بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی توانایی برهم کنش به پروتئین آلبومین سرم انسانی (HSA) و اثر آنتی‌باکتریایی گیاه *Cressa cretica* L. در منطقه سیستان

سمیه شهرکی[1*]، طاهره شهرکی[2]

[1]استادیار، گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه زابل، زابل، ایران،

[2]دانشجوی دکتری، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد زاهدان، زاهدان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۲/٤ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹٦/۱/۲۷

چکیده

گیاه علف مورچه با نام علمی *Cressa cretica* L. با داشتن ترکیبات مختلف، منبع بالقوه ای جهت تهیه بسیاری از داروهای گیاهی محسوب میشود. در این تحقیق اثر آنتی اکسیدانی، توانایی برهم کنش به پروتئین آلبومین سرم انسانی (HSA) و اثر آنتی باکتریایی گیاه *Cressa cretica* L. مورد بررسی قرار گرفته است. برگ این گیاه در مرحله رویشی در شهریور ۱۳۹۵ در رویشگاه طبیعی دشت سیستان جمع آوری و عصاره آن با استفاده از روش خیساندن در سه حلال آب، متانول و اتانول استخراج گردید. برای بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی از روش DPPH استفاده گردید. برهم کنش عصاره اتانولی گیاه با HSA توسط طیف سنجی UV-Vis انجام شد. خاصیت آنتی باکتریایی عصاره اتانولی گیاه بر سویه‌های استاندارد دو گونه باکتری مهم گرم مثبت استافیلوکوکوس آرئوس و گرم منفی اشرشیاکولی با استفاده از روش مایکرودایلوشن بررسی و نتایج به صورت تعیین حداقل غلظت بازدارندگی از رشد (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) گزارش شد. نتایج نشان داد که بیشترین بازده استخراج عصاره گیاه مربوط به اتانول و کمترین آن مربوط به آب می باشد و بیشترین درصد مهارکنندگی DPPH و آنتی‌اکسیدانی برای عصاره‌های اتانول، متانول و آب به ترتیب برابر با ۵۶، ۳۸ و ۳۴ درصد است. مطالعه برهم کنش با HSA تغییرات ساختار دوم پروتئین را اثبات کرده و مقدار ثابت پیوند در آن برابر با $۰/۴۹ \times ۱۰^{۲}$ ppm^{-1} بدست آمد. عصاره این گیاه بر روی هر دو باکتری مورد مطالعه اثرات مهارکنندگی و کشندگی از خود نشان داد اما مقادیر MIC بیشتر از MBC بود.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان، آنتی باکتریال، سیستان، علف مورچه (*Cressa cretica* L.)، عصاره و حلال‌های مختلف

*نویسنده مسئول: somaye_shahraki@yahoo.com; s-shahraki@uoz.ac.ir

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

گیاهان دارویی دارای اهمیت ویژه ای در تامین بهداشت و سلامت جامعه انسانی می‌باشند. افزایش جمعیت و نیاز صنایع داروسازی به گیاهان دارویی به‌عنوان مواد اولیه، باعث شده که توجه و تحقیق پیرامون این دسته از گیاهان روز به روز افزایش یابد. بنابراین شناخت گیاهان دارویی بومی کشور و تعیین شرایط بهینه رشد و نیز افزایش بازدهی اسانس و یا عصاره این گیاهان می‌تواند گامی مهم در جهت بهره‌برداری و تولید اشتغال در کشورمان محسوب شود. یکی از این گیاهان، علف مورچه می‌باشد که دارای چندین ترکیب فلاونوئیدی از جمله، کوئرستین[1] کوئرستین[1] است. کوئرستین دارای فعالیت ضد سرطانی و آنتی‌اکسیدانی بوده و در تهیه تعدادی از داروها مانند قرص آفرودیت، شربت اکالیپتوس، پماد کالاندولا و داروی ترک اعتیاد مورد استفاده قرار می‌گیرد (Ades, 2009).

از مهمترین عوامل بیماری‌زا در بدن اکسیدان‌ها یا همان رادیکال‌های آزاد هستند (Lobo et al., 2010). این ترکیبات به‌دلیل داشتن الکترون منفرد دارای واکنش‌پذیری بسار بالایی بوده و می‌توانند در بدن تولید انواع بیماری مانند سرطان نمایند. آنتی‌اکسیدان‌ها از عواملی هستند که سلول‌ها را در مقابل اکسیدان‌ها محافظت کرده و مانع از تخریب سلولی و آسیب مزمن از جمله سرطان، بیماری‌های قلبی، دیابت و... می‌شوند (Gu et al., 2015). از آنتی‌اکسیدان‌های مهم می‌توان به ویتامین‌های C، E و بتاکاروتن اشاره کرد (Anu et al., 2014). شواهد روزافزونی وجود دارد که تایید می‌کند مصرف مناسب آنتی‌اکسیدان‌ها از جمله ویتامین ث می‌تواند تاثیر داروهای شیمی درمانی را تشدید نماید (Zhang et al., 2001). با توجه به اهمیت آنتی‌اکسیدان‌ها در درمان بیماری‌ها و تقویت سیستم ایمنی بدن، تلاش برای کشف موادی که بتوانند چنین ویژگی داشته باشند افزایش یافته است به‌طوری‌که تا کنون گیاهان بسیار زیادی جهت بررسی میزان این خاصیت یعنی مهار کردن رادیکال‌های آزاد مورد بررسی قرار گرفته‌اند (Kumaran and Karunakaran, 2006; Prior and Cao, 2000). از جمله می‌توان به زیره سیاه، زیره سبز، شنبلیله، بابونه، گزنه، نعناع، مرزنجوش و غیره اشاره کرد (Mirzaei et al., 2011). اما با وجود این، تلاش برای یافتن گیاهانی با خواص گسترده تر همچنان ادامه دارد.

