

ارزیابی اثرات ضد باکتریایی عصاره گیاه پنیرک بر استرپتوکوکوس موتانس و مقایسه آن با اثر کلروهگزیدین

چکیده

دریافت: ۱۳۹۷/۰۲/۰۲ ویرایش: ۱۳۹۷/۰۲/۰۹ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۹/۲۵ آنلاین: ۱۳۹۷/۱۰/۰۵

زمینه و هدف: شناخت بهترین گونه از گیاهان دارویی و استخراج ماده موثر، می‌تواند در پیشگیری از بیماری‌های دهان و دندان موثر واقع شود. پنیرک *Malva sylvestris L.* از جمله این گیاهان می‌باشد. آنتوسیانین و دیگر ترکیبات گیاه پنیرک دارای خواص ضدباکتریایی هستند. هدف این مطالعه بررسی آزمایشگاهی اثر آنتی‌باکتریال عصاره گیاه پنیرک بر استرپتوکوکوس موتانس و مقایسه آن با اثر کلروهگزیدین ۰/۱۲٪ بود.

روش بررسی: این مطالعه تجربی از بهمن ۱۳۹۴ تا مهر ۱۳۹۵ در بخش میکروبیولوژی دانشگاه علوم پزشکی ایران انجام پذیرفت. عصاره متانولی - آبی از گیاه پنیرک به روش عصاره‌گیری گرم به دست آمد. پلی‌فنول ترپنویید، ساپونین، انتوسیانین‌ها و ترکیبات مهم دیگر با روش کروماتوگرافی لایه نازک استخراج گردید. اثر حساسیت ضد میکروبی گیاه پنیرک در رشد استرپتوکوکوس موتانس، مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: عصاره در غلظت‌های مختلف (۱۶-۸-۴-۲ mg/ml) اثرات پیشگیری‌کننده‌ای بر باکتری‌ها داشتند و با کلروهگزیدین تجویز شده رایج در دندانپزشکی مقایسه شدند. هاله عدم رشد در مقابل استرپتوکوکوس موتانس با میانگین ۱/۶۶ mm نشان داد، حداقل غلظت جلوگیری‌کننده در مقابل استرپتوکوکوس موتانس برابر با ۲ mg/ml بود. وجود پلی‌فنل‌های ترپنوییدها ساپونین به وسیله کروماتوگرافی لایه نازک با عملکرد بالا (HPTLC) مشخص گردید. این خاصیت از وجود ترکیبات پلی‌فنلی گیاه که با آنالیز انگشت‌نگاری شناسایی گردید، در مقایسه با کلروهگزیدین به‌عنوان گلد استاندارد از حساسیت کمتری برخوردار بود.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه در شرایط آزمایشگاهی نشان داد، عصاره آبی - متانولی گیاه پنیرک فعالیت ضد میکروبی موثر بر روی باکتری استرپتوکوکوس موتانس دارد.

کلمات کلیدی: ضد باکتری، کلروهگزیدین، کروماتوگرافی، گیاه پنیرک، استرپتوکوکوس موتانس.

مجید مهران^۱

راحیل احمدی^۱

محمد صادق کاظمی^۲

نسرین تک زارع^{۳*}

۱- گروه کودکان، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شاهد، تهران، ایران.

۲- دندانپزشک، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شاهد، تهران، ایران.

۳- گروه آناتومی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

* نویسنده مسئول: تهران، بلوار کشاورز، خیابان قدس، خیابان پورسینا، دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده پزشکی، گروه آناتومی. تلفن: ۰۲۱-۸۸۹۵۳۰۰۸
E-mail: takzaree@tums.ac.ir

مقدمه

موتانس استرپتوکوکوسی، لاکتوباسیل‌ها و غیره ایجاد می‌شود. به‌طور کامل مشخص گردیده است که استرپتوکوکوس موتانس اصلی‌ترین پاتوژن پوسیدگی دندان می‌باشد.^۱ اثرات ضد میکروبی، ضد قارچی و ضد سرطانی در گیاهان ایران سرمنشأ بسیاری از پژوهش‌ها بوده و به سرانجام رسیدن این پژوهش‌ها می‌تواند سبب خودکفایی و استقلال در صنایع دارویی کشور شود. از طرفی وجود مقاومت باکتریایی نسبت به داروهای سنتتیک شیمیایی، نیاز به بررسی و تولید انواع مواد ضد میکروبی گیاهی

