Archive of SID

بررسی فیتوشیمیایی، ارزیابی عملکرد آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌باکتریایی عصاره‌های پنج گونه دارویی *Pulicaria gnaphalodes* (Vent.) Boiss.، *Rhazya stricta* L.، *Salvadora persica* L.، *Teucrium polium* L. و *Hibiscus sabdariffa* L. در استان سیستان و بلوچستان

امید عزیزیان شرمه[1*]، محرم ولی‌زاده[2]، علی قاسمی[3]، احمد مهربان[4]، افسانه کمالی‌دلجو[5]

[1] دانش‌آموخته کارشناسی ارشد فیتوشیمی، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد زاهدان، دانشگاه آزاد اسلامی، زاهدان، ایران

[2] استادیار، گروه تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی، مجتمع آموزش عالی سراوان، سراوان، ایران

[3] مربی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه سیستان و بلوچستان، زاهدان، ایران

[4] استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد زاهدان، زاهدان، ایران

[5] دانش آموخته کارشناسی ارشد زراعت و اصلاح نباتات، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد زاهدان، دانشگاه آزاد اسلامی، زاهدان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۱/۱۵ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۱/۱۹

چکیده

مطالعه حاضر به بررسی ترکیبات فیتوشیمیایی فنول و فلاونوئید کل، ارزیابی عملکرد آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌باکتریایی سه عصاره متانولی، اتانولی و آبی پنج گونه مختلف گیاهان دارویی *Pulicaria gnaphalodes* (Vent.) Boiss.، *Rhazya stricta* L.، *Salvadora persica* L.، *Teucrium polium* L. و *Hibiscus sabdariffa* L. در منطقه سیستان و بلوچستان می‌پردازد. پس از جمع‌آوری گیاهان و تهیه عصاره‌ها به روش ماسراسیون، محتوای فنولی و فلاونوئیدی به‌ترتیب با روش‌های معرف فولین–سیوکالتیو و رنگ‌سنجی کلرید آلومینیوم، فعالیت آنتی‌اکسیدانی با دو روش DPPH و FRAP و فعالیت آنتی‌باکتریایی علیه باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*، *انتروکوکوس فکالیس*، *اشرشیاکلی* و *سالمونلا تیفیموریوم* به روش دیسک دیفیوژن (انتشار دیسک) سنجیده شده است. نتایج نشان دادند که در تمامی گونه‌ها، عصاره متانولی دارای بیشترین ترکیبات ثانویه و فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌باکتریایی بوده‌است. عصاره متانولی گونه *Hibiscus sabdariffa* L. دارای بیشترین میزان ترکیبات فنولی (۳۲/۵۴±۶/۴۴mgGAE/g) و فلاونوئیدی (۲۷/۱۱±۱/۰۰mgGAE/g) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی (IC_{50}=۱۷/۳۴±۱/۲۱µg/ml) و (۵۵/۱۹±۲/۲۷mMFe^{2+}/mg) و فعالیت آنتی‌باکتریایی علیه باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* با قطرهاله عدم رشد ۲۷±۱/۰۰ میلی‌متر بوده است. در مقابل عصاره آبی گونه *Teucrium polium* L. دارای کمترین میزان ترکیبات فنولی (۴/۳۳±۱/۱۱mgGAE/g) و فلاونوئیدی (۲/۰۳±۰/۰۸mgGAE/g) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی (IC_{50}= ۲۲۰/۷۱±۲/۰۲µg/ml) و (۸/۷۶±۰/۹۹mM Fe^{2+}/mg sample) و فعالیت آنتی‌باکتریایی علیه باکتری *انترکوکوس فکالیس* با قطرهاله عدم رشد ۴±۱/۵۰ میلی‌متر و اشرشیاکلی با قطر هاله عدم رشد ۴±۰/۵۷ میلی‌متر بوده است. به‌طورکلی بر اساس نتایج بدست‌آمده، گیاهان مورد مطالعه می‌توانند کاندیدای خوبی جهت درمان بیماری‌های ناشی از استرس‌های اکسیداتیوی و بیماری‌های ناشی از میکروب‌های بیماری‌زا قرار گیرند.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدانی، آنتی‌باکتریایی، فلاونوئید، فنول، سیستان و بلوچستان، گیاهان دارویی بومی.

*نویسنده مسئول: omid_aziziyan@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

مطابق گزارش سازمان جهانی بهداشت، گیاهان دارویی می‌توانند بهترین منبع برای بدست آوردن انواع مختلف از داروها باشند (Borneo et al., 2008). در حال حاضر، هزاران متابولیت ثانویه گیاهی به‌طور موفقیت آمیزی برای درمان بیماری‌های مختلف استفاده می‌شوند. استفاده از گیاهان دارویی در بسیاری از کشورها در حال افزایش است به گونه‌ای که ۳۵ درصد داروها در برگیرنده ترکیبات طبیعی هستند (Kordi Tamandani et al., 2014). آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی شامل ۴ دسته پلی فنول‌های فلاونوئیدی، پلی فنل‌های غیر فلاونوئیدی، اسیدهای فنولی یا دی ترپن‌های فنولی و ترکیبات آلی گوگرددار هستند (Nouri et al., 2016). واکنش‌های اکسیداتیو به دلیل تولید رادیکال‌های آزاد سلامت انسان را به مخاطره می‌اندازد (Sadeghi et al., 2015 a). آنتی‌اکسیدان‌ها در بدن نقش خنثی‌سازی فعالیت‌های اضافی رادیکال های آزاد را بر عهده دارند. رادیکال‌های آزاد، به مولکول‌هایی اطلاق می‌شود که آخرین لایه الکترونی آن‌ها تکمیل نبوده و به همین دلیل به لحاظ شیمیایی فعال‌تر از سایر مولکول‌ها می‌باشند. در نتیجه، ساختمان و عمل سلول‌های بدنی توسط رادیکال‌های آزاد تخریب شده و منجر به بروز پیری زودرس و بیماری‌هایی نظیر سرطان، تصلب شرائین، آسیب‌های مغزی، دیابت و غیره می‌شوند (Ebrahimzadeh et al ., 2008). آنتی‌اکسیدان‌ها به دو صورت طبیعی و سنتزی وجود دارند. در تقسیم‌بندی دیگر، آنتی‌اکسیدان‌ها در دو دسته آنزیمی و غیر آنزیمی قرار می‌گیرند. از مهمترین آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی می‌توان به سوپر اکسید دیسموتاز و گلوتامین پراکسیداز و کاتالاز و غیرآنزیمی به آسکوربیک اسید (ویتامین C)، آلفا-توکوفرول (ویتامین E)گلوتامین، کاروتنوئیدها و فلاونوئیدها اشاره کرد. ترکیبات آنتی‌اکسیدانی گیاهی غیرآنزیمی بر اساس ۲ مکانزیم الف: مکانیزم انتقال الکترون و ب: انتقال هیبرید، عمل احیاکنندگی را انجام می‌دهند (Mohajerani, 2012).در سال‌های اخیر استفاده از آنتی اکسیدان‌های سنتزی و یا غیرآنزیمی مانند BHT، TBHQ و BHA همانند سایر افزودنی‌های شیمیایی به دلیل محتمل بودن سمیت و سرطان‌زایی بودن آن‌ها کم شده است. امروزه بیشتر از منابع حیوانی، گیاهی و میکروبی جهت استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها به کار گرفته می‌شود (Mohamed and Khan, 2014 ; Khanizadeh et al., 2008). در بین منابع ذکر شده، گیاهان دارای منابع سرشار ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی هستند که این ترکیبات در دسته آنتی‌اکسیدان‌ها دسته‌بندی می‌شوند. ترکیبات مذکور علاوه بر کاهش استرس‌های اکسیداتیو، دارای خصوصیات ضدجهش، ضدمیکروبی، ضد ویروس و ضد سرطان هستند (Podsedek et al., 2000; Tabart et al., 2008; Mathew and Abraham, 2006). استفاده از گیاهان دارویی در جوامع مختلف به‌منظور استفاده‌های درمانی و پیشگیری معمول می‌باشد (Jamshidi et al., 2010). از این رو تجویز منابع گیاهی برای درمان بسیاری از بیماری‌ها مفید و موثر می‌باشد. همچنین این منابع به‌دلیل دارا بودن ترکیبات موثره فراوان، که منجر به بروز خواص بیولوژیکی خاص خود می‌شوند، می‌توانند نقش مهمی در نگهداری محصولات غذایی و حفظ سلامتی انسان ایفا کنند (Sadeghi et al., 2015 b). با توجه به استفاده‌ی بی رویه از آنتی‌بیوتیک‌ها و افزایش مقاومت در مقابل باکتری‌ها، یافتن جایگزین‌های مناسب برای آنتی‌بیوتیک‌ها امری ضروری می‌باشد. به همین دلیل مطالعات گسترده‌ای در مورد پتانسیل استفاده از ترکیبات ضدمیکروبی موجود در گیاهان برای کنترل و درمان عوامل بیماری زا صورت گرفته است (Azizian Shermeh et al.,

www.SID.ir

Archive of SID

2016). استان سیستان و بلوچستان در جنوب شرق ایران با شرایط آب و هوائی و ژئومورفولوزیکی خاص سبب سازگاری گونه‌های مربوط به رویشگاه‌های انحصاری این ناحیه شده و بر غنای فلور آن افزوده است. به لحاظ جغرافیایی گیاهی بیشتر نواحی جنوب استان باآب و هوای گرم و مرطوب دارای فلور بلوچی و محدوده‌های شمال آن با آب و هوای گرم و خشک دارای فلور ایرانی تورانی است و بین این دو محدوده نیز نواری از پوشش گیاهی با شرایط تبادل ژنی برجسته و پیچیدگی‌های خاص شناخته شده است. با انجام جمع‌آوری‌های متعدد و گسترده در رویشگاه‌های بسیار پراکنده استان بیش از ۶۵۰ گونه شناسایی شدند که با احتساب گونه‌های شناسایی نشده، حدود ۱۰۰۰ گونه متعلق به حدود ۵۰۰ جنس در غالب ۸۳ تیره را می‌توان برای فلور استان قائل شد که برخی از آن‌ها اندامیک ایران و یا به‌طور خاص اندمیک منطقه سیستان و بلوچستان بوده و به علت شرایط اقلیمی خاص رویشگاه‌های خود حاوی منابع ژنتیکی ارزشمندی می‌باشند (Mir and Mirshekari, 2013). در این میان گونه‌های متعددی با ویژگی‌ها و کاربردهای دارویی و صنعتی شناخته شده‌اند که بعضاً در دستور کار مطالعات آنالیز مواد مؤثره قرار گرفته‌اند. گیاهان دارویی *Pulicaria gnaphalodes* (Vent.) Boiss. (علف هیضه)، *Rhazya stricta* (اشورک)، *Salvadora persica* L. (مسواک)، *Teucrium polium* L. (کلپوره) و *Hibiscus sabdariffa* L. (چای ترش) به‌ترتیب از تیره‌های *Asteraceae*، *Apocynaceae*، *Salvadoraceae*، *Lamiaceae* و *Malvaceae* از جمله گیاهان دارویی بومی استان سیستان و بلوچستان می‌باشند. به‌دلیل پراکنش قابل توجه این گیاهان که به‌عنوان پوشش غالب در منطقه می‌باشند و در طب سنتی و بومی مردمان استان سیستان و بلوچستان مورد استفاده قرار می‌گیرند و همچنین کم بودن تحقیقات بر روی آن‌ها، مطالعه حاضر به بررسی فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی، آنتی‌باکتریایی و محتوای فنولی و فلاونوئیدی سه عصاره مختلف متانولی، اتانولی و آبی این گیاهان می‌پردازد.