از دیگر ویژگی‌هایی که در گیاهان دارویی اهمیت ویژه دارد خواص ضد باکتریایی آنهاست (Cowan, 1999; Savithramma et al., 2011). خواص آنتی باکتریال بسیاری از گیاهان دارویی در مطالعات مختلف شناسایی شده است که از ترکیبات شناسایی شده می‌توان جهت درمان بیماری‌های مختلف عفونی و نیز به‌عنوان نگهدارنده در مواد غذایی استفاده کرد (Canillac and Mourey, 2001; Majnooni et al., 2012). مطالعات نشان می‌دهد هر چه مقادیر ترکیبات فنولی در عصاره گیاه بیشتر باشد، خواص آنتی باکتریال آن بر علیه پاتوژن‌های گیاهی بیشتر می‌باشد (Shahnia and Khaksar, 2013).

ترکیبات شیمیایی که به‌عنوان کاندید در درمان بیماری‌ها ارائه می‌شوند بایستی بتوانند در سیستم جریان خون حرکت کرده و خود را به اندام هدف برسانند. معمولا برای این کار از حمل کننده‌های دارویی استفاده می‌شود. یکی از این حمل کننده‌ها که در بدن به مقدار نسبتاً زیادی موجود است، پروتئین آلبومین (HSA) می‌باشد. این بیوماکرومولکول، فراوان ترین پروتئین در پلاسمای خون انسان است و اصلی ترین پذیرنده جهت اتصال بسیاری از مواد در سرم خون محسوب می‌شود (Shahraki et al., 2016; Trynda, 2004). فراوانی این پروتئین در سیستم

1. Quercetin

Archive of SID

www.SID.ir

گردش خون و همچنین قابلیت فوق العاده آن برای پذیرش طیف گسترده ای از مولکول‌ها، HSA را به ابزاری ارزشمند در راه گسترش معرف‌های درمانی مبدل ساخته است. این پروتئین حامل نیمه عمر و انحلال پذیری داروها در بدن را افزایش می دهد. بنابراین دانش عمیق تر در مورد نحوه تعامل مولکول‌ها با این پروتئین باعث می‌شود تا دید مناسب و وسیعتری برای طراحی داروهای جدید در اختیار داشته باشیم.

با توجه به مطالب ارائه شده در بالا، در این تحقیق گیاه علف مورچه که علفی خودرو در دشت سیستان است انتخاب شده و عصاره آبی، متانولی و اتانولی آن استخراج و خواص آنتی‌اکسیدانی آن مورد بررسی قرار گرفت. خواص آنتی باکتریال و نیز برهم کنش عصاره اتانولی این گیاه با HSA به کمک طیف سنجی UV-Vis انجام و ثابت پیوندی آن طی این برهم کنش محاسبه شد.

مواد و روش‌ها

جمع آوری نمونه: گیاه مورد استفاده در این تحقیق در شهریور ۱۳۹۵ در رویشگاه طبیعی دشت سیستان (روستای سه کوهه بخش شیب آب استان سیستان و بلوچستان) جمع آوری و توسط کارشناس بخش گیاه پزشکی مرکز تحقیقات، آموزش کشاورزی و منابع طبیعی سیستان با مقایسه با کتب مرجع تایید شد. برای تهیه پودر گیاه، برگ‌های جمع‌آوری شده تحت شرایط طبیعی محیطی و به کمک جریان هوا طی یک هفته در سایه خشک و سپس آسیاب شد.

عصاره گیری به روش خیساندن با استفاده از حلال‌های مختلف: برای این منظور۱۲/۵ گرم از پودر گیاه وزن گردید. سپس ۵۰ میلی لیتر از حلال مورد نظر (آب، متانول و اتانول) به آن افزوده شد. پودر گیاه به مدت ۴۸ ساعت در دمای اتاق و به طور پیوسته بر روی همزن مغناطیسی هم زده شد.

تهیه عصاره گیاه با غلظت 1 ppm: عصاره اتانولی تهیه شده در قسمت قبل در دمای ۶۰ °C در درون آون کاملا خشک شد. سپس مقدار ۰/۰۰۵ گرم از ماده خشک گیاه در ۱ میلی لیتر حلال (آب، متانول و اتانول) حل گردید. این محلول به عنوان محلول مادر در نظر گرفته شد. برای تهیه محلول کار، ۲۰۰ میکرولیتر از محلول مادر به حجم یک میلی لیتر رسانده تا غلظت نهایی 1ppm حاصل شود.

تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاه: برای این منظور از رادیکال آزاد DPPH در سه حلال آب، متانول و اتانول استفاده شد. ابتدا ۰/۰۰۱ گرم از رادیکال آزاد DPPH بوسیله حلال به کار رفته به حجم ۲۵ میلی لیتر رسانده شد. در ادامه به ۳/۹ میلی‌لیتر از این محلول، ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول کار عصاره گیاه اضافه و به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار گرفت تا واکنش تکمیل شود و در نهایت تغییرات جذب UV-Vis آن در محدوده nm ۹۰۰-۲۰۰ ثبت شد.

برای تعیین درصد بازداری رادیکال آزاد از معادله زیر استفاده شد (Mirzaei et al., 2011):

$$\%I = \left(A_{blank} - \frac{A_{sample}}{A_{blank}}\right) \times 100 \quad (1)$$

در این معادله A_{blank} و A_{sample} به‌ترتیب برابر با جذب محلول شاهد (حاوی همه مواد واکنشگر به جز عصاره) و جذب محلول حاوی عصاره در سه حلال مختلف می باشد. داده‌های بدست آمده در این آزمایش با یک آنتی اکسیدان استاندارد (آسکوربیک اسید یا ویتامین ث) مورد مقایسه قرار گرفت. برای محاسبه IC_{50}، این آزمایش با غلظت‌های مختلفی از عصاره اتانولی انجام و با رسم نمودار درصد

Archive of SID

www.SID.ir

بازدارندگی در برابر غلظت عصاره، غلظتی از عصاره که ۵۰ درصد بازداری را نشان می دهد، بدست آمد.

برهم کنش با HSA: در مطالعات برهم کنش عصاره گیاه با پروتئین برای جلوگیری از تغییرات pH و حفظ آن در حدود ۷/۴ از بافر تریس (تریس هیدروکسی متیل آمینومتان) استفاده شد (Shahraki et al., 2016). برای این منظور ۳/۲ گرم از بافر تریس در ۲۵۰ میلی‌لیتر آب دو بار تقطیر حل و از این محلول به‌عنوان محلول بافر مادر استفاده شد. برای تهیه بافر کار، ۱۰۰ میلی‌لیتر بافر مادر به ۳۰۰ میلی‌لیتر آب دو بار تقطیر افزوده و قطره‌قطره به این محلول HCl، یک مولار اضافه شد تا pH آن تقریباً ۷/۴ شود. حجم این محلول با آب دو بار تقطیر به ۵۰۰ میلی‌لیتر رسیده و در یخچال نگهداری شد. برای تهیه محلول HSA به ۲۵ میلی‌گرم از پروتئین، ۵ میلی‌لیتر بافر کار اضافه شد. محتویات بشر به مدت چند ساعت درون یخچال نگهداری شد تا محلول یکنواختی به‌دست آید. برای بدست آوردن ثابت پیوند بین دارو با پروتئین می‌توان از رابطه زیر استفاده نمود (Trynda- Lemiesz, 2004):

$$\frac{b}{A - A_0} = \frac{1}{P_t K_b \Delta\varepsilon_{BL} [L]} + \frac{1}{P_t \Delta\varepsilon_{BL}} \quad (2)$$

که در آن A_0 ماکزیمم جذب HSA در غیاب گیاه و A ماکزیمم جذب HSA در حضور غلظت‌های مختلف گیاه، b طول مسیر نور (۱cm)، P_t غلظت کل پروتئین، [L] غلظت گیاه، K_b ثابت پیوندی است. با رسم منحنی $1/(A - A_0)$ بر حسب 1/[L] یک خط راست به‌دست می‌آید. مقدار K_b برابر نسبت عرض از مبدأ به شیب این خط راست است.

بررسی خواص آنتی‌باکتریال: در بررسی خواص آنتی‌باکتریایی عصاره گیاه *Cressa cretica* L. باکتری‌های تهیه شده به‌طور جداگانه در محیط مولر هینتون آگار به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۵°C کشت داده و سپس با استاندارد CLSI (کدورت سنجی استاندارد ۰/۵ مک فارلند) تنظیم شد. میزان MIC عصاره در مقابل باکتری‌های مورد استفاده با رقت سازی در چاهک یعنی روش میکرو ول دایلوشن تعیین شد (Soltani et al., 2009). برای این منظور پلیت‌های استریل ۹۶ خانه ای مورد استفاده قرار گرفت. محلول استوک گیاه در DMSO تهیه و رقیق‌سازی آن به کمک محیط کشت مولر هینتون براث (مرک آلمان) در غلظت‌های مختلف (از ۱/۸۷ تا ۳۰ میلی گرم بر میلی‌لیتر) انجام شد.در نهایت به هر چاهک ۲۰ میکرولیتر سوسپانسیون باکتریایی اضافه شد. پلیت‌ها در دمای ۳۵°C به‌مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند. شفافیت در هر پلیت نشان دهنده عدم رشد و وجود کدورت نشان‌دهنده رشد باکتری بود. اولین خانه‌ای که کدورتی نداشته باشد به عنوان حداقل غلظت بازدارندگی MIC معرفی می‌شود. از پلیت‌هایی که کدورت نشان ندادند، ۵ میکرولیتر به محیط کشت مولر هینتون آگار منتقل و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ °C نگهداری شد. اولین غلظتی که در آن هیچ رشدی دیده نشد به عنوان حداقل غلظت کشندگی (MBC) معرفی می‌شود (Soltani et al., 2009). لازم به یادآوریست که این آزمایش سه بار تکرار و در هر سری آن کنترل مثبت و کنترل منفی در نظر گرفته شد. علاوه بر این برای آنالیز آماری داده‌های بدست آمده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۲ استفاده شد.