در دهه‌های اخیر انسان‌ها توجه بیشتری بر سلامت عمومی بدن و سلامت دهان و دندان دارند، زیرا بهداشت دهان و دندان ارتباط مهمی با سلامت عمومی بدن دارد.^۱ تولید اسید حاصله از متابولیسم کربوهیدرات‌ها موجب کاهش pH محوطه دهانی می‌شود و به‌دنبال آن موجب دمیتراله‌شدن و پوسیدگی دندان می‌گردد. بروز چنین آسیب‌های دندانی توسط باکتری‌های اسیدوژنیک و اسیدوریک مانند

میکروبیولوژی مورد بررسی قرار گرفت. برای اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد باکتری‌ها از روش‌های دیسک دیفیوژن و چاهک استفاده شد. قطر هاله عدم رشد ایجاد شده توسط اثر عصاره گیاه، کلروهگزیدین ۰/۱۲٪ و آنتی‌بیوتیک‌ها بیانگر کارایی ماده به‌کار رفته و ممانعت رشد یا کشتن میکروارگانیسم است.^{۱۳}

گل، برگ و سر شاخه‌های هوایی گیاه پنیرک در اواخر اردیبهشت ماه ۱۳۹۵ به‌صورت تازه از باغ فیروزه استان تهران، گردآوری و پس از شناسایی توسط گیاه‌شناسان مرکز تحقیقات طب سنتی و گیاهان دارویی دانشگاه شاهد تهران، مورد استفاده قرار گرفت. نمونه‌ها در سایه خشک و پس از پودر شدن درون شیشه‌های مات در محیط خشک تا زمان استفاده نگهداری شد.

جهت استخراج عصاره از پودر گیاه با اندازه ذره‌های ۳۰۰ μm، نسبت گیاه به حلال ۱ : ۲۰۰، حلال آب: متانول (۸۰ : ۲۰) استفاده شد. مقدار ۱ g از پودر گیاه به دقت وزن شده و بر روی آن ۲۰ ml متانول ۸۰٪ ریخته و خوب مخلوط کرده، سپس به‌مدت دو ساعت در بن ماری (Water bath) با دمای ۵۰ °C گذاشته شد. پس از گذشت دو ساعت عصاره توسط کاغذ صافی (Wattman paper)، فیلتر و در بالن ژوژه ۲۰ ml ریخته و از طریق روتاری حلال متانولی آن به‌طور کامل حذف شد و عصاره به پودر تبدیل و از آن غلظت‌های مختلف (۱۶-۸-۴-۲-۱-۰/۵-۰/۲۵-۰/۱۲۵) با استفاده از DMSO (دی‌متیل سولفوکساید) به‌دست آمد.^{۱۴} انگشت‌نگاری و جداسازی گیاه پنیرک با روش کروماتوگرافی لایه نازک با عملکرد بالا در آزمایشگاه‌های جامع تحقیقاتی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی بخش High-performance thin-layer chromatography (HPTLC) انجام شد.

جهت آنالیز عصاره متانولی - آبی گیاه ابتدا ۲۰۰ μl (۰/۲ ml) از عصاره را با ۱۰ ml از متانول را با استفاده از اولتراسونیک در دمای ۵۰ °C به‌مدت ۳۰ دقیقه ترکیب گردید. ۱ g از نمونه پودر شده گیاه پنیرک را با ۱۰ ml از چهار حلال (پترولیوم اتر، تولوئن، کلروفرم، متانول) به‌صورت جداگانه و به‌ترتیب در بن ماری ژوژه مخلوط گردید. با استفاده از اولتراسونیک، در دمای ۵۰ °C به‌مدت ۳۰ دقیقه عصاره‌گیری انجام شد و سپس آنالیز و مقایسه ترکیبات ضد باکتریایی موجود در هر عصاره با عصاره متانولی - آبی مورد آزمایش قرار گرفت.

