک‌کنندگی سیستم ایمنی و همچنین خاصیت ضدباکتری علیه برخی باکتری‌های بیماری‌زای گرم مثبت می‌تواند کاندید مناسبی برای درمان بیماری‌های نقص سیستم ایمنی و همچنین عفونت‌های باکتریایی به کار رود که به این منظور نیازمند مطالعات و تحقیقات بیشتری می‌باشد.

منابع

1. Savant C, Joshi N, Reddy S, Mannasaheb BA and Joshi H. Immunomodulatory medicinal plants of India: a review. *J. Pharmacol. and Toxicol.* 2014; 2: 109 - 15.

Archive of SID
www.SID.ir

2. Rechinger K.H. (ed.) Flora Iranica. Akademische Druck-u Verlagsanstalt, Graz. 1969, pp: 148-152

3. Zargari A. Medicinal plants. Vol. 2, Edition 6. Tehran: Tehran university publication. 1996, pp: 198

4. Ghahreman A. Plant systematic: cormophytes of Iran. Vol. 2, Edition 2. Tehran: Iran university press. 1993, pp: 532-565

5. Granica S, Krupa K, Klebowska A and k. Kiss K. Development and validation of HPLC _DAD_CAD_MS method for qualitative and quantitative standardization of polyphenols in *Agrimonia eupatoria* herba. *J. Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2013; 86: 112 - 22.

6. Feng XL, He YB, Liang YZ, Wang YL, Huang LF and Xie JW. Comparative Analysis of the volatile components of *Agrimonia eupatoria* from leaves and roots by gas chromatography-mass spectrometry and multivariate curve resolution. *J. Analytical Methods in Chemistry* 2013; 1-9

7. Copland A, Nahar N, Tomlinson CTM, Hamilton V, Middleton M, Kumarasamy Y and Sarker SD. Antibacterial and free radical scavenging activity of the seeds of *Agrimonia eupatoria*. *J. Fitoterapia* 2003; 74: 133 - 5.

8. Ivanova D, Tasinove O, Vancova D and Kiselova-Kaneva Y. Antioxidative potential of *Agrimonia eupatoria* L. *J. Medicine* 2011; 1: 20-24.

9. Adhiah A, Al-Bederi ONH, AL-Sammarrae KW. Citotoxic effects of *Agrimonia eupatoria* L. against cancer cell lines in vitro. *J Association of Arab Universities for Basic and Applied Sciences* 2013; 14: 87 - 92.

10. Morteza-Semnani K, Azadbakht M and Goodarzi A. The essential oils composition of *Phlomis herba-venti* L. leaves and flowers of Iranian origin. *J. Flavour and Fragrance* 2004; 19.1: 29 - 31.

11. Parekh J, Jadeja D and Chanda S. Efficacy of aqueous and methanol extracts of some medicinal plants for potential antibacterial activity. *J. Turkish of Biology* 2006; 29.4: 203 - 10.

12. Daenicke S, Keese Ch, Goyarts T and Doll S. Effect of deoxynivalenol (DON) and related compounds on bovine peripheral blood mononuclear cells (PBMC) in vitro and in vivo. *J. Mycotoxin Res.* 2011; 27: 49 - 55.

13. Correia H, Gonzalez-paramas A, Amaral MT, Santos-Buelga C and Batista MT. Polyphenolic profile characterization of *Agrimonia eupatoria* L. by HPLC with different detection devices. *J. Biomedical Chromatography* 2006; 20: 86-94.

14. Murayama T, Kishi N, Koshiura R, Takagi K, Furukawa T and Miyamoto K. Agrimoniin, an antitumor tannin of *Agrimonia pilosa* Ledeb., induces interleukin-1. *J. Anticancer Res.* 1992; 12: 1471 - 4.

15. Lyu SY and Park WB. Production of cytokine and NO by RAW 264.7 Macrophages and PBMC in vitro incubation with flavonoids. *J. Archives of Pharmacal Res.* 2005; 28: 573 - 81.

16. Kasai S, Watanab S, Kawabata J, Tahara S and Mizutani J. Antimicrobial catechin derivatives of *Agrimonia pilosa*. *J. Phytochem.* 1992; 31: 787 - 9.

17. Sato Y, Suzaki Sh, Nishikawa T, Kihara M, Shibata H and Higuti T. Phytochemical flavones isolated from *Scutellaria barbata* and antibacterial activity against methicillin- Resistant *Staphylococcus aureus*. *J. Ethnopharmacol.* 2000; 72: 483 - 8.

18. Lv PC, Li HQ, Xue JY, Shi L and Zhu HL. Syntheses and biological evaluation of novel luteolin derivatives as antibacterial agents. *European Journal of Medicinal Chemistry* 2009; 44: 908 - 14.

19. Prabu GR, Gnanamani A and Sadulla S. Guaijaverin- a plant flavonoid as potential antiplaque agent against *Streptococcus mutans*. *J. Applied Microbiol.* 2006; 101: 487-95.

Archive of SID
www.SID.ir