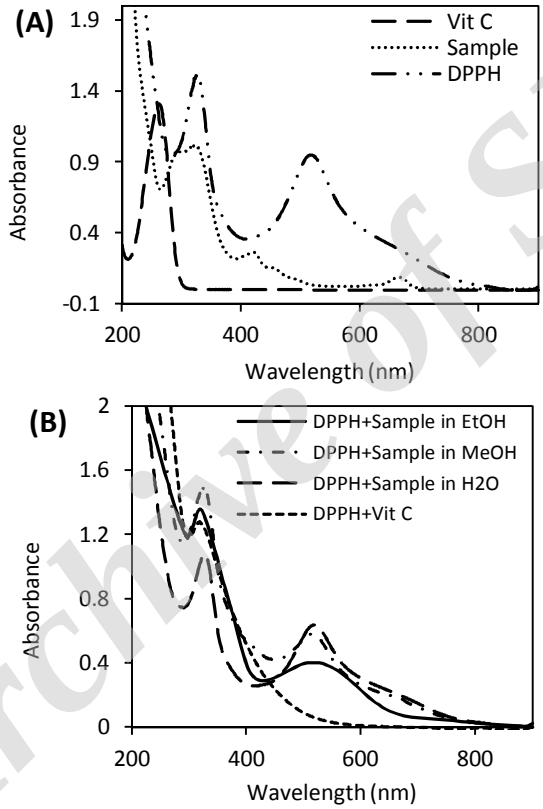
نتایج

بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی: طیف جذبی عصاره اتانولی گیاه، آسکوربیک اسید و DPPH (شکل 1A) و نیز تغییرات جذبی عصاره در حضور DPPH در ناحیه 200-900 nm در سه حلال مختلف (شکل 1B) ثبت گردید. با اندازه گیری جذب در طول موج ۵۱۷ nm و به کمک معادله ۱ درصد مهارکنندگی عصاره در سه حلال مختلف در مقابل DPPH محاسبه شد (نمودار

Archive of SID

www.SID.ir

شکل ۲). درصد مهارکنندگی برای عصاره در اتانول، متانول و آب کاهش یافته و به‌ترتیب برابر با ۵۶، ۳۸ و ۳۴ درصد بدست آمد. این مقدار برای آسکوربیک اسید به عنوان استاندارد با جذبی برابر با ۰/۰۴۵ در طول موج ۵۱۷ nm به ۹۵ درصد رسید. بررسی تاثیر نوع حلال بر استخراج عصاره گیاه نشان داد که بیشترین بازده استخراج مربوط به حلال اتانول و کمترین آن مربوط به آب می‌باشد. بنابراین اتانول مناسب‌ترین حلال برای عصاره گیری از این گیاه محسوب شده و در مطالعات برهم کنش با پروتئین نیز عصاره اتانولی مورد استفاده قرار گرفت. با رسم نمودار درصد بازدارندگی در برابر تغییرات غلظت عصاره اتانولی (شکل ۳) میزان IC_{50} برای گیاه *Cressa cretica* L. برابر با ۱۹ میکروگرم بر میلی لیتر بدست آمد. این پارامتر در مورد آسکوربیک اسید بسیار کمتر و برابر با ۳/۷ میکروگرم بر میلی لیتر محاسبه شد.



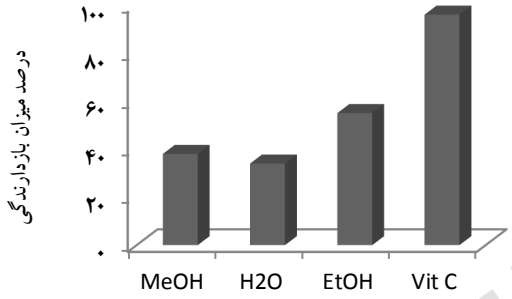
شکل ۱: (A) طیف جذبی مربوط به عصاره اتانولی گیاه *Cressa cretica* L.، آسکوربیک اسید و DPPH(B) تغییرات طیف جذبی عصاره گیاه در حلال‌های مختلف و آسکوربیک اسید در حضور DPPH. غلظت برای همه نمونه‌ها برابر ۱ppm استفاده شده است.