داده‌های حاصل از پژوهش با استفاده از SPSS software, version 21 (IBM SPSS, Armonk, NY, USA) مورد تجزیه و تحلیل قرار

به‌نظر منطقی می‌رسد. در محدوده درمان‌های دندانپزشکی و به‌ویژه علم پرودنتولوژی نیز مواد ضد میکروبی چه به‌صورت خوراکی و چه به‌شکل موضعی در جهت کاهش فلور میکروبی دهان در طول مدت درمان و حتی به‌طور روزمره جهت کنترل پلاک باکتریال در دهان استفاده فراوان دارد. با گسترده‌شدن دامنه کاربرد دهانشویه‌ها دسترسی به موادی که با حداقل اثرات جانبی (مانند ایجاد رنگیزه بر دندان‌ها و مواد پرکردگی، عفونت‌های ناخواسته و سمیت بافتی) بیشترین اثرات مطلوب را ایجاد نماید، بسیار لازم و ضروری به‌نظر می‌رسد.^۳

پنیرک با نام علمی *Malva sylvestris L.* از خانواده پنیرکیان Malvaceae گیاهی دارویی و بومی ایران است که ارزش غذایی و دارویی بالایی داشته از تمام قسمت‌های گیاه کاربرد دارویی دارد، اما قسمت گل و برگ گیاه استفاده بیشتری دارد و در طب سنتی ایران در درمان بسیاری از بیماری‌ها کاربرد دارد. این گیاه خواص بی‌شماری داشته و از مهمترین اثرات آن می‌توان به مواردی چون خاصیت ضد عفونی‌کنندگی،^۴ ترمیم زخم‌های دهانی،^۵ ضد درد، ضد التهاب، عامل آنتی‌باکتریال،^۶ خاصیت آنتی‌اکسیدانی طبیعی^{۷،۸} و فعالیت ضد میکروبی در مقابل استافیلوکوکوس‌ها و استرپتوکوک‌ها، اشاره کرد. همچنین دهان‌شویه‌هایی با ترکیب برگ این گیاه به‌عنوان درمان بافت‌های دهانی استفاده شده است و به‌خاطر وجود موسیلاژ، فلاونوئید و تانن استفاده وسیعی در درمان پروسه‌های التهابی دارد.^۹ عصاره گیاه پنیرک قادر به کاهش عفونت و التهاب در سلول‌های دهانی انسان و کاندیدای ضد میکروبی و التهابی است.^۹ همچنین در مطالعات گسترده‌ای تاثیر عصاره‌ی آبی گیاه پنیرک بر روی معالجه زخم و پتانسیل کاربرد بالینی آن ارزیابی شده است.^{۱۰-۱۲} این مطالعه با هدف ارزیابی اثرات ضد باکتریایی عصاره گیاه پنیرک بر استرپتوکوکوس موتانس و مقایسه آن با اثر کلروهگزیدین ۰/۱۲٪ انجام شد.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی که از بهمن ۱۳۹۴ تا مهر ۱۳۹۵ به‌طول انجامید، اثر مهارکنندگی رشد یا عدم رشد میکروارگانیسم استرپتوکوکوس موتانس تحت هشت غلظت عصاره گیاه پنیرک، کلروهگزیدین و ۹ نوع آنتی‌بیوتیک در قالب آزمایش به‌طور کامل تصادفی با سه تکرار در دانشگاه علوم پزشکی ایران بخش

و بهترین روش عصاره‌گیری و انتخاب حلال را جهت جداسازی ترکیبات ضد باکتریایی مشخص کرد. داده‌های گردآوری شده در جداول وارد شده است. هاله عدم رشد (mm) غلظت‌های مختلف گیاه پنیرک (mg/ml) به‌روش دیسک بر روی باکتری‌های *استرپتوکوکوس موتانس* (جدول ۱) نشان می‌دهند گیاه پنیرک در غلظت‌های ۲، ۴، ۸ و ۱۶ mg/ml با درجه اطمینان ۹۵٪ بر روی باکتری *استرپتوکوکوس موتانس* هاله عدم رشد داشت. به‌عبارتی از لحاظ آنالیز Duncan's procedure و Kruskal-Wallis test در همه موارد اختلاف بسیار معناداری در میزان هاله عدم رشد وجود داشت. $P < 0/05$ معنادار در نظر گرفته شد.