مواد و روش‌ها

مواد شیمیایی و میکروارگانیسم‌ها: تمامی مواد شیمیایی مورد استفاده با خلوص بالا و از شرکت‌های معتبر تهیه شدند. ۲،۲- دی فنیل- ۲- پیکریل- هیدرازیل (DPPH)، کوئرستین و بوتیلات هیدروکسی تولوئن (BHT) از شرکت سیکما-آلدریچ، استات سدیم، آسکوربیک اسید، گالیک اسید، سدیم بیکربنات، معرف فولین، سولفات آهن (TPTZ) 2,4,6-tripyridyl-s-triazine، اتانول، متانول، دی متیل سولفوکساید، از شرکت مرک و باکتری‌های استفاده شده (*استافیلوکوکوس اورئوس*[1]، *انتروکوکوس فکالیس*[2]، *اشرشیاکلی*[3] و *سالمونلا تیفیموریوم*[4]) از مرکز کلکسیون میکروارگانیسم‌های صنعتی ایران[5] تهیه شدند. برای تمامی محلول سازی‌ها و شستشو از آب دوبار یون زدایی شده استفاده شد.

جمع‌آوری گیاه: نمونه‌های تازه گیاهی شامل کاسبرگ‌های گیاه چای ترش در مرحله گلدهی، اندام‌هوایی و گل‌های گیاه علف هیضه در دوره گلدهی، برگ‌های گیاه اشورک در مرحله شروع گلدهی، سرشاخه‌های یکساله گیاه مسواک و سرشاخه‌های گلدار گیاه کلپوره در دوره‌ی گلدهی در خرداد ماه سال ۱۳۹۳از ارتفاعات کوه تفتان از توابع شهرستان خاش در استان سیستان و بلوچستان جمع

1. *Staphylococcusaureus ATCC 2593*
2. *Enterococcusfaecalis ATCC 12290*
3. *Escherichiacoli* ATCC 25922
4. *salmonella tifimurium* ATCC 12045
5. Persian Type Culture Collection- PTCC

www.SID.ir

Archive of SID

آوری شدند. پس از حذف خاک و گل و لای از آن‌ها، با دقت توسط آب مقطر شستشو داده شدند و در دمای اتاق در محل تاریک به مدت یک هفته کاملاً خشک شده و توسط آسیاب آزمایشگاهی پودر شدند.

فرایند عصاره‌گیری: عصاره گیری به روش ماسراسیون (خیساندن) انجام گرفت (Trusheva et al., 2007). بدین منظور، مقدار ۱۵ گرم از گیاه پودر شده توسط ترازوی دیجیتالی وزن شد و در ۱۵۰ میلی‌لیتر حلال مختلف شامل (آب دوبار یون زدایی شده، اتانول و متانول) به‌مدت ۲۴ ساعت در حال هم‌زدن روی همزن برقی قرار داده شد. پس از آن توسط کاغذ صافی واتمن شماره ۴۲ عمل فیلتراسیون و صاف کردن انجام گرفت. پس از صاف کردن محلول‌های صاف شده حاصل به‌طور جداگانه در پلیت‌های جداگانه قرار داده و اجازه داده شد تا حلال آن‌ها پرانده شود و بدین‌ترتیب ۳ عصاره آبی، متانولی، اتانولی از پنج گیاه مورد نظر به‌منظور بررسی فیتوشیمیایی و فعالیت آنتی باکتریایی بدست آمد. عصاره‌های بدست آمده جهت آنالیزهای بعدی در یخچال آزمایشگاهی با دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شدند.

ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش قدرت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH: فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها با استفاده از روش اندازه‌گیری کاهش ظرفیت رادیکالی[1] به کمک ۲-۲ دیفنیل-۱-پیکریل هیدرازیل(DPPH)

مورد ارزیابی قرارگرفت. مولکول DPPH ترکیبی است بنفش رنگ که به دلیل حضورگروه‌های فنیل در ساختار آن به راحتی به صورت رادیکال درآمده و در واقع منبع رادیکال آزاد می‌باشد. توانایی دادن اتم هیدروژن یا الکترون توسط ترکیبات و عصاره‌های مختلف در این تست با میزان بی‌رنگ کردن یا کاهش میزان جذب نوری محلول بنفشDPPH در متانول مورد سنجش قرار می‌گیرد. غلظت ۱۰۰۰ µg/ml از عصاره‌ها به همراه ۱ میلی‌لیتر از محلول متانولی DPPH با غلظت ۰/۱ میلی‌مولار تهیه گردید. بعد از ۳۰دقیقه قرار دادن در دمای اتاق،جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر با DPPH در مقابل کنترل قرائت شد (Kamkar et al., 2009). درصد مهار رادیکال‌های آزاد با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید و از بوتیلات هیدروکسی تولوئن (BHT) و آسکوربیک اسید به عنوان کنترل مثبت استفاده شد:

$$\%IP = (A_{Control} - A_{sample} / A_{Control}) \times 100$$

%IP: درصد مهار رادیکال‌های آزاد (درصد بازداری آنتی اکسیدان در برابر رادیکال‌های آزاد)

$A_{Control}$: جذب کنترل (که حاوی ۱ میلی‌لیتر از متانول در ۱ میلی‌لیتر از محلول DPPH می‌باشد)

A_{Sample}: جذب نمونه (که حاوی حجم‌های مختلفی از عصاره گیاهی (آنتی اکسیدان)، متانول و محلول DPPH می‌باشد)

اندازه‌گیری توان آنتی‌اکسیدانی به روش احیاء یون آهن(III)، FRAP[2]: برای اندازه گیری توان آنتی اکسیدانی احیاء یون آهن، روش بنزی[3] و استرین[4] با کمی تغییر مورد استفاده قرار گرفت (Sadeghi et al., 2015c). اصل این روش مبتنی بر کاهش کمپلکس فریک تری پیریدیل تری آزین، به فرم فروس در حضور آنتی‌اکسیدان‌ها است. در لوله آزمایش به۲۰۰ میکرولیتر از عصاره‌ها، مقدار ۱/۸ میلی‌لیتر از محلول تازه فرپ افزوده شد. (محلول تازه فرپ با افزودن ۲۵ میلی‌لیتر بافر استات، ۲/۵ میلی‌لیتر محلول TPTZ و ۲/۵ میلی‌لیتر محلول $FeCl_3.6H_2O$ قبل از انجام آزمایش تهیه شد). مخلوط فوق ۵ دقیقه در دمای ۳۷

1. Radical Scavenging Capacity
2. Ferric ion Reducing Antioxidant Power
3. Benzie
4. Strain

www.SID.ir

Archive of SID

درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و سپس جذب محلول‌ها توسط دستگاه اسپکتروفتومترفرابنفش-مرئی در طول موج ۵۹۵ نانومتر قرائت شد. فعالیت احیاکنندگی عصاره‌ها با استفاده از منحنی استاندارد بر حسب میلی‌مول یون آهن (II) بر میلی‌گرم وزن خشک نمونه محاسبه شد. در این آزمایش از بوتیلات هیدروکسی تولوئن (BHT) و آسکوربیک اسید به عنوان کنترل مثبت استفاده شد.

اندازه‌گیری مقدار فنول کل: محتوای فنول کل با استفاده از معرف فولین-سیوکالتیو اندازه گیری شد (Sadeghi et al., 2015 a). به ۰/۵ میل لیتر از عصاره‌ها، ۲/۵ میلی‌لیتر واکنش‌گر فولین سیوکالتیو ۱۰ درصد و پس از ۵ دقیقه، ۲ میلی‌لیتر از محلول ۵ درصد سدیم کربنات به آن اضافه شد و به‌مدت ۳۰ دقیقه در یک مکان تاریک و در دمای اطاق قرار داده شد. پس از آن جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۶۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتوفوتومتر فرابنفش - مرئی در مقابل بلانک قرائت شد. گالیک اسید به‌عنوان استاندارد برای رسم منحنی کالیبراسیون به کار رفت و میزان فنول کل براساس میزان معادل میلی‌گرم گالیک اسید در گرم عصاره گزارش گردید.

تعیین مقدار فلاونوئیدهای کل: جهت سنجش میزان فلاونوئید کل از روش رنگ سنجی کلرید آلومینیوم استفاده شد (Chang et al., 2002). هر کدام از عصاره‌های گیاهی (۰/۵ml از $1:10 g\ ml^{-1}$) به‌صورت جداگانه با ۱/۵ میلی‌لیتر متانول، ۰/۱ میلی‌لیتر کلرید آلومینیوم (۱۰درصد متانولی)، ۰/۱ میلی‌لیتر استات پتاسیم (با غلظت ۱ مولار) و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر ترکیب شدند. سپس محلول‌ها در دمای اتاق به‌مدت ۳۰ دقیقه قرار داده شدند. جذب محلول‌ها در طول موج ۴۱۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر فرابنفش-مرئی اندازه گیری شد. از کوئرستین جهت رسم منحنی استاندارد استفاده شد و در انتها میزان فلاونوئید کل بر اساس میزان معادل میلی گرم کوئرستین در گرم عصاره‌ها گزارش شد.

بررسی فعالیت آنتی‌باکتریایی: جهت بررسی فعالیت آنتی‌باکتریایی عصاره‌ها از روش دیسک دیفیوژن (Asghari et al., 2014) استفاده شده است و این اثر بر روی چهار باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس*، *انتروکوکوس فکالیس*، *اشرشیاکلی* و *سالمونلا تیفیموریوم* مورد مطالعه قرار گرفت. ابتدا تمامی باکتری‌ها در محیط کشت مایع (NutrientBroth) در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، و بر روی شیکر با سرعت ۲۰۰ دور بر دقیقه و به‌مدت ۲۴ ساعت کشت داده شد. پس از گذشت یک روز، از هر باکتری سوسپانسیونی معادل غلظت نیم مک فارلند آماده و از هر سوسپانسیون، حجم ۰/۱ میلی لیتر (10^8 cfu/ml) روی محیط کشت مولر هینتون آگار تلقیح کرده و به‌صورت انبوه با سواپ کشت داده شد. دیسک‌های کاغذی با قطر ۶ میلی‌متر آغشته شده به عصاره‌ها روی کشت باکتری مربوطه قرار داده شد و در نهایت پس از ۴۸ ساعت قرار دادن پلیت‌ها در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، قطرهاله عدم رشد ایجاد شده در اطراف هر دیسک اندازه‌گیری شد. به منظور مقایسه‌ی اثر آنتی‌باکتریایی عصاره‌ها علیه باکتری‌های مورد مطالعه، حساسیت این باکتری‌ها به دیسک‌های آنتی بیوتیک‌های کوآموکسی کلاو و سیپروفلوکسازین نیز مورد بررسی قرار گرفت.

تجزیه و تحلیل آماری

تمامی آزمایشات در سه تکرار در قالب طرح آزمایشی کاملاً تصادفی انجام گرفت و نتایج بدست آمده با استفاده از نرم افزار SPSS، نگارش ۱۶، مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. مقایسه معنی‌داری میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دانه دانکن در سطح احتمال ۵ درصد مورد بررسی قرار گرفت.

www.SID.ir

Archive of SID

همچنین جهت رسم شکل‌ها و نمودارها از نرم‌افزار MicrosoftExcel 2010 استفاده گردید.