پیوند به پروتئین آلبومین سرم انسانی: برهم کنش عصاره اتانولی گیاه *Cressa cretica* L. با پروتئین HSA توسط طیف سنجی UV–Vis انجام گرفت (شکل ۴). همان‌طور که در شکل ۴A مشاهده می‌شود HSA دارای یک پیک نسبتاً پهن با ماکزیمم جذب در طول موج ۲۸۰nm است. این پیک مربوط به جذب نور UV-Vis توسط آمینواسیدهای تیروزین، تریپتوفان و فنیل آلانین می باشد و اگر مکان پیک در این طول موج تغییر کند نشان‌دهنده تغییر قطبیت محیط پیرامون این آمینواسیدهاست (Shahraki et al., 2016). با

Archive of SID

www.SID.ir

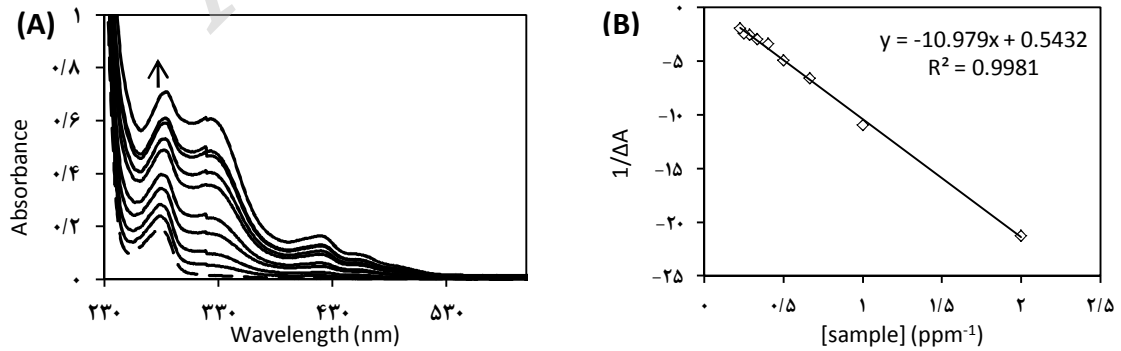
افزایش تدیجی عصاره اتانولی به محلول پروتئین میزان جذب در این طول موج افزایش یافته و با افزایش غلظت، شکل پیک پروتئین تغییر می‌نماید که نشان‌دهنده تغییرات ساختار پروتئین در اثر برهم کنش عصاره گیاه با آن است. برای ارزیابی قدرت برهم‌کنش عصاره گیاه با HSA با استفاده از معادله ۲ و منحنی 4B می‌توان ثابت پیوند بین عصاره اتانولی و پروتئین را تخمین زد. مقدار ثابت پیوند بین عصاره گیاه *Cressa cretica* L. با پروتئین HSA برابر با $۰/۴۹ \times ۱۰^{۲}$ ppm^{-1} بدست آمد.



شکل ۲: مقایسه بازدارندگی عصاره گیاه *Cressa cretica* L. در حلال‌های مختلف بر علیه رادیکال آزاد DPPH. در این مقایسه آسکوربیک اسید به‌عنوان استاندارد در نظر گرفته شده است.

شکل ۳: نمودار تعیین مقدار IC_{50} برای عصاره اتانولی گیاه *Cressa cretica* L.

خواص آنتی‌باکتریایی: خاصیت آنتی‌باکتریایی گیاه *Cressa cretica* L. بر روی دو باکتری گرم مثبت و گرم منفی مورد ارزیابی قرار گرفت که نتایج آن به‌صورت MBC و MIC در جدول ۱ گزارش شده است.



شکل ٤: (A) نمودار تغییرات طیف UV-Vis مربوط به HSA در اثر افزایش غلظت عصاره اتانولی گیاه *Cressa cretica* L.(B) نمودار خطی مربوط به تغییرات جذب پروتئین در مقابل تغییرات غلظت عصاره اتانولی گیاه *Cressa cretica* L.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱: حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) عصاره گیاه *Cressa cretica* L. بر علیه باکتری‌های استافیلوکوکوس آرئوس و اشرشیاکولی.

نام باکتری	شماره باکتری	نوع باکتری	MIC (µg/mL)	MBC (µg/mL)
استافیلوکوکوس آرئوس	ATCC11303	+	۹۸	۳۲۰
اشرشیاکولی	ATCC9144	-	۱۵۰	۶۰۰