میانگین هاله عدم رشد (mm) غلظت‌های مختلف گیاه پنیرک (mg/ml) به‌روش دیسک بر روی باکتری‌های *استرپتوکوکوس موتانس* با سه تکرار نشان می‌دهند، گیاه پنیرک در غلظت‌های ۱، ۸، ۴ و ۲ mg/ml بر روی باکتری هاله عدم رشد داشت (جدول ۱).

گرفت. نرمال بودن داده‌ها با استفاده از Shapiro-Wilk W test بررسی و سپس ویژگی‌های توصیفی متغیرها مانند شاخص‌های مرکزی و پراکندگی (میانگین و انحراف معیار پارامترها) محاسبه شد. محاسبه و تجزیه واریانس گروه‌ها براساس صفات مطالعه‌شده انجام و مقایسه میانگین گروه‌ها به‌روش Duncan's procedure انجام شد. داده‌های کیفی و رتبه‌ای هم به روش‌های غیرپارامتریک مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و $P < 0/05$ معنادار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

یافته‌های به‌دست‌آمده در این مطالعه، نتایج آنالیز انگشت‌نگاری از گیاه پنیرک با استفاده از تکنیک کروماتوگرافی لایه نازک با عملکرد بالا (HPLC) وجود ترکیبات فلاونوئیدی، آنتی‌سیانین‌ها، اسیدهای آلی، تربینوئیدها و ساپونین‌ها که ضد باکتریایی هستند را شناسایی کرد

جدول ۱: میانگین هاله عدم رشد (mm) غلظت‌های مختلف گیاه پنیرک (mg/ml) به‌روش دیسک و چاهک دیفیوژن بر باکتری‌های *استرپتوکوکوس موتانس*

غلظت باکتری (mg/ml)	۱۶	۸	۴	۲	۱	۰/۵	۰/۲۵	۰/۱۲۵	P
استرپتوکوکوس موتانس	۴	۴	۶/۳	۲	۰	۰	۰	۰	۰/۶۲۵

آنالیز آماری به‌روش Duncan و $P < 0/05$ معنادار در نظر گرفته شد.

جدول ۲: میانگین هاله عدم رشد (mm) غلظت‌های مختلف گیاه پنیرک (mg/ml) به‌روش دیسک دیفیوژن بر روی باکتری‌های پوسیدگی‌زا و دندان با سه بار تکرار

غلظت‌های پنیرک (mg/ml)	انحراف استاندارد از میانگین	میانگین هاله عدم رشد (mm)	هاله عدم رشد (mm)	تعداد (تکرار)	P
۱۶	۰/۳۳۳۳	۳/۳۳۳۳	۳/۵	۳	۱/۱۲۵
۸	۰/۴۰۸۲۵	۳/۰۰۰۰	۳/۰	۳	۱/۰۰۵
۴	۰/۵۵۲۷۷	۲/۰۰۰۰	۳/۰	۳	۰/۱۲۵
۲	۰/۵۰۰۰۰	۰/۶۶۶۷	۳/۰	۳	۰/۰۰۵
۱	۰/۰۰۰۰۰	۰/۰۰۰۰	۰	۳	۰/۰۰۱
۰/۵	۰/۰۰۰۰۰	۰/۰۰۰۰	۰	۳	۰/۰۰۱
۰/۲۵	۰/۰۰۰۰۰	۰/۰۰۰۰	۰	۳	۰/۰۰۱
۰/۱۲۵	۰/۰۰۰۰۰	۰/۰۰۰۰	۰	۳	۰/۰۰۱
کل	۰/۱۹۲۵۳	۱/۲۵۰۰		۲۴	

آنالیز آماری به‌روش Duncan و $P < 0/05$ معنادار در نظر گرفته شد.