نتایج

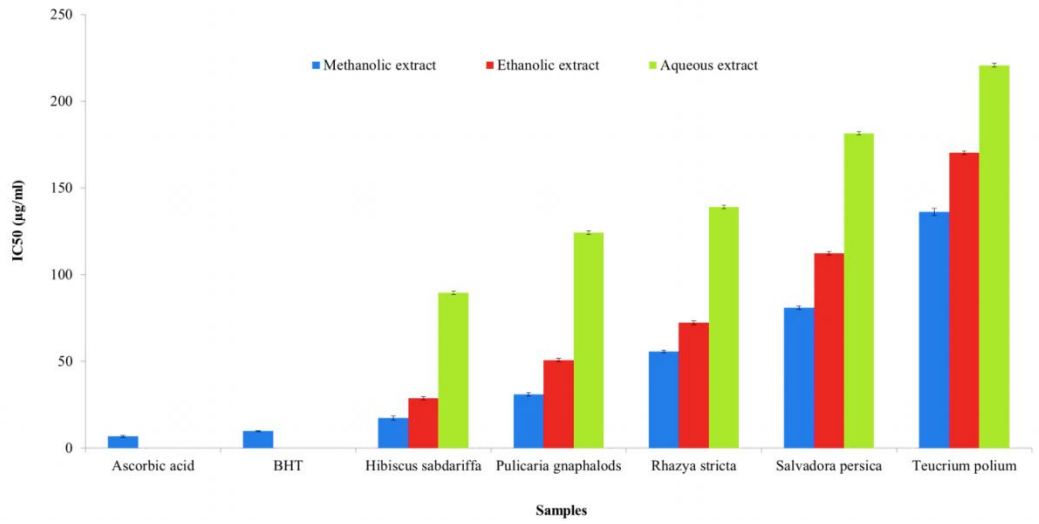
در مطالعه حاضر قدرت آنتی‌اکسیدانی، آنتی‌باکتریایی و محتوای فنولی و فلاونوئیدی کل عصاره‌های متانولی، اتانولی و آبی پنج گونه از تیره‌های مختلف گیاهان دارویی که در ارتفاعات کوه تفتان از توابع شهرستان خاش در استان سیستان و بلوچستان رشد یافته‌اند مورد سنجش و ارزیابی قرار گرفته است. به‌منظور مقایسه یکسان و همتراز، غلظت تمامی عصاره‌ها برای کلیه آزمایش‌ها، ۱۰۰۰ µg/ml انتخاب شده است. نتایج قدرت احیاکنندگی رادیکال‌های پایدار DPPH و یون‌های آهن (III) توسط عصاره‌های حاصل از گونه‌های مورد آزمایش نشان دادند که در هر دو روش DPPH و FRAP، عصاره‌های متانولی تمامی گونه‌ها نسبت به سایر عصاره‌ها دارای بیشترین و عصاره آبی دارای کمترین قدرت آنتی‌اکسیدانی و احیاکنندگی را دارا بوده است. این مقدار برای عصاره متانولی گونه *Hibiscus sabdariffa* L. بیشترین مقدار بوده است به طوریکه می‌توان گفت عصاره متانولی این گونه دارای بیشترین میزان آنتی‌اکسیدانی بوده است (IC_{50}=۱۷/۳۴±۱/۲۱µg/ml و $mMFe^{2+}$/mg sample۵۵/۱۹±۲/۲۷). در بین گونه‌های مورد آزمایش، گونه‌ی *Teucrium polium* L.، دارای حداقل قدرت آنتی‌اکسیدانی در تمام عصاره‌ها بوده است. به‌طورکلی ترتیب قدرت آنتی‌اکسیدانی گونه‌های مورد نظر از بیشتر به کمتر به‌صورت: *H. sabdariffa* ‹ *P. gnaphalodes* ‹ *R. stricta* ‹ *S. persica* ‹ *T. polium* بوده است. برای محاسبه مقدار IC_{50}، ابتدا منحنی کالیبراسیونی قدرات بازداری (%IP) بر µg/ml رسم و پس از بدست آمدن معادله‌ی خط و جایگزین کردن عدد ۵۰ در محور افقی، مقدار IC_{50} از محود عمودی محاسبه شد و در جدول ۱ آورده شده است. جدول ۱ مقادیر غلظتی از عصاره‌ها که ۵۰ درصد مهار رادیکال‌ها را منجر می‌شوند را در مقایسه قدرت احیاکنندگی آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی آسکوربیک اسید و BHT آورده شده است. همچنین شکل ۱، مقایسه این نتایج را نشان می‌دهد. در روش FRAP، فعالیت آنتی‌اکسیدانی بر اساس توانایی احیای یون فریک و یون فروس سنجیده شد که نتایج بر جسب میلی‌مول یون فروس به میلی‌گرم عصاره‌ها گزارش شد (جدول ۲). شکل ۲، مقایسه نتایج حاصل از قدرت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها در مقابل آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی نشان می‌دهد.

جدول ۱: نتایج قدرت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های مختلف ۵ گونه گیاه دارویی در مقابل BHT و آسکوربیک اسید به روش DPPH

ردیف	نام گیاه	IC_{50} عصاره‌های مورد استفاده به همراه مقادیر		
		عصاره متانولی	عصاره اتانولی	عصاره آبی
۱	*Hibiscus sabdariffa* L.	۱۷/۳۴±۱/۲۱	۲۸/۷۳±۲/۳۵	۸۹/۶۱±۳/۹۰
۲	*Pulicaria gnaphalods* (Vent.) Boiss.	۳۰/۹۱±۰/۹۴	۵۰/۷۶±۲/۲۷	۱۲۴/۳۶±۳/۶۱
۳	*Rhazya stricta* L.	۵۵/۶۳±۰/۶۹	۷۲/۲۳±۲/۶۱	۱۳۸/۸۹±۳/۲۶
۴	*Salvadora percica* L.	۸۰/۹۱±۰/۹۴	۱۱۲/۳۷±۳/۸۰	۱۸۱/۳۶±۴/۸۸
۵	*Teucrium polium* L.	۱۳۶/۱۷±۱/۹۷	۱۷۰/۴۴±۴/۴۸	۲۲۰/۷۱±۲/۰۲
۶	آسکوربیک اسید	۶/۷۴±۰/۶۳	---	---
۷	BHT	۹/۸۵±۰/۲۵	---	---

www.SID.ir

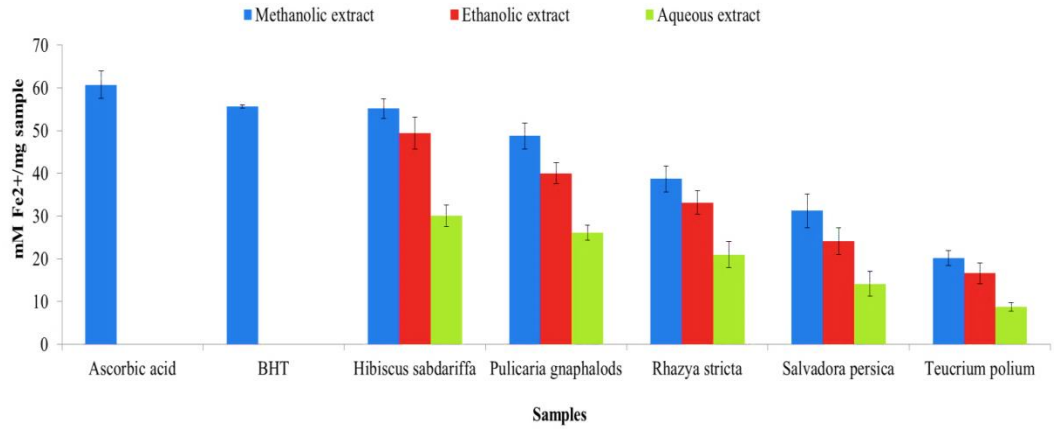
Archive of SID



شکل ۱: مقایسه قدرت آنتی اکسیدانی عصاره‌های مختلف پنج گونه گیاه دارویی در مقابل BHT و آسکوربیک اسید به روش DPPH

جدول ۲: نتایج قدرت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های مختلف ۵ گونه گیاه دارویی در مقابل BHT و آسکوربیک اسید به روش FRAP

ردیف	نام گیاه	عصاره‌های مورد استفاده به همراه مقادیر بر حسب mM Fe^{2+}/mg sample		
		عصاره متانولی	عصاره اتانولی	عصاره آبی
۱	*Hibiscus sabdariffa* L.	۵۵/۱۹±۲/۲۷	۴۹/۴۴±۳/۷۹	۳۰/۱۲±۲/۴۸
۲	*Pulicaria gnaphalods* (Vent.) Boiss.	۴۸/۷۸±۳/۰۳	۴۰/۰۱±۲/۴۶	۲۶/۱۶±۱/۷۹
۳	*Rhazya stricta* L.	۳۸/۷۱±۳/۱۰	۳۳/۱۹±۲/۷۷	۲۰/۹۸±۳/۰۲
۴	*Salvadora percica* L.	۳۱/۲۳±۳/۹۰	۲۴/۱۸±۳/۱۱	۱۶/۶۴±۲/۹۱
۵	*Teucrium polium* L.	۲۰/۲۳±۱/۷۷	۱۶/۶۴±۲/۴۰	۸/۷۶±۰/۹۹
۶	آسکوربیک اسید	۶۰/۷۵±۳/۲۳	---	---
۷	BHT	۵۵/۶۹±۰/۳۸	---	---



شکل ۲: مقایسه قدرت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های مختلف پنج گونه گیاه دارویی در مقابل BHT و آسکوربیک اسید به روش FRAP

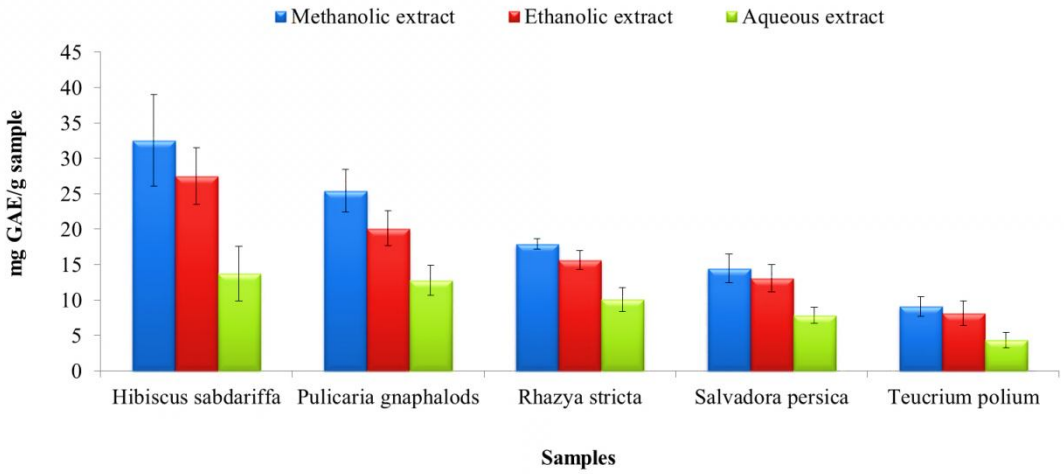
www.SID.ir

Archive of SID

محتوای فنولی و فلاونوئیدی کل عصاره‌های مختلف گونه‌های مورد مطالعه با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری و به‌ترتیب به روش‌های معرف فولین–سیوکالتیو و رنگ سنجی کلرید آلومینیوم مورد سنجش و ارزیابی قرار گرفت. نتایج بدست آمده در جدول ۳ آورده شده است. یافته‌ها نشان می‌دهند که همانند نتایج حاصل از اندازه‌گیری قدرت آنتی‌اکسیدانی، عصاره‌های متانولی در تمام گونه‌ها دارای بیشترین میزان فنول و فلاونوئید کل بوده است و همچنان ترتیب میزان فنول و فلاونوئید برای پنج گونه ی مورد آزمایش، مشابه ترتیب حاصل از ارزیابی قدرت آنتی‌اکسیدانی به دو روش DPPH و FRAP بوده است. شکل ۳ و ۴، به‌ترتیب مقایسه مقادیر فنول کل و فلاونوئید کل عصاره‌های مختلف ۵ گونه گیاه دارویی مورد آزمایش را بر حسب mg GAE/g sample و mgQUE/g sample نشان می‌دهد.