بحث

در زمینه بررسی اثر ضد باکتریایی عصاره گیاهان دارویی پژوهش‌های زیادی صورت گرفته است (Yin et al., 2003; Block, 1992; Bokaeian et al., 2015). عصاره‌های گیاهی می‌توانند عملکردهای مختلفی در مقابل سویه‌های باکتریایی از خود نشان دهند. عصاره‌ها معمولاً در مقابل باکتری‌های گرم مثبت خواص آنتی باکتریایی بیشتری نسبت به باکتری‌های گرم منفی از خود نشان می‌دهند (Burt, 2004). عصاره گیاه *Cressa cretica* L. که در این مطالعه استفاده شد نیز خواص آنتی باکتریایی بیشتری بر علیه باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس آرئوس نسبت به باکتری گرم منفی اشرشیاکولی نشان داد. همانطور که مشاهده می‌شود عصاره اتانولی گیاه علف مورچه بر روی هر دو باکتری مورد مطالعه اثرات مهارکنندگی و کشندگی از خود نشان می دهد اما میزان MIC آن بیشتر از MBC است. یعنی با وجود اینکه رشد باکتری‌ها در غلظت‌های نسبتاً کم عصاره مهار می‌گردد، اما برای بروز اثرات کشندگی به غلظت‌های بیشتری از عصاره مورد نیاز است. علاوه بر این مقادیر MBC در مورد باکتری گرم منفی اشرشیاکولی بیشتر از باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس آرئوس می باشد که دلیل آن می تواند ناشی از تفاوت در ساختار دیواره سلولی این دو باکتری باشد (Kitic et al., 2002; Sahin et al., 2002). در واقع در اطراف دیواره سلولی باکتری‌های گرم منفی غشاهایی وجود دارد که باعث می‌شود این باکتری‌ها در برابر اثرات ضد باکتریایی اسانس‌ها حساسیت کمتری از خود نشان دهند. این غشاء خارجی انتشار مواد هیدروفوب از میان این لایه لیپوساکاریدی را محدود می نماید اما در باکتری‌های گرم مثبت، ترکیبات هیدروفوب اسانس به‌طور مستقیم با لایه فسفولیپیدی در تماس هستند و می‌توانند با روش‌های مختلف تاثیر خود را بر روی باکتری بر جای گذارند (Sandri et al., 2007). خاصیت آنتی‌باکتریایی در *Cressa cretica* L. با داده‌های گزارش شده برای گیاهان دارویی مانند زیره سبز بسیار کمتر است (Mahmoudi et al., 2012). در زیره سبز در دمای ۳۵ °C و pH ~ 6 مقادیر MIC و MBC برای باکتری استافیلوکوکوس آرئوس برابر با ۰/۳ و ۱/۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر و برای باکتری اشرشیاکولی برابر با ۴/۸ و ۹/۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش شده است. اما با داده‌های گزارش شده برای گیاهانی مانند سماق، همیشه سبز، الف و درمنه قابل مقایسه است و دارای قدرت تقریبا مشابهی برای مهار رشد باکتری‌ها به خصوص اشرشیاکولی می‌باشد (Taleei et al., 2004).

به‌منظور حفظ کیفیت مواد غذایی و افزایش زمان نگهداری آنها از آنتی اکسیدان‌های سنتز شده استفاده می‌شود که هنوز هم در مورد ایمن بودن آنها نگرانی وجود دارد. اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهان دارویی با داشتن ترکیبات آنتی‌باکتریایی و آنتی‌اکسیدانی دارای ظرفیت بالایی جهت استفاده به‌عنوان ترکیبات طبیعی جدید در محافظت مواد غذایی می باشند.خاصیت آنتی‌اکسیدانی گیاه *Cressa cretica* L. با استفاده از آزمون DPPH در حلال اتانول در مقایسه با متانول و آب دارای بیشترین کارایی بود. مطالعات گذشته نیز

Archive of SID

www.SID.ir

نشان داده است که هر نوع اندازه‌گیری با حلال اتانول می‌تواند باعث استخراج ترکیبات قطبی و غیر قطبی و در نتیجه خواص آنتی‌اکسیدانی بیشتر شود (Harborne, 1998). طبق گزارش محمودی و همکاران (Mahmoudi et al., 2012). میزان IC_{50} عصاره اتانولی نسبت به آسکوربیک اسید و یا گیاهانی مانند زیره سبز کمتر اما در مقایسه با سایر گزارش‌های مربوط به گیاهان دارویی مانند خاکشی، بارهنگ، زنیان، گشنیز و شنبلیله قابل مقایسه می‌باشد (Mirzaei, 2011). نیک‌آور و ابوالحسنی (Nikavar and Abolhasani, 2009) میزان IC_{50} برای زیره سیاه را برابر با ۱۴۹/۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش کردند که در مقایسه با گیاه *Cressa cretica* L. بسیار کمتر است. اختلاف مشاهده شده در خواص آنتی اکسیدانی گیاهان دارویی می‌تواند به علت اختلاف ترکیبات تشکیل‌دهنده آنها به خصوص در ترکیبات فنولی و پلی فنولی آنها باشد به گونه‌ای که ارتباط مستقیم بین میزان فنول و فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان دارویی وجود دارد (Muret et al., 2007).

برهم کنش عصاره اتانولی گیاه *Cressa cretica* L. با HSA منجر به تغییر در قطبیت آمینواسیدهای درگیر در پیوند و تغییر شکل پیک مربوط به پروتئین می‌شود. تاکنون چنین بررسی در مورد بر هم‌کنش پروتئین با عصاره یک گیاه که حاوی چندین ماده متفاوت با درصدهای مختلف است انجام نشده البته می‌توان اجزاء تشکیل‌دهنده و درصد آنها را در عصاره بدست آورد و به‌طور جداگانه برهم کنش هر یک از آنها با پروتئین را بررسی کرد اما آنچه حائز اهمیت است برهم‌کنش‌های خود ترکیبات با یکدیگر می‌باشد که می‌تواند منجر به افزایش و یا کاهش اثر بخشی هر یک از آنها شود. بنابراین می‌توان برای هر گیاه که خاصیت دارویی از خود نشان می‌دهد پارامتر ثابت پیوندی K_b محاسبه و سپس مقادیر بدست آمده را با میزان اثر بخشی آنها مقایسه کرد. یک نتیجه که می‌توان با اندازه‌گیری این پارامتر به آن رسید این است که K_b میزان قدرت پیوند ترکیبات عصاره به پروتئین حامل را نشان می‌دهد. هر چه میزان بیشتری از عصاره توسط پروتئین حامل حمل شود مسلما دوز مصرفی گیاه دارویی کاهش می‌یابد.