از گیاه پنیرک با ضریب حساسیت (MIC) ۲۵ mg/ml به دست آمد.^{۱۸} مقادیر به دست آمده در این مطالعات در مقایسه با نتایج به دست آمده در مطالعه‌ای که MIC، MBC و Inhibition zone برای استرپتوکوکوس موتانس به ترتیب ۲ mg/ml، ۲ mg/ml و ۱/۶ mm به دست آمد، متفاوت بود. اختلاف در مقادیر به دست آمده برای MIC، MBC و Inhibition zone در مطالعات مختلف در مقایسه با مطالعه کنونی در مورد عصاره گیاهان می‌تواند به دلایلی مانند روش استخراج عصاره، نوع حلال، میزان انتشار ماده مورد بررسی در محیط کشت، نوع اندام گیاه که مورد عصاره‌گیری قرار گرفته و نوع باکتری مورد بررسی و مدت زمان انکوباسیون باشد.

لازم به یادآوری است در مورد گیاهان بر خلاف آنتی‌بیوتیک‌ها معیار استاندارد بر روی هاله عدم رشد وجود ندارد و با مشاهده هاله عدم رشد بدون توجه به اندازه آن، وجود هاله عدم رشد باکتری نشان‌دهنده حساسیت باکتری به عصاره گیاه مورد آزمایش است و میزان آن، اطلاعات مناسبی در مورد قدرت آنتی‌باکتریال گیاه ارائه نمی‌دهد، چراکه ویژگی‌ها و مواد موجود در گیاهان از جمله وجود لعاب و موسین که اتفاقاً در گیاه پنیرک در مقادیر بسیار بالا موجود است، می‌تواند در میزان انتشار آن در محیط کشت تاثیرگذار باشد.^{۱۹} بنابراین شاید مقایسه هاله عدم رشد گیاه پنیرک و آنتی‌بیوتیک‌ها و کلروهگزیدین در مورد قدرت آنتی‌باکتریال آن‌ها چندان کاربردی نباشد. در مطالعه‌ای پژوهشگران تاثیر عصاره اتانولی-کلروفورمی و آبی گیاه دارویی پنیرک را بر روی باکتری‌ها و قارچ‌های زخم‌های عفونی بررسی کردند. در این مطالعه خاصیت باکتری‌سیدال آنتوسیانین عصاره آبی ثابت شد. در این مطالعه از روش سوکسله جهت استخراج عصاره و تعیین حساسیت میکروبی استفاده گردید و نتایج به دست آمده عصاره اتانولی-آبی-کلروفورمی به ترتیب MIC ۰/۶-۰/۹ و ۰/۱ mg/ml را نشان داد.^{۲۰}

نتایج پژوهش کنونی نشان داد که عصاره گیاه پنیرک دارای خاصیت ضد باکتریایی در مقابل باکتری‌های پوسیدگی‌زا است، که البته وجود اجزا آنتی‌باکتریالی در آن همچون فنل‌ها، فلاونوئیدها، آنتی‌سیانین‌ها و تروپونوئید، می‌تواند توجیه‌کننده این خاصیت باشد. نتایج این مطالعه در شرایط آزمایشگاهی نشان داد که عصاره آبی-متانولی گیاه پنیرک فعالیت ضد میکروبی موثر بر روی باکتری استرپتوکوکوس موتانس دارد. این خاصیت از وجود ترکیبات پلی‌فنلی

از لحاظ آنالیز آماری Duncan's procedure و در همه موارد اختلاف بسیار معناداری در میزان هاله عدم رشد مشاهده گردید. $P < 0/05$ معنادار در نظر گرفته شد. عصاره گیاه پنیرک در غلظت ۲ و ۸ mg/ml و کلروهگزیدین ۰/۰۳ mg/ml بر روی باکتری‌های استرپتوکوکوس موتانس، Minimum inhibitory concentration (MIC) و Minimum bactericidal concentration (MBC) به دست آمد. هاله عدم رشد آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد با توجه به دستورکار کارخانه نشان‌دهنده‌ی مقاوم و حساس بودن برخی از آن‌ها بر روی باکتری‌های مورد آزمایش این پژوهش است که به‌عنوان یکی از کنترل‌های مثبت ملاک قرار گرفت. آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین، کلیندامایسین، آزیترومایسین، اریترومایسین بر روی باکتری‌های استرپتوکوکوس موتانس حساسیت نشان دادند (جدول ۲). وانکومایسین نسبت به استرپتوکوکوس موتانس مقاوم بود و کولیسیتین، سفیکسیم و مترونیدازول به باکتری مقاوم نشان دادند.