جدول ۳: مقایسه نتایج حاصل از مقادیر فنول و فلاونوئید کل عصاره‌های مختلف ۵ گونه گیاه دارویی مورد آزمایش

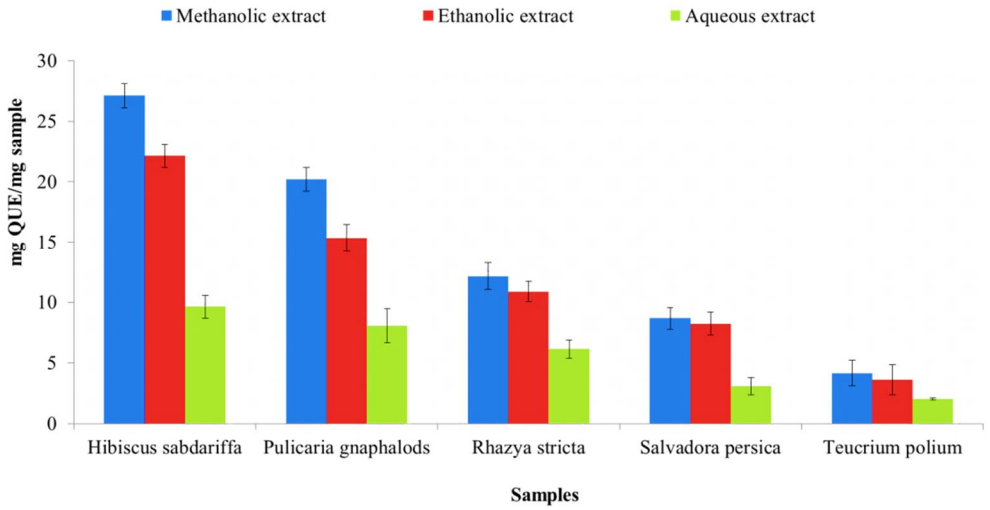
ردیف	نام گیاه	عصاره‌های مورد استفاده به همراه مقادیر فنول و فلاونوئید کل بر حسب mg GAE/g sample و mg QUE/g sample					
		عصاره متانولی		عصاره اتانولی		عصاره آبی	
		فنول کل	فلاونوئید کل	فنول کل	فلاونوئید کل	فنول کل	فلاونوئید کل
۱	*Hibiscus sabdariffa* L.	۳۲/۵۴±۶/۴۴	۲۷/۱۱±۱/۰۰	۲۷/۵۱±۴/۰۱	۲۲/۱۵±۰/۹۵	۱۳/۷۶±۳/۸۴	۹/۶۱±۰/۹۵
۲	*Pulicaria gnaphalods* (Vent.) Boiss.	۲۵/۴۱±۳/۰۴	۲۰/۲۱±۰/۹۹	۲۰/۱۳±۲/۴۸	۱۵/۳۳±۱/۱۵	۱۲/۸۲±۲/۱۱	۸/۰۶±۱/۴۱
۳	*Rhazya stricta* L.	۱۷/۹۲±۰/۷۶	۱۲/۱۴±۱/۱۳	۱۵/۶۹±۱/۳۵	۱۰/۸۷±۰/۸۵	۱۰/۰۶±۱/۶۶	۶/۱۳±۰/۷۵
۴	*Salvadora percica* L.	۱۴/۴۶±۲/۰۲	۸/۶۸±۰/۹۰	۱۳/۰۵±۱/۹۴	۸/۲۳±۰/۹۶	۷/۸۳±۱/۱۴	۳/۰۷±۰/۷۲
۵	*Teucrium polium* L.	۹/۱۱±۱/۳۹	۴/۱۶±۱/۰۶	۸/۱۳±۱/۷۱	۳/۶۲±۱/۲۳	۴/۳۳±۱/۱۱	۲/۰۳±۰/۰۸



شکل ۳: مقایسه مقادیر فنول کل عصاره‌های مختلف پنج گونه گیاه دارویی مورد استفاده

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ٤: مقایسه مقادیر فلاونوئید کل عصاره‌های مختلف پنج گونه گیاه دارویی مورد استفاده

برای بررسی فعالیت آنتی‌باکتریایی عصاره‌ها از روش دیسک دیفیوژن (انتشار دیسک) استفاده شده است و این اثر بر روی چهار باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس*، *انتروکوکوس فکالیس*، *اشرشیاکلی* و *سالمونلا تیفیموریوم* در مقابل آنتی بیوتیک‌های کوآموکسی کلاو و سیپروفلوکسازین مورد مطالعه قرار گرفتند. نتایج نشان دادند که همچنان، در بین عصاره‌ها، عصاره متانولی دارای حداکثر اثر مهارکنندگی بوده است و عصاره‌های اتانولی و آبی به ترتیب در مرتبه‌های دوم و سوم قرار داشتند. همچنین، مشابه آزمایش‌های پیشین، اثر مهارکنندگی توسط گونه *H. sabdariffa*، بیشتر از سایر گونه‌ها بوده است. عصاره متانولی *H. sabdariffa*، بیشترین اثر مهارکنندگی و کشندگی را در مقابل باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* با قطرهاله عدم رشد ۲۷±۱/۰۰ میلی‌متر داشته است به گونه‌ای که این اثر تقریباً مشابه آنتی بیوتیک‌های مورد استفاده بوده است.

در مقابل، باکتری *سالمونلا تیفیموریوم* بیشترین مقاومت را در مقابل عصاره‌ها داشته است. همچنین، کمترین اثر آنتی‌باکتریایی مربوط به گونه *T. polium* بوده است به گونه‌ای که عصاره متانولی آن توانسته است باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* را با قطرهاله عدم رشد ۱۳±۱/۰۰ میلی‌متر مهار کند. عصاره آبی گونه *T. polium* نتوانسته است مشابه سایر عصاره‌های گونه‌های مورد آزمایش، اثر مطلوبی داشته باشد بگونه‌ای که بیشترین و کمترین اثر مهار کنندگی را در مقابل باکتری‌های به‌ترتیب *استافیلوکوکوس فکالیس* و با قطرهاله عدم رشد ۴±۱/۵ میلی متر و باکتری *اشرشیاکلی* با قطرهاله عدم رشد ۴±۰/۵۷ میلی‌متر داشته است. نتایج حاصل از بررسی اثرات آنتی‌باکتریایی عصاره‌های مختلف پنج گونه گیاه دارویی در مقایسه به آنتی بیوتیک‌های منتخب در جدول ۴ آورده شده است.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۴: نتایج بررسی اثرات آنتی باکتریایی عصاره‌های مختلف پنج گونه گیاه دارویی در مقایسه به آنتی‌بیوتیک‌های منتخب

میکروارگانیسم‌ها (باکتری‌ها)	قطرهاله عدم رشد باکتری بر حسب میلی‌متر														سیپرو فلوکساژین	کو آموکسی کلاو
	H. sabdariffa			*P. gnaphalods*			*R. stricta*			*S. persica*			*T. polium*			
	متانولی	اتانولی	آبی	متانولی	اتانولی	آبی	متانولی	اتانولی	آبی	متانولی	اتانولی	آبی	متانولی	اتانولی	آبی	
استافیلوکوکوس اورئوس	۲۷±۱/۰۰	۲۲±۲/۰۰	۱۸±۱/۰۰	۲۳±۱/۰۰	۱۹±۱/۰۰	۱۵±۱/۰۰	۲۰±۲/۶۴	۱۷±۱/۰۰	۱۴±۱/۵۰	۱۶±۱/۰۰	۱۳±۱/۰۰	۱۰±۱/۰۰	۱۳±۲/۵۰	۱۲±۱/۰۰	۹±۱/۰۰	۳۱±۲/۶۴
اشریشیاکلی	۲۱±۱/۰۰	۱۵±۱/۰۰	۱۳±۲/۶۴	۱۵±۱/۰۰	۱۲±۱/۵۰	۱۰±۱/۰۰	۱۵±۱/۰۰	۱۲±۲/۶۴	۱۰±۱/۰۰	۱۱±۱/۵۰	۷±۱/۵۰	۵±۲/۵۰	۹±۱/۵۰	۶±۱/۷۳	۴±۰/۵۷	۲۵±۳/۰۰
انتروکوکوس فکالیس	۲۴±۱/۰۰	۱۸±۱/۰۰	۱۶±۱/۰۰	۲۰±۲/۶۴	۱۷±۱/۵۰	۱۳±۰/۵۷	۱۷±۱/۰۰	۱۴±۲/۰۰	۱۱±۱/۰۰	۱۳±۱/۰۰	۱۱±۱/۰۰	۸±۱/۰۰	۱۲±۱/۷۳	۶±۱/۵۰	۴±۱/۵۰	۲۸±۱/۰۰
سالمونلا تیفیموریوم	۱۸±۱/۰۰	۱۴±۱/۰۰	۱۱±۲/۶۴	۱۵±۱/۵۰	۱۲±۱/۰۰	۱۰±۱/۱۵	۱۳±۱/۰۰	۱۰±۱/۰۰	۱۰±۱/۲۱	۱۱±۱/۰۰	۹±۱/۰۰	۵±۱/۵۰	۹±۲/۰۰	۷±۱/۰۰	۵±۱/۰۰	۲۴±۱/۰۰