نتیجه‌گیری نهایی

گیاه *Cressa cretica* L. از راسته بادمجان سانان و از تیره پیچکیان یک گیاه دارویی ارزشمند در دشت سیستان محسوب می‌شود. بررسی تاثیر نوع حلال بر استخراج عصاره این گیاه نشان داد که بیشترین بازده استخراج مربوط به اتانول و کمترین آن مربوط به آب می باشد و درصد مهارکنندگی اثر DPPH برای عصاره در اتانول بیشتر از متانول و آب است. عصاره این گیاه قادر به ایجاد پیوند نسبتاً قوی با فراوان‌ترین پروتئین حامل در سیستم گردش خون انسان بوده و بنابراین می‌تواند به راحتی در بدن جابجا و به اندام هدف برسد. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که عصاره برگ گیاه *Cressa cretica* L. می‌تواند به‌عنوان یک داروی ضدباکتری و همچنین یک آنتی‌اکسیدان طبیعی بالقوه برای درمان برخی بیماری‌ها در نظر گرفته شود.

سپاسگزاری

نویسندگان این مقاله مراتب تشکر و قدردانی خود از معاونت پژوهشی دانشگاه زابل جهت حمایت‌های مالی لازم را ابراز می‌دارند.

Archive of SID

www.SID.ir

References

1. Ades, T.B. 2009. Quercetin american cancer society complete guide to complementary and alternative cancer therapies (2nd ed.). American Cancer Society. ISBN-13: 978-0944235713.
2. Anu, R., Amit, K., Vivek, S., Brijesh, Y., Ruchi, T., Sandip, C. and Kuldeep, D. 2014, Oxidative stress, prooxidants and antioxidants: The interplay biomed Research International, Review Article (19 pages), Article ID 761264, 2014 (2014). DOI: 10.1155/2014/761264.
3. Block, E. 1992. The organosulfur chemistry of the genus *Allium* implication for the organic chemistry of sulfur. Angewandte Chemie International Edition in English. 31(9): 1135-1178.
4. Bokaeian, M., Farazmand, R., Kyghobadi, S. and Saeidi, S. 2015. Study of the antimicrobial activity of *Allium Sativum* extract on *Staphylococcus aureus* strains resistant to different antibiotics. Plant Research Journal. 28(1): 34-41.
5. Burt, S., 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods. International Journal of Food Microbiology. 94(3): 223-253
6. Canillac, N. and Mourey, A. 2001. Antibacterial activity of the essential oil of *Piceaexcelsa* on *Listeria*, *Staphylococcus aureus* and coliform bacteria.Food Microbiology. 18: 261-268.
7. Cowan, M.M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. Clinical Microbiology Reviews. 12(4): 564-582.
8. Gu, L., Chen, Z., Zhao, J., Ruan, X.J., Zhao, S.Y. and Gao, H. 2015. Antioxidant, anticancer and apoptotic effects of the *Bupleurum chinense* root extract in HO-8910 ovarian cancer cells. J. Buon., 20(5):1341-9.
9. Harborne, J.B., 1998. Phytochemical methods. 3th ed. New York: Chapman & Hall; P.5-7.
10. Kitic, D., Jovanovic, T., Ristic, M., Palic, R. and Stojanovic, G. 2002. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Calaminth anepata* (L.) Savi ssp. glandulosa (Req.) P.W. Ball from Montenegro. Journal Essential Oil Research. 14: 150-152.
11. Kumaran, A. and Karunakaran, R.J. 2006. Antioxidant and free radical scavenging activity of an aqueous extract of Coleus aromaticus. Food Chemistry. 97: 109-114.
12. Lobo, V., Patil, A., Phatak, A. and Chandra, N. 2010. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health, Pharmacognosy Review. 4(8): 118–126.
13. Mahmoudi, R., Ehsani, A. and Zare, P. 2012. Phytochemical, antibacterial and antioxidant properties of *Cuminum Cyminum* L. essential oil. Journal of Research in the Food Industries, 22(3): 311-321.
14. Majnooni, M.B., Abiri, R., Afnanzade, N.S. and MalekKhatabi, P. 2012. Study of antibacterial effects of hydro- alcoholic extract of 8 medicinal herbs against vancomycin resistant staphylococcus aureus. Journal of Medicinal Plants. 1 (41): 103-110.
15. Mirzaei, A., Mohammadi, J., Mirzaei, N. and Mirzaei, M. 2011.The Antioxidant capacities and total phenolic contents of some medicinal plants in Iran. Journal of Fasa University of Medical Sciences. 1(3): 160-167.
16. Muret, K., Sevgi, K., Sengul, K., Esra, U., Cemalettin, B. and Fedra, V. 2007. Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia. Food Chemistry, 100: 534-526.
17. Nikavar, B. and Abolhasani, F. 2009. Screening of antioxidant properties of seven umbellifreae fruits from Iran. Pakistanian Journal Pharmacology Science. 22: 30-35.
18. Prior, R.L. and Cao, G. 2000. Antioxidant phytochemicals in fruits and vegetables.Diet and health implications Horticultural Science. 35: 588-592.
19. Sahin, F., Karaman, I., Gulluce, M., Ogutcu, H., Sengul, M. and Adiguzel, A. 2002.Evaluation of antimicrobial activities of *Satureja hortensis* L. Journal Ethnopharmacology. 87: 61-65.
20. Sandri, I.G., Zcaria, J., Fracaro, F., Delamare, A.L. and Echeverrigaray, S. 2007. Antimicrobial activity of the essential oils of Brazilian species of the genus Culina against foodborne pathogens