بحث

در مطالعه‌ای که توسط Ferrazzano و همکارانش انجام گردید، خواص ترکیبات پلی‌فنلی و آنتی‌کاریوژنیکی مواد گیاهی مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه مشخص شد که پلی‌فنل‌ها، فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها، از طریق کاهش رشد باکتری و اختلال در چسبندگی باکتری به سطح دندان و تاثیر در فعالیت آنزیمی باکتری‌های کاریوژنیک به‌ویژه استرپتوکوکوس موتانس، اثرات ضد پوسیدگی خود را اعمال می‌کنند.^{۱۵} ترپنوئیدها جزو متابولیت‌های ثانویه و در گروه اسانس‌های گیاهی قرار می‌گیرند و در مطالعات انجام‌شده‌ی گذشته، اثر آنتی‌باکتریال، ضد قارچی و آنتی‌ویروسی آن‌ها به اثبات رسیده است،^{۱۶} این مطلب هم راستا با نتایج پژوهش می‌باشد.

در این مطالعه از روش‌های استخراج گرم، سوکسله و آگار دیفیوژن به منظور استخراج عصاره و حساسیت میکروبی استفاده شد. نتایج مویده، اثر ضد باکتریایی عصاره این گیاه از طریق جلوگیری از تولید اسید توسط استرپتوکوکوس موتانس بود. همین نتایج از تحقیقات مشابه به دست آمده بود.^{۱۷} در مطالعه Andreaia و همکارانش اثر ضد باکتریایی گیاهان مختلف به روش تعیین حساسیت ضد باکتریایی بر روی گونه استرپتوکوکوس انجام شد، نتایج به دست آمده

آزمایشگاهی اثر آنتی‌باکتریال عصاره گیاه پنیرک بر باکتری‌ها و مقایسه آن با اثر کلروهگزیدین" در مقطع دکتری عمومی مصوب دانشکده دندانپزشکی شاهد در سال ۱۳۹۴ به کد ۰۱-۷۳۵-۱۳۹۴ می‌باشد که با حمایت دانشگاه علوم پزشکی شاهد اجرا شده است.

گیاه که با آنالیز انگشت‌نگاری (HPTLC) شناسایی شد، اگر چه در مقایسه با کلروهگزیدین و آنتی‌بیوتیک‌ها به‌عنوان گلد استاندارد از حساسیت کمتری برخوردار بود.