www.SID.ir

Archive of SID

بحث

شواهد بیوشیمیایی، زیستی و بالینی فراوان وجود دارد که نشان می‌دهد واکنش اکسایشی ناشی از رادیکال-های آزاد در ایجاد بیماری‌های مختلف، تسریع پیری و فساد مواد غذایی دخالت دارد (Halliwell and Gutteridge, 2007). به‌دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدان‌ها در ممانعت از اثرات رادیکال‌ها در ایجاد بیماری‌ها و فساد مواد غذایی، نقش و اثر آنتی‌اکسیدان‌ها مورد توجه محققین و پزشکان قرار گرفته است و مطالعات ارزیابی ظرفیت آنتی‌اکسیدان‌ها یکی از متداول ترین موضوعات مورد بررسی در سال‌های اخیر بوده‌است. پیچیدگی آزمون‌ها و محدودیت‌های بررسی مستقیم سیتتیک واکنش ممانعت‌کنندگی آنتی‌اکسیدان‌ها از اکسیداسیون چربی‌ها که اغلب روش‌های دقیق‌تر و مطمئن‌تری می‌باشند موجب شده است تا روش‌های ساده‌تر و آسان-تر سنجش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ابداع گردد (Muller et al., 2011). اغلب به‌منظور اعتبار بخشی به نتایج یک مطالعه از دو یا چندین روش برای تعیین فعالیت آنتی-اکسیدانی نمونه‌ها استفاده می‌شود و ایجاد همبستگی قوی بین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی اندازه‌گیری شده بر روی مواد یکسان به وسیله روش‌های متفاوت می‌تواند صحت انجام آزمایش را نشان دهد (Huang et al., 2005). مطالعات نشان می‌دهد که روش DPPH یکی از روش-های ساده، ارزان و آسانی است که می‌تواند در جهت ارزیابی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها خصوصاً نمونه-های گیاهی استفاده شود (Sanchez et al., 2007). روش FRAP، علاوه بر آسان و ساده بودن، مختص نمونه‌های خاصی نبوده و بطور وسیع در جهت تأیید سایر روش-های ارزیابی قدرت آنتی‌اکسیدانی به کار برده می‌شود (Ghiselli et al., 2000). اساس روش ارزیابی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بوسیله رادیکال DPPH بر مبنای احیای رادیکال پایدار DPPH بوسیله آنتی‌اکسیدان‌ها در محیط می‌باشد که نتیجه این عمل موجب تغییر رنگ از ارغوانی به سمت زرد در محیط می‌شود که شدت آن با دستگاه طیف سنجی قابل اندازه گیری است (Prevc et al., 2013). با احیای رادیکال DPPH توسط آنتی‌اکسیدان و روئیت تغییر رنگ، شدت جذب رادیکال‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر کاهش می‌یابد و از روی اندازه‌گیری کاهش این شدت جذب می‌توان خصوصیات آنتی-اکسیدانی را سنجید. در مقابل، اساس ارزیابی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی به روش FRAP، برمبنای احیای یون آهن (III) به یون آهن (II) در حضور آنتی‌اکسیدان‌هاست و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی به توانایی احیاکنندگی آنتی-اکسیدان‌ها بستگی دارد. زمانی که احیاکننده واکنش، الکترون خود را اهدا می‌کند ماده‌ای تولید می‌شود که رنگی بوده و براحتی می‌توان شدت رنگ تولید شده که نشان دهنده پیشرفت واکنش و قدرت آنتی‌اکسیدانی است را اندازه گرفت (Guo et al., 2003). جهت انجام این واکنش از یک کمپلکس بنام TPTZ استفاده می‌شود که پس از احیای آهن (III) به آهن (III)، به آن متصل شده و محلول آبی رنگ بوجود می‌آورد که در طول موج ۵۹۵ نانومتر ماکزیمم جذب را دارد. هرچه قدرت احیا کنندگی آنتی‌اکسیدان بیشتر باشد، آهن (II) بیشتری در محیط ایجاد شده که با TPTZ واکنش داده و شدت رنگ و متقابلاً شدت جذب نیز افزایش می‌یابد. از آنجا که متابولیت‌های ثانویه مشتق از گیاهان مانند فنل‌ها و فلاونوئیدها، رابطه مستقیمی با پتانسیل لازم جهت پاکسازی رادیکال‌های آزاد و یا به‌عبارتی قدرت آنتی-اکسیدانی آن‌ها دارند (Sharififar et al., 2009 ; Qingming et al., 2010 ; Bergmeier et al., 2014). در این مطالعه، مقادیر فنول و فلاونوئید کل گیاهان مورد آزمایش نیز به روش اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شد. همچنین روش و حلال مناسب در استخراج ترکیبات ثانویه نقش بسزایی دارند (Moure et al., 2001). مطالعات نشان می‌دهد که حلال‌های متانول و اتانول با نفوذ بر داخل سلول‌های گیاهان، ترکیبات طبیعی ثانویه

www.SID.ir

Archive of SID

شامل فنول‌ها و فلاونوئیدهای بیشتری را استخراج می‌کند و این میزان برای حلال‌هایی نظیر آب، اتیل استات و کلروفرم کمتر است (Khorasani Esmaeili et al., 2015). نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که حلال متانول، نقش مهمی در استخراج ترکیبات ثانویه فنولی و فلاونوئیدی داشته است و این ترکیبات منجر به بروز خاصیت آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌باکتریایی شده است به گونه‌ای که عصاره‌های متانولی در تمام پنج گونه‌ی مورد مطالعه، نسبت به سایر عصاره‌ها، دارای بیشترین میزان فنول و فلاونوئید کل و بیشترین اثر آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌باکتریایی بوده است. از بین پنج گونه مورد مطالعه، گیاه *H. sabdariffa* دارای رتبه‌ی نخست بوده است. بطوریکه در تمام عصاره‌های آن میزان فنول (عصاره متانولی: ۳۲/۵۴±۶/۴۴sample mgGAE/g، عصاره اتانولی: ۲۷/۵۱±۴/۰۱mgGAE/g sample، عصاره آبی: ۱۳/۷۶±۳/۸۴mgGAE/g sample) و میزان فلاونوئید (عصاره متانولی: ۲۷/۱۱±۱/۰۰mgGAE/g sample، عصاره اتانولی: ۲۲/۱۵±۰/۹۵mgGAE/g sample، عصاره آبی: ۹/۶۱±۰/۹۵mgGAE/g sample) و اثرات آنتی‌اکسیدانی (عصاره متانولی: ۱۷/۳۴±۱/۲۱µg/ml IC_{50}= و۵۵/۱۹±۲/۲۷mM Fe^{2+}/mg sample، عصاره اتانولی: ۲۸/۷۳±۲/۳۵µg/ml =IC_{50} و mM Fe^{2+}/mg ۴۹/۴۴±۳/۷۹sample، عصاره آبی: IC_{50}=۸۹/۶۱±۳/۹۰µg/ml و mM Fe^{2+}/mg ۳۰/۱۲±۲/۴۸sample) آن بیشتر از سایر گونه‌ها بوده است. همچنین قدرت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ی متانولی این گیاه بقدری بالا بوده است که تقریباً با آنتی‌اکسیدان-های سنتزی آسکوربیک اسید (۶/۷۴±۰/۶۳µg/ml IC_{50}= و ۶۰/۷۵±۳/۲۳mM Fe^{2+}/mg sample) و BHT(۲۵µg/ml /۰±۹/۸۵=IC_{50} و mM Fe^{2+}/mg ۵۵/۶۹±۰/۳۸sample) در هر دو روش برابری می‌کرده است. لیکن گونه‌ی *T. polium*، با آنکه عصاره‌ی متانولی آن دارای بیشترین میزان ترکیبات ثانویه (mgGAE/g ۹/۱۱±۱/۳۹sample و۴/۱۶±۱/۰۶mgGAE/g sample) و اثرات آنتی‌اکسیدانی (IC_{50}=۱۳۶/۱۷±۱/۹۷µg/ml و mM Fe^{2+}/mg ۲۰/۲۳±۱/۷۷sample) نسبت به سایر عصاره‌های خود بوده است، اما در بین گونه‌های دیگر دارای کمترین میزان و فعالیت در هر سه عصاره خود بوده است. نتایج حاصل از سنجش قدرت آنتی‌اکسیدانی به هر دو روش DPPH و FRAP کاملاً یکدیگر را تصدیق و تأیید می‌کنند. مطالعات متعددی بر روی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، آنتی‌باکتریایی و محتوای فنولی و فلاونوئیدی گونه‌های مورد مطالعه در این پژوهش صورت گرفته است. نتایج مطالعات نشان می‌دهد که گیاه *H. sabdariffa* بدلیل دارا بودن ترکیبات فنولی و همچنین آسکوربیک اسید دارای خاصیت آنتی‌باکتریایی بالایی است (Da-Costa-Rocha et al., 2014 ; Zhang et al., 2011 ; Norhaizan et al., 2010 ; Al-Hashimi, 2012). در مطالعه‌ای دیگر که بر روی سه عصاره آبی، اتانولی و استونی گیاه چای ترش صورت گرفت، عصاره اتانولی نسبت به سایر عصاره‌ها دارای بیشترین قدرت آنتی‌اکسیدانی در روش DPPH (۰/۳۵۵±۰/۰۱mg/ml) و حداکثر میزان فنول کل (۵۵/۱۵±۱/۷۲mgGAE/gextract) و فلاونوئید کل (۱۴/۷۹±۲/۰۸mgQUE/g extract) و آنتوسیانین کل (۱۳/۷۷±۰/۴۶mgGAE/g extract) بوده است (Sen et al., 2016) که با نتایج حاصل از مطالعه پژوهش حاضر مطابقت دارد. گزارشات حکایت از آن دارد که عصاره اتانولی این گیاه دارای مقدار بالای ترکیبات فنولی (۶۶/۹۱ میلی‌گرم گالیک اسید در هر گرم عصاره) می‌باشد (Oloumi et al., 2016). تحقیقات نشان داده‌اند که عصاره‌های گیاه *H. sabdariffa* دارای مقادیر زیاد آلکالوئید، آنتوسیانین، فلاونوئید، ساپونین، استرول و تانین است که هرکدام از این ترکیبات موجب بروز خواص بیولوژیکی خاص خود می‌شوند (Obouayeba et al., 2014). در مطالعه‌ای مشابه، نتایج نشان دادند که