Archive of SID

www.SID.ir

and spoiling bacteria. Food chemistry, 103-823-828.
21. Savithramma, N., LingaRao, M. and Suhrulatha, D. 2011. Screening of medicinal plants for secondary metabolites. Search Results Middle-East Journal of Scientific Research. 8(3): 579-584.
22. Shahnia, M. and Khaksar, R. 2013. Antimicrobial effects and determination of minimum inhibitory concentration (MIC) methods of essential oils against pathogenic bacteria. Iranian Journal of Nutrition Sciences and Food Technology. 7(5): 949-955.
23. Shahraki, S., Shiri, F., Mansouri-Torshizi, H. and Shahraki, J. 2016.Characterization of the interaction between a platinum(II) complex and human serum albumin: spectroscopic analysis and molecular docking, Journal of the Iranian Chemical Society . 13(4):723–731.
24. Shahraki, S., Shiri, F. and Mansouri-Torshizi, H. 2016. Biophysical and molecular docking studies of human serum albumin interactions with a potential anticancer Pt (II) Complex. Biomacromolecular Journal, 2(1): 65-77.
25. Soltani, M., Ghodratnema, M., Ahari, H., Ebrahimzadeh-Mousavi, H.A., Atee, M. and Dastmalchi, F. 2009. The inhibitory effect of silver nanoparticles on the bacterial fish pathogens *Streptococcusiniae*, *Lactococcusgarvieae*, Yersinia ruckeri and *Aeromonashy drophila*. International Journal of Veterinary Research. 3(2): 137-142.
26. Taleei, G., Mashkohossadar, M.H. and Delfan, B. 2004. Journal of Lorestan University of Medical Sciences. 18: 19-23.
27. Trynda-Lemiesz, L. 2004. Paclitaxel-HSA interaction. binding sites on HSA molecule. Bioorganic and Medicinal Chemistry. 12(12): 3269-3275.
28. Yin, M.C., HSU, P.C. and Chang, H.H. 2003. In vitro antioxidant and antibacterial activity of shallot and Scallion. Journal of Food Science.68(1) 281-284.
29. Zhang, W., Negoro, T., Satoh, K., Jiang, Y., Hashimoto, K., Kikuchi, H., Nishikawa, H., Miyata. T., Yamamoto, Y., Nakano, K., Yasumoto, E., Nakayachi, T., Mineno, K., Satoh, T. and Sakagami, H. 2001. Synergistic cytotoxic action of vitamin C and vitamin K3.Anticancer Research. 21(5): 3439-44.

Archive of SID

www.SID.ir

Investigation of antioxidant, anti-bacterial properties and binding to human serum albumin in the *Cressa cretica* L. grown in the Sistan region

Shahraki, S.[1*], Shahraki, T.[2]

[1]Assistant Professor, Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Zabol, Zabol, Iran

[2]PhD Candidate, Department of Agronomy and Plant Breeding, Islamic Azad University, Zahedan Branch, Zahedan, Iran

Received Time: 2017/2/22 Accepted Time: 2017/4/16

Abstract

Cressa cretica L., due to producing of some various compounds, which could be used as a source of many herbal medicines. The present research were studied in antioxidant, antibacterial properties and the ability of interaction with human serum albumin (HSA) of *Cressa cretica* L. So the leaves of the plant were collected in vegetative stage from Sistan in 2015. Three kinds of extraction such as aquatic, methanolic and ethanolic extracts were obtained by using maceration method. The antioxidant activity were measured by DPPH method. The interaction of ethanolic extraction with HSA was performed by UV-Vis spectroscopy. The Anti-bacterial properties of extracts against *Staphylococcus aureus*, and *Escherichia coli* were investigated by MIC and MBC methods. The results were showed that the lowest and highest extraction efficiency were related to the aquatic and ethanolic, respectively. The ethanolic extract had the highest antioxidant activity in inhibition percentage of DPPH than other extracts (56, 38 and 34%) respectively. Study of the interaction with HSA demonstrated the changes in protein secondary structure and the binding constant in that obtained 0.49×10^2 ppm^{-1}.This plant showed acceptable bactericidal activity and MIC values were higher than the MBC.

***Keywords*:** Antibacterial, Antioxidant, *Cressa cretica* L., Extraction, Sistan, Solvents

Archive of SID

www.SID.ir