www.SID.ir

Archive of SID

عصاره اتانولی گونه *H. sabdariffa* توانسته است با غلظت ۱۲۵ µg/ml، ۵۰ درصد رادیکال‌های DPPH را خنثی نماید. البته این قدرت مهارکنندگی کاملاً وابسته به غلظت بوده و با افزایش آن افزایش یافته است (Sirag et al., 2014). تاکنون مطالعه گسترده‌ای در ایران بر روی گونه دارویی *Pulicaria gnaphalods* صورت نگرفته است. لیکن مطالعات پژوهشگران دیگر کشورها نشان می‌دهد که، این گیاه دارویی دارای مقادیر بالای ترکیبات فنولی (۷/۸۱mgGAE/g sample)، ترکیبات فلاونوئیدی (۳۵/۹۲ mgQUE/g sample) و فعالیت بالای آنتی-اکسیدانی (۹۲/۹۳ µg/ml) می‌باشد (Guiche et al., 2015). در گزارشی دیگر که بر روی ترکیبات ثانویه گونه *P. gnaphalods* صورت گرفته است، مشاهده شد که عصاره متانولی دارای ماکزیمم ترکیب فنول کل (۹۱/۲±۰/۹۵ mgGAE/g sample)، فلاونوئید کل (۷۵±۷/۸۵mgQUE/gsample)، تانین کل (mgGAE/g sample ۰/۶۶±۰/۰۷) و آنتوسیانین کل (۰/۴۴±۰/۰۳ mgAnthocyanin/100g sample) بوده است و توانسته است با غلظت پایین ۷۰/۹۱µg/ml، موجب مهار و احیای ۵۰ درصد رادیکال‌های DPPH شود (Al-Hajj et al., 2014 a). در مطالعه‌ای دیگر که بر روی اجزای مختلف (ساقه، برگ و گل) گیاه *Rhazya stricta* صورت گرفته است، مشاهده شد که برگ آن با دانستن مقادیر فنول کل (۶۶/۶۳±۰/۰۳mgGAE/g DW) و فلاونوئید کل (۴۳/۷۰±۰/۰۷ mg QUE/g DW) دارای بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی است (Najat et al., 2015). در مطالعه‌ای دیگر که بر روی عصاره‌های متانولی و آبی تعدادی از گونه‌های گیاهان دارویی صورت گرفته است، عصاره متانولی گونه *Rhazyastricta* نسبت به عصاره آبی آن دارای مقادیر فلاونوئید کل (۱۸/۵۰±۲/۵mgGAE/g DW)، فنول کل (۳۹/۰±۵/۰mgGAE/gDW)، قدرت مهارکنندگی رادیکال DPPH (۳۳/۸±۳/۰ µg/ml)، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل (۵۰/۱±۳/۷Vit C equiv mg/gDW) و قدرت احیاکنندگی یون‌های فلزی (Vit C equiv ۴۷/۷±۱/۰ mg/g DW) بوده است (Akhtar et al., 2015). گزارشات نشان می‌دهد که گیاه دارویی *S. persica* نیز یکی از گیاهان با خاصیت آنتی‌اکسیدانی مطلوب است که می‌تواند جهت درمان بسیاری از بیماری‌های اکسیداتیوی استفاده شود (Mohamed et al., 2013). گزارشات حاکی از آن است که این گیاه دارای مقادیر فنول کل (۱۵/۴±۰/۷۶ mgGAE/g extract) و فلاونوئید کل (۶/۰۴±۰/۱۲ mgQUE/g sample) بوده است (Ramadan et al., 2016). وجود ترکیبات فلاونوئیدی و فنولی در گیاه دارویی *S. persica* منجر به بروز فعالیت آنتی‌اکسیدانی نسبتاً بالای آن (µg/ml ۲۳۵/۶۶±۱/۵۲) می‌شود (Gupta et al., 2015). تحقیقات نشان دادند که گیاه دارویی *Teucrium polium* دارای دو ترکیب فلاونوئیدی عمده بنام‌های روتین و آپیژنین می‌باشد که این دو ترکیب مسئول بروز بسیاری از خصوصیات بیولوژیکی آن میشود به گونه‌ای که فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن را (mg/ml ۳۰/۳±۲/۱) به وجود این دو فلاونوئید نسبت می‌دهند (Sharififar et al., 2009). آزمون حساسیت ضد میکروبی، یکی از تکنیک‌های مهم در علم زیست‌شناسی مدرن است. این آزمون در پاتولوژی برای تعیین مقاومت سویه‌های میکروبی مشخص به عوامل ضدمیکروبی مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرد و در پژوهش‌های فارماکولوژیکی از آن برای تعیین کارایی عوامل ضدمیکروب از عصاره‌های بیولوژیکی بر علیه میکروارگانیسم‌های مختلف استفاده می‌شود.روش‌های آزمون حساسیت ضدمیکروبی مختلف توسط محققان در سراسر دنیا بکار می‌رود (Balouiri et al., 2016). یکی از روش‌های فنوتیپیک اصلی تعیین حساسیت سویه‌های میکروبی، روش دیسک دیفیوژن یا انتشار دیسک می‌باشد. این روش در سال ۱۹۴۰ توسعه یافت و هنگامی که توسط سازمان

www.SID.ir

Archive of SID

NCCLS پذیرفته شد به طور گسترده‌ای تا به امروز مورد استفاده قرار گرفت و به یکی از روش‌های رایج جهت سنجش حساسیت ضدمیکروبی تبدیل شد و عموماً به آزمون کربی-بوئر معروف است (Heatley, 1994 ; Bauer et al., 1966). جهت مطالعه فعالیت آنتی‌باکتریایی عصاره‌های پنج گونه‌ی مورد آزمایش در این تحقیق، از روش دیسک دیفیوژن (انتشار دیسک) استفاده شده است و این اثر بر روی چهار باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس*، *انتروکوکوس فکالیس*، *اشرشیاکلی* و *سالمونلا تیفیموریوم* در مقابل آنتی بیوتیک‌های کوآموکسی کلاو و سیپروفلوکسازین مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج نشان دادند که عصاره متانولی تمامی گونه‌ها در مقابل عصاره‌های دیگر در گونه‌های خود، دارای حداکثر اثر مهارکنندگی بوده است و عصاره‌های اتانولی و آبی در رتبه‌های بعدی قرار داشتند. فعالیت آنتی‌باکتریایی گونه *H. sabdariffa* از مابقی گونه‌ها بیشتر بوده است به گونه‌ای که عصاره متانولی *H. sabdariffa* بیشترین اثر باکتری کشی را در مقابل باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* (قطرهاله عدم رشد ۱/۰۰±۲۷ میلی‌متر) داشته است و این اثر تقریباً مشابه اثر آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده (کوآموکسی کلاو: ۲/۶۴±۳۱ میلی‌متر و سیپروفلوکسازین: ۲/۰۰±۲۸ میلی‌متر) بوده است. در مقابل، باکتری *سالمونلا تیفیموریوم* بیشترین مقاومت را در مقابل تمامی عصاره‌های گونه‌های مورد مطالعه داشته است. همچنین، کمترین اثر آنتی‌باکتریایی مربوط به گونه *T. polium* بوده است و اثر آنتی‌باکتریایی عصاره متانولی آن با آنکه از سایر عصاره‌های گونه‌ی خود بیشتر بوده است (۲/۵۰±۱۳ میلی‌متر)، اما از بسیاری از عصاره‌های گونه‌های دیگر کمتر و بعضا با برخی از آنها برابر و یا کمی بیشتر بوده است.عصاره آبی گونه ی *T. polium* در بین سایر عصاره‌های مورد مطالعه در تمامی گونه‌ها، کمترین اثر مهارکنندگی را در مقابل باکتری‌های به‌ترتیب *انتروکوکوس فکالیس* با قطرهاله عدم رشد ۱/۵۰±۴ میلی‌متر و باکتری *اشرشیاکلی* با قطرهاله عدم رشد ۰/۵۷±۴ میلی‌متر داشته است. سایر عصاره‌های مربوط به گونه‌های غیر از این دو گونه گیاه دارویی مورد نظر، اثراتی ما بین این دو گونه داشته‌اند. به گونه‌ای که ترتیب اثر مهارکنندگی و باکتری کشی گونه‌ها از کمترین به بیشترین به‌صورت : *P. gnaphalods* ‹ *H. sabdariffa* ‹ *T. polium* ‹ *S. persica* ‹ *R. stricta* بوده است. تاکنون مطالعات مختلفی بر روی اثرات ضدمیکروبی پنج گونه گیاه دارویی مورد مطالعه در این پژوهش صورت گرفته است. در مطالعه‌ای که بر روی فعالیت آنتی‌باکتریایی عصاره‌های اتانولی و آبی گیاه *H. sabdariffa* در مقابل باکتری‌های *E. coli*، *S.aureus*، *Streptococcus mutans* و *P.aeruginosa* صورت گرفت، عصاره متانولی با قطرهاله عدم رشد ۴۰ میلی‌متر توانسته است بیشترین اثر را بر روی باکتری‌های *E. coli*، *S.aureus* داشته است و این اثر برای *P.aeruginosa* (۱۷ میلی‌متر) حداقل بوده است که با نتایج حاصل از این مطالعه همخوانی دارد (Al-Hashimi, 2012). فعالیت ضد باکتریایی بالای عصاره متانولی گونه‌ی مورد نظر را می‌توان به حلال و ترکیبات فیتوشیمیایی موجود در آن نسبت داد (Babayi et al., 2004). این ترکیبات با اتصال به پروتئین‌ها و دیواره‌ی باکتری‌ها، موجب از بین بردن آن‌ها می‌شوند (Garcia-Alonsoet al., 2006). گزارشات نشان می‌دهند که گیاه *H. sabdariffa* دارای بیشترین اثر مهار کنندگی بر روی باکتری *E. coli* و قارچ *C. albicans* داشته است (Sen et al., 2016). گزارشات حاکی از آن است که عصاره اتانولی گیاه *H. sabdariffa* در غلظت‌های ۵mg/ml و ۱۰ mg/ml بیشترین اثر کشندگی را در برابر نمونه‌های *کلبسیا پنومونه* داشته است (Javadian et al.,2015). مطالعات نشان می‌دهند که گیاه *P. gnaphalods* دارای اثر ضدمیکروبی نسبتاً بالایی است (Ultee et al., 2002 ; Nanasombat and Lahasupthawee, 2005). گزارشات حاکی از آن است

www.SID.ir

Archive of SID

که گیاه *P. gnaphalods* بر روی باکتری‌های گرم مثبت نسبت به گرم منفی اثر مهارکنندگی بهتری دارد به گونه‌ای که این گیاه با قطرهاله عدم رشد ۱/۱۶±۱۶/۶، ۲/۲۴±۱۸/۲ و ۰/۴±۱۸/۰ میلی‌متر توانسته است بیشترین اثر را به ترتیب بر روی سه باکتری *S. aureus*، *S. pneumonia* و *B. subtilic* و با قطرهاله عدم رشد ۲/۲±۲۶/۰ بر روی قارچ *C. albicans* داشته باشد (Al-Hajj et al.,2014 b). در مطالعه‌ای دیگر، گزارش شده است که گیاه *P. gnaphalods* دارای اثر ضد میکروبی بالایی بر روی دو باکتری *E. coli* و *P. aeruginosa* به ترتیب با قطرهاله عدم رشد ۱۸/۷ و ۱۸ میلی‌متر داشته است در مقابل آنتی بیوتیک سفالکسین و اریترومایسین با قطرهاله عدم رشد ۲۰ میلی‌متر داشته است (Ajaib et al., 2015). فعالیت ضدمیکروبی اسانس حاصل از گیاه *P. gnaphalods* نیز گزارش شده است (Gherib et al., 2016). مطالعات نشان می‌دهند که عصاره گیاه *R. stricta* توانسته است اثرات ضدمیکروبی مطلوبی نشان دهد (Ali et al., 2000 ; Akhtar et al., 2015). همچنین تاکنون گزارشات متعددی مبنی بر فعالیت ضد باکتریایی و ضدقارچی برای عصاره‌ی گیاه *S. Persica* شده است (Al-Seini, 2013 ; Alali et al., 2005 ; Halwany, 2012 ; Noumi et al., 2010 ; Al-Bagieh et al., 1994). تحقیقات نشان دادند که این گیاه اثر نسبتاً خوبی بر روی میکروارگانیسم‌های *P. gingivalis*، *A.actinomycetemcomitans* و *H.influenza* و اثر ضعیفی بر روی میکروارگانیسم‌های *S. mutans*، *L. acidophilus* داشته است (Abier et al., 2008 ; El-Hefny et al., 2017). گزارشات حکایت از آن دارد که گیاه *T. polium* بر اثر مهارکنندگی نسبتاً خوبی بر روی باکتری *Salmonella typhimurium* داشته اما نتوانسته است باکتری *S. aureus* و *E. coli* را به خوبی مهار کند (Dridi et al., 2016). همچنین گزارشات نشان می‌دهد که عصاره‌های استخراج شده از گیاه *T. polium* تنها توانسته است به میزان ۱۰ و ۷ میلی‌متر (قطر هاله عدم رشد)، باکتری‌های *B. megaterium* و *B. cereus* و *S. aureus* را مهار کند در صورتی که مهار این باکتری‌ها برای آنتی بیوتیک استرپتومایسین به‌ترتیب به میزان ۱۷، ۱۹ و ۱۸ میلی‌متر بوده است (Gulcin et al., 2003). در گزارشی دیگر، قطرهاله عدم رشد عصاره متانولی گیاه *T. polium* با غلظت ۵۰۰۰µg/ml در مقابل باکتری *E.coli*، ۲۰ میلی‌متر بوده که از سایر میکروارگانیسم‌های مورد استفاده بیشتر بوده است (Stankovic et al., 2012).

نتیجه‌گیری نهایی

این تحقیق به بررسی ترکیبات فیتوشیمیایی شامل فنول‌ها و فلاونوئیدهای کل موجود در عصاره‌های متانولی، اتانولی و آبی پنج گونه مختلف گیاه دارویی شامل گونه‌های *Pulicaria gnaphalodes* (Vent.) Boiss.، *Rhazya stricta* L.، *Salvadora persica*L.، *Teucrium polium* L.، *Hibiscus sabdariffa* L. رشد یافته در استان سیستان و بلوچستان و بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی آن‌ها به دو روش DPPH و FRAP و اثر آنتی‌باکتریایی آن‌ها به روش دیسک دیفیوژن (انتشار دیسک) علیه باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*، *انتروکوکوس فکالیس*، *اشرشیاکلی* و *سالمونلا تیفیموریوم* در مقابل آنتی بیوتیک‌های کوآموکسی کلاو و سیپروفلوکسازین پرداخته بود. استان سیستان و بلوچستان به عنوان ذخیره گاه ژنتیکی و گنجینه گران بهایی از گونه‌های متنوع از گیاهان دارویی و بعضاً با خواص منحصر به فرد است. در این تحقیق نشان داده شد که حلال نقش مهمی دراستخراج ترکیبات موثره موجود در گیاه دارد و بالتبع آن موجب بروز خاصیت‌های مهم آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌باکتریایی آن‌ها می‌شود. نتایج نشان دادند که عصاره‌های متانولی در تمامی گونه‌ها دارای ماکزیمم

www.SID.ir

Archive of SID

ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی و بیشترین اثرات آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌باکتریایی بوده است. با توجه به اثبات وجود این ترکیبات و خواص مورد بحث، کاربرد هرچه بیشتر گونه‌های مورد نظر در زمینه‌های مختلف برای پیشگیری از و درمان بیماری‌های ناشی از استرس‌های اکسیداتیوی و رفع و درمان آلودگی‌ها و انتشار بیشتر عوامل عفونت پیشنهاد می‌شود و در جهت مصارف پزشکی و داروسازی می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد. همچنین با توجه به قدرت مهارکنندگی بالای برخی از گونه‌های مورد مطالعه علیه میکروارگانیسم‌های استفاده شده و اثر میکروب‌کشی مشابه آن‌ها با آنتی بیوتیک‌های مورد آزمایش، آن گونه‌ها می‌توانند جایگزین مناسب برای آنتی‌بیوتیک‌ها باشند.

References

1. Abier, H.S., Claesson, R.L.K., Lingstrom, P K.and Gustafsson, A K. 2008. Strong antibacterial effect of *Miswak* against oral microorganisms associated with periodontitis and caries. Journal of Periodontology, 79(8): 1474-1479.
2. Ajaib, M., Mati-ur-Rehman, A., Mohammed Khan, Kh., Perveen, Sh. and Shah, Sh. 2015. *Pulicaria undulata*: A potential phytochemical, antimicrobial and antioxidant source. Journal of the Chemmical Society of Pakistan, 37(3); 559-566.
3. Akhtar, AK., Haq, T.U. and Mirza, B. 2015. Phytochemical analysis and comprehensive evaluation of antimicrobial and antioxidant properties of 61 medicinal plant species. Arabian Journal of Chemistry, 1(2): 1-13.
4. Alali, F., Hudaib, M., Aburjai, T., Khairallah, K. and Al-Hadidi, N. 2005. GC-MS analysis and antimicrobial activity of the essential oil from the stem of the jordanian tooth brush tree *Salvadora persica*. Pharmaceutical Biology, 42(8): 577-80.
5. Al-Bagieh, N.H., Idow, A. and Salako, N.O. 1994. Effect of aqueous extract of *Miswak* on the in vitro growth of *Candida albicans*. Microbiolology Letters, 80: 107–113.
6. Al-Hajj, N.Q.M., Wang, H., Gasmalla, M.A.A., Chaoyang, M., Thabit, R., Rahman, M.D.R.T. and Tang, Y. 2014. Chemical composition and antioxidant activity of the essential oil of *Pulicaria Inuloides*. Journal of Food and Nutrition Research, 2(5): 221-227.
7. Al-Hajj, N.Q.M., Wang, H.X., ChaoyangM M., Lou, Z., Bashari, M. and Thabit, E. 2014. Antimicrobial and antioxidant activities of the essentialoils of some aromatic medicinal plants (*Pulicaria inuloides*-Asteraceae and *Ocimum forskolei*-Lamiaceae). Tropical Journal of Pharmaceutical Research August, 13 (8): 1287-1293.
8. Al-Hashimi, A.G. 2012. Antioxidant and antibacterial activities of *Hibiscus sabdariffa* L. extracts. African Journal of Food Science, 6(21): 506-511.
9. Ali, B.H., Al-Qarawi, A.A., Bashir, A.K. and Tanira, M.O. 2000. Antioxidant action of extract of the traditional medicinal plant *Rhazya stricta Decne* in rats. Phototherapy Research. 14: 469–471.
10. Al-sieni, AI. 2013. The antibacterial activity of traditionally used *Salvadora persica* L. (miswak) and *Commiphora gileadensis* (palsam) in Saudi Arabia. African Journal of Traditional, Complementary and Alternative medicines, 11(1): 23-27.
11. Asghari, JH., Gorganli Doji, T. and Ghaemi, A. 2014. Phytochemical and antimicrobial investigation of essencial oil of *Ferula gummosa* Boiss. in meighan region Semnan province. Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants, 1(5): 28-35. (In Persian)
12. Azizian Shermeh, O., Valizadeh, J., Noroozifar, M., and Qasemi, A. 2016. Investigation of antibacterial activities of silver nanoparticles by aqueous extract of *Sambacus ebulus* L. Journal of Ilam University of Medical Sciences, 25(4):92-108. (In Persian)

www.SID.ir

Archive of SID

13. Babayi, H., Kolo, I., Okogun, I. and Ijah, J. 2004. The antimicrobial activities of methanolic extracts of *Eucalyptus camaldulensis* and *Terminalia catappa* against some pathogenic microorganisms. Biokemistri, 6: 106-111.
14. Balouiri, M., Sadiki, M. and Koraichi Ibnsouda, S. 2016. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. Journal of Pharmaceutical Analysis, 6: 71–79.
15. Bauer, A.W., Kirby, W.M., Sherris, J.C. andTurck, M. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. American Journal of Clinical Pathology,45, 493–496.
16. Bergmeier, D., Berres, P.H.D., Filippi, D., Bilibio, D., Bettiol, V.R. and Priamo, W.L. 2014. Extraction of total polyphenols from *Hibiscus* (*Hibiscus sabdariffa* L.) and wax weed/'sete-sangrias'(*Cuphea carthagenensis*) and evaluation of their antioxidant potential. Acta Scientiarum Technology, 36: 545-51.
17. Borneo, R., Leon, E.A., Aguirre, A., Ribotta, P. and Cantero, J.J. 2008. Antioxidant capacity of medicinal plants from the Province of Cordoba (Argentina) and their in vitro testing in model food system. Food Chemistry, 112: 664-670.
18. Chang, C., Yang, M., Wen, H. and Chern, J. 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. Journal of Food and Drug Analysis, 10: 178-182.
19. Da-Costa-Rocha, I., Bonnlaender, B., Sievers, H., Pischel, I. and Heinrich, M. 2014. *Hibiscus sabdariffa* L. – A phytochemical and pharmacological review. Food Chemistry. 165: 424–443.
20. Dridi, A., Hadef, Y. and Bouloudani, L. 2016. Determination of stotal Phenol, Flavonoid, antioxidant and antimicrobial activity of methanolic extract of *Teucrium polium* L. in Algerian East. International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research, 8(10); 1566-1570.
21. Ebrahimzadeh, MA, Pourmorad, F., and Hafezi, S. 2008. Antioxidant activities of Iranian corn silk. Turkish Journal of Biology, 32: 43-49.
22. EL-Hefny, M., Hayssam, M.A., Ashmawy, N.A. and Salem, M.Z.M. 2017. Chemical composition and bioactivity of *Salvadora persica* extracts against some potato bacterial pathogens. BioResources, 12(1): 1835-1849.
23. Garcia-Alonso, J., Ros, G., Vidal-Guevara, L. and Periago, J. 2006. Acute intake of phenolic-rich juice improves antioxidant status in healthy subjects. Nutrition Research, 26: 330-339.
24. Gherib, M., Chahrazed, B., Abdelhamid, E.H.I., Chaouche, T.M. and Atik-Bekkara, F. 2016. Antioxidant and antibacterial of aerial part essential oil and some organic extracts from the Algerian medicinal plant *Pulicaria mauritanica* coss. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research, 7(1): 76-84.
25. Ghiselli, A., Serafini, M., Natella, F. and Scaccini, C. 2000. Total antioxidant capacity as a tool to assess redox status: critical review and experimental data. Free Radical Biology and Medicine, 29: 1106-1114.
26. Guiche, R.E.L., Tahrouch, S., Amri, O., Mehrach, K.E.L. and Hatimie, A. 2015. Antioxidant activity and total phenolic and flavonoid contents of 30 medicinal and aromatic, plants located in the South of Morocco. International Journal of New Technology and Research, 1(3): 7-11.
27. Gulcin, I., uguz, M., Oktay, M., Beydemir, S.O. and Kufreviolgu, I. 2003. Antioxidant and antimicrobial activities of *Teucrium polium* L. Journal of Food Technology, 1(1): 9-16.
28. Guo, C., Yang, J., Wei, J., Li, Y., Xu, J. and Jiang, Y. 2003. Antioxidant activities of peel, pulp and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay. Nutrition Research, 23: 1719–1726.
29. Gupta, A., Verma, S., Kushwaha, P., Srivastava, S., and A K S Rawat, A.K.S. 2015. Phytochemical and Antioxidant Studies of *Salvadora persica* L. Stem and Twig. Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research, 49(1): 71-75.

www.SID.ir

Archive of SID

30. Halawany, HS. 2012. A review on miswak (*Salvadora persica*) and its effect on various aspects of oral health. The Saudi Dental Journal, 24: 63–69.
31. Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C. 2007. Free Radicals in Biology and Medicine, 4th edition Clarendon, Oxford. 725 p.
32. Heatley, N.G. 1944. Method for the assay of penicillin. Biochemcal Journal. 38: 61-65.
33. Huang, D., Ou, B. and Prior, R. L. 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53, 1841–1856.
34. Jamshidi, M., Ahmadi, H.R., Rezazadeh, S., Fathi, F. and Mazanderani, M. 2010. Study on phenolic and antioxidant activity of some selected plant of Mazandaran province. Medicinal Plant; 9(34): 177-183.
35. Javadian, F., Sepehri, Z., Amraee, M., Kiani, Z., Shahraki Mojahed, M., Shahi, Z. and Pourghasemi Fetideh, S. 2015. An evaluation of antibacterial activity of ethanolic extract of sour tea (*Hibiscus Sabdariffa*) against *Klebsiella Pneumoniae* Resistant to antibiotics, Journal of Sabzevar University of Medical Science, 22(4), 565-570.
36. Kamkar, A., Asadi, F., Jenneli-javan, A. and Jamshidi, R. 2009. Antioxidant capacity of essential oil and extract of Iranian *Mentha spicata*, Journal of Veterinary Medicin and Labarotory, 1(1), 69-77.
37. Khanizadeh, Sh., Tsao, R., Rekika, D., Yang, R., Charles, M.T. and Rupasinghe, H.P.V. 2008. Polyphenol composition and total antioxidant capacity of selected apple genotypes for processing. Journal of Food Composition and analysis, 21: 396-401.
38. Khorasani Esmaeili, 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 pratense L. (Red Clover). BioMed Research International, 2015: 1-11.
39. Kordi tamandani, E., Valizadeh, J.and Valizadeh, M. 2014. In vitro production of secondary metabolites in *Cicer spiroceras* using elicitors. Global Journal of Research on Medicinal Plants and Indigenous Medicine, 3(2): 48-56.
40. Mathew, S. and Abraham, T.E. 2006. In vitro antioxidant activity and scavenging effects of *Cinnamomum verum* leaf extract assayed by different methodologies. Food and Chemical Toxicology, 44: 198-206.
41. Mir, A.R. and Mirshekari, M. 2013. The study of Sistan and Baluchestan Province. Publishing company's textbooks, Tehran, 140 p.
42. Mohamed, H., Ons, M., Yosra, E., Rayda, S., Neji, J. and Moncef, N. 2013. Chemical composition and antioxidant and radical-scavenging activities of *Periploca laevigata* root bark extracts. Journal of the Science of Food and Agriculture, 89(5): 897–905.
43. Mohamed, S.A. and Khan, J.A. 2014. Antioxidant capacity of chewing stick miswak (*Salvadorapersica*), BMC Complementary and Alternative Medicine, 13(40): 1-6.
44. Mohajerani, M**.** 2012. Antioxidant Activity and Total Phenolic Content of *Nerium oleander* L. Grown in North of Iran**.** Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 11(4): 1121-1126.
45. Moure, A., Cruz, J. M., Franco, D., Dominguez, J.M., Sineiro, J., Dominguez, H., Nunez, M.J. and Parajo, J.C. 2001. Natural antioxidants from residual sources. Food Chemistry. 72(2):145-171.
46. Muller, L., Frohlich, K. and Bohm, V. 2011. Comparative antioxidant activities of carotenoids measured by ferric reducing antioxidant power (FRAP), ABTS bleaching assay (aTEAC), DPPH assay and peroxyl radical scavenging assay. Food Chemistry, 129: 139–148.
47. Najat, A.B., Al-Otaibi, R.A. and Ibhrahim, M.M. 2015. Phytochemical and taxonomic evaluation of *Rhazyastricta* in Saudi Arabia, Saudi Journal of Biological Sciences, 1(1):1-9.
48. Nanasombat, S. and Lohasupthawee, P. 2005. Antibacterial activity of crude ethanolic extracts and essential oils of spices against *Salmonellae* and other

www.SID.ir

Archive of SID

enterobacteria. KMITL Science and Technology Journal, 5: 527-538.

49. Norhaizan, M.E., Tong, S.H., Amin, I. and Chew, L.Y. 2010. Antioxidant activity in different parts of the Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L) extracts and potential exploitation of the seeds. Food Chemistry, 122: 1055-1060.
50. Noumi, E., Snoussi, M., Hajlaoui, H., Valentin, E.and Bakhrouf, A. 2010. Antifungal properties of *Salvadora persica* and *Juglans regia* L. extracts against oral *Candida* strains. European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 29(1): 81-8.
51. Nouri, S., Kiasat, A.R., Kolahi. M., Mirzajani, R. and Seyednejad, S.M. 2016. Phytochemical studies, antioxidants and various optimization methods in order to determine the best method of extracting curcumin extract ethanol from the plant Curcuma longa L.Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants, 11(3): 1-11. (In Persian)
52. Oloumi, H., Shakeri, S. and Behzadi, M. 2016. Antioxidant activities, polyphenolic composition and their correlation analysis on *Hibiscus sabdarifa* L. (*sabdariffa*) calices, Journal of Herbal Drugs, 7(2): 89-96.
53. Obouayeba, A., Djyh, N., Diabate, S., Djaman, A., N'guessan, J., Kone, M. and Kouakou, T.H. 2014. Phytochemical and antioxidant activity of Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) petal extracts. Research Journal OfPharmceutical, Biology and Chemical Sciences, 5(9): 1453-65.
54. Podsedek, A., Wilska-Jeszka, J. and Anders, B. 2000. Compositional characterization of some apple varieties. European Food Research and Technology. 210: 268-272.
55. Prevc, T., Segatin, N., Poklarulrih, N. and Cigic, B. 2013. DPPH assay of vegetable oils and model antioxidants in protic and aprotic solvents. Talanta, 109, 13–19.
56. Qingming, Y., Xianhui, P., Weibao, K., Hong, Y., Yidan, S., Zhang, L., Yanan, Z., Yuling, Y., Lan, D. and Guoan, L. 2010. Antioxidant activitiesof malt extract from barley (*Hordeum vulgare* L.) toward variousoxidative stress invitroand invivo. Food Chemistry, 118(1): 84-89.
57. Ramadan, K.S., Salha, A. and Alshamrani, A. 2016. Phytochemical analysis and antioxidant activity of *Salvadora persica* extracts. Journal of Basic Applied Science Research, 2(3): 390-395.
58. Sadeghi, Z., Valizadeh, J. and Azizian Shermeh, O. 2015 (a). Antioxidant activity and total phenolic content of some date varieties from Saravan Region, Baluchistan, Iran. Journal of a Medicinal Plants Research, 9(4), 78-83.
59. Sadeghi, Z., Valizadeh, J. and Aziziam Shermeh, O. 2015 (b). Study of total phenolic and Flavonoid contents and antioxidant activity of baneh (*Pistacia atlantica*) Gum, from Saravan region, Sistan and Baluchestan province. Eco-phytochemical Journal of Medicinal plants, 3(2): 18-27. (In Persian)
60. Sadeghi, Z., Valizadeh, J., Azizian Shermeh, O., Akaberi, M., 2015 (c). Antioxidant activity and total phenolic content of *Boerhavia elegans* (choisy) grown in Baluchistan, Iran. Avicenna Journal of Phytomededicine, 5 (1): 1-9.
61. Sanchez, S.C., Gonzalez, G.A.M., Garcia-Parrilla, M.C., Granados, Q.J.J., Serrana, H.L.G.and Martinez, L.M.C. 2007. Different radical scavenging tests in virgin olive oil and their relation to the total phenol content. Analytica Chimica Acta, 593: 103–107.
62. Sen, C., Ertan, F. and Isbilir, S.S. 2016. Investigation of antioxidant capacity, antimicrobial activity, total phenolic and monomeric anthocyanin contents in different extracts of *Hibiscus sabdariffa* L. International Journal of Biological and Pharmaceutical Research, 7(1): 35-41.
63. Sharififar, F., Dehghn-Nudeh, G. and Mirtajaldini, M. 2009. Major flavonoids with antioxidant activity from *Teucrium polium* L. Food Chemistry. 112(4): 885–888.
64. Sirag, N., Elhadi, MM., Algaili, M., Algaili, M., Hozeifa, M.H. and Ohaj, M. 2014. Determination of total phenolic content and antioxidant activity of

www.SID.ir

Archive of SID

Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) Calyx ethanolic extract. Standard Research Journal of Pharmacy and Pharmacology, 1(2): 34-39.

65. Stankovic, M.S., Stefanovic, O., Ljiljana, C.L., Topuzovic, M., Radojevic, I. and Solujic, S. 2012. Antimicrobial activity, total phenolic content and flavonoid concentrations of *Teucrium* species. Central European Journal of Biology, 7(4): 664-671.
66. Tabart, J., Kevers, C., Pincemail, J., Ddefraigne, J.O. and Dommes, J. 2008. Comparative antioxidant capacities of phenolic compounds measured by various tests. Journal of Food Chemistry, 113: 1226-1233.
67. Trusheva, B., Trunkova, D. and Bankova, V. 2007. Different extraction methods of biologically active components from propolis: a preliminary study. Chemistry Central Journal, 1(13): 1-4.
68. Ultee, A., Bennik, M.H.J. and Moezelaar, R. 2002. The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. Applied and Environmental Microbiology, 68: 1561-1568.
69. Zhang, M., Hettiarachchy, N.S., Horax, R., Kannan, A., Praisoody, M.D.A, Muhundan, A. and Mallangi, C.R. 2011. Phytochemicals, antioxidant and antimicrobial activity of *Hibiscus sabdariffa*, *Centella asiatica*, *Moringao leifera* and *Murraya koenigii* leaves. Journal of Medicinal Plants Research, 5(30): 6672-6680.

www.SID.ir

Archive of SID

Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants, 5th Year, Volume Two, Summer 2017

Phytochemical, antioxidant and antibacterial activities in *Pulicaria gnaphalodes* (Vent.) Boiss, *Rhazya stricta* L., *Salvadora persica* L., *Teucrium polium* L., *Hibiscus sabdariffa* L. from Sistan and Baluchestan province

Azizian Shermeh, O.[1*], Valizadeh, M.[2], Qasemi, A.[3], Mehraban, A.[4], Kamali Deljoo, A.[5]

[1]M.Sc graduated of Phytochemistry, Young Researchers and Elite Club, Zahedan Branch, Islamic Azad University, Zahedan, Iran

[2]Assistant Professor, Department of Plant Production, College of Agriculture, High Educational Complex of Saravan, Saravan, Iran

[3]Lecturer, Department of Biology, Faculty of Science, University of Sistan and Baluchestan, Zahedan, Iran

[4]Assistant Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Zahedan Branch, Islamic Azad University, Zahedan, Iran

[5]M.Sc graduated of Agronomy and Plant Breeding, Young Researchers and Elite Club, Islamic Azad University, Zahedan Branch, Zahedan, Iran

Received: 3-2-2017 ; Accepted: 8-4-2017

Abstract

This present study is carried out to evaluate the phytochemical compounds such as total phenolic and total flavonoid contents, antioxidant and antibacterial activities of three extracts (methanolic, ethanolic and aqueous) in five different species of medicinal plants: *Pulicaria gnaphalodes* (Vent.) Boiss., *Rhazya stricta* L., *Salvadora persica* L., *Teucrium polium* L., and *Hibiscus sabdariffa* L.. These samples were collected in different regions from Sistan and Baluchestan, 2014. The plant extracts were obtained by maceration method, phenolic and flavonoid contents were determined by Folin-Ciocaltiu and Aluminum Chloride colorimetric, antioxidant activities were studied by two methods (DPPH and FRAP) and then antimicrobial activities were estimated by Disk-Diffusion method against four bacteria (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*. The results were showed that in all species, the methanolic extract had high amount of secondary compounds, antioxidant and antibacterial activities. The methanolic extract of *Hibiscus sabdariffa* L. had maximum total phenolic (32.54±6.44 mgGAE/g) , flavonoid contents(27.11±1.00mgQUE/g) and antioxidant activity, (IC50=17.34±1.21µg/ml, 55.19±2.27 mM Fe2+/mg) and antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* with inhibition zone (27±1.00mm) was the most sensitive bacteria to plant extracts. In contrast, the aqueous extract of *Teucrium polium* L. had the minimum value of total phenolic , flavonoid contents , antioxidant activity and antibacterial activity .Overall, these plants could be a good candidate for the treatment of diseases caused by oxidative stress and pathogenic microbes.

***Keywords*:** Antioxidant, Antibacterial, Flavonoid content, Medicinal plants , Phenolic content, Sistan and Baluchestan

*Corresponding author; omid_aziziyan@yahoo.com

www.SID.ir