سپاسگزاری: این مقاله بخشی از طرح تحقیقاتی تحت عنوان "بررسی

References

1. Nagappan N, John J. Antimicrobial efficacy of herbal and chlorhexidine mouth rinse: a systematic review. *J Dental Medic Sci* 2012;2(4):5-10.
2. Takahashi N, Nyvad B. The role of bacteria in the caries process: ecological perspectives. *J Dent Res* 2011;90(3):294-303.
3. McDonald RE, Avery DR, Stookey GK, Chin JR, Kowolik J. Dental caries in the child and adolescent. In: Dean JA, Avery GK, McDonald RE, editors. *McDonald and Avery Dentiistry for the Child and Adolescent*. 9th ed. St. Louis, MO: Elsevier Inc., 2011. P. 177-204.
4. Kovalik AC, Bisetto P, Pochapski MT, Campagnoli EB, Pilatti GL, Santos FA. Effects of an orabase formulation with ethanolic extract of *Malva sylvestris* L. in oral wound healing in rats. *J Med Food* 2014;17(5):618-24.
5. Benso B, Rosalen PL, Alencar SM, Murata RM. *Malva sylvestris* inhibits inflammatory response in oral human cells: an in vitro infection model. *PLoS One* 2015;10(10):e0140331.
6. DellaGreca M, Cutillo F, D'Arosca B, Fiorentino A, Pacifico S, Zarrelli A. Antioxidant and radical scavenging properties of *Malva sylvestris*. *Nat Prod Commun* 2009;4(7):893-6.
7. Leporatti ML, Ghedira K. Comparative analysis of medicinal plants used in traditional medicine in Italy and Tunisia. *J Ethnobiol Ethnomed* 2009;5:31.
8. Yeole NB, Sandhya P, Chaudhari PS, Bhujbal PS. Evaluation of *Malva sylvestris* and *Pedalium murex* mucilage as suspending agent. *Int J PharmTech Res* 2010;2(1):385-9.
9. Esteves PF, Sato A, Esquibel MA, Campos-Buzzi FD, Meira AV, Cechinel-Filho V. Antinociceptive activity of *Malva sylvestris* L. *Latin Am J Pharm* 2009;28(3):454-6.
10. Afshar M. Evaluation of cutaneous wound healing activity of *Malva sylvestris* aqueous extract in BALB/c mice. *Iran J Basic Med Sci* 2015;18(6):616-22.
11. Popova A, Mihaylovao D. In vitro antioxidant and antimicrobial activity of extracts of Bulgarian *Malva sylvestris* L. Sofia, Livre: 1st National Conference of Biotechnology, 2015.
12. Marouane W, Soussi A, Murat JC, Bezzine S, El Feki A. The protective effect of *Malva sylvestris* on rat kidney damaged by vanadium. *Lipids Health Dis* 2011;10:65.
13. Vanden Abbeele A1, Pourtois M. ATP content in 3-day-old bacterial plaques with or without a 0.2% chlorhexidine mouth rinse. *Acta Stomatol Belg* 1993;90(3):181-7.
14. Razavi SM, Zarrini G, Molavi G, Ghasemi G. Bioactivity of *Malva sylvestris* L., a medicinal plant from Iran. *Iran J Basic Med Sci* 2011;14(6):574-9.
15. Ferrazzano GF, Amato I, Ingenito A, Zarrelli A, Pinto G, Pollio A. Plant polyphenols and their anti-cariogenic properties: a review. *Molecules* 2011;16(2):1486-507.
16. Kandaswami C, Middleton E Jr. Free radical scavenging and antioxidant activity of plant flavonoids. *Adv Exp Med Biol* 1994;366:351-76.
17. Mas T, Susperregui J, Berké B, Chèze C, Moreau S, Nuhrich A, et al. DNA triplex stabilization property of natural anthocyanins. *Phytochemistry* 2000;53(6):679-87.
18. Cardoso A, Cavalcanti YW, de Fátima Almeida L, Luíza Alves de Lima Pérez A, Padilha W. Antifungal activity of plant-based tinctures on *Candida*. *Revista Sul Brasileira de Odontologia* 2012;9(1):25-30
19. Schlegel HG, Zaborosch C. *General Microbiolog*. New York, NY: Cambridge University Press; 2003. P. 352-9.
20. Zare P, Mahmoudi R, Shadfar S, Ehsani A, Afrazeh Y, Saeedan A, et al. Efficacy of chloroform, ethanol and water extracts of medicinal plants, *Malva sylvestris* and *Malva neglecta* on some bacterial and fungal contaminants of wound infections. *J Med Plants Res* 2012;6:4550-2.

Comparative evaluation of antibacterial effect of *Malva sylvestris* L. extract and chlorhexidine on *Streptococcus mutans* in vitro study

Majid Mehran D.D.S., Ph.D.¹
 Rahil Ahmadi D.D.S., Ph.D.¹
 Mohammad Sadegh Kazemi
 D.D.S.²
 Nasrin Takzaree Ph.D.^{3*}

1- Department of Pediatric, School of Dentistry, Shahed University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

2- Dentist, School of Dentistry, Shahed University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

3- Department of Anatomy, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

* Corresponding author: Department of Anatomy, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Poursina St., Qods St., Keshavarz Blvd., Tehran, Iran.
 Tel: +98 21 88953008
 E-mail: takzaree@tums.ac.ir

Abstract

Received: 22 Apr. 2018 Revised: 29 Apr. 2018 Accepted: 16 Dec. 2018 Available online: 26 Dec. 2018

Background: Identifying the best species of medicinal plants and extracting effective substances can be effective in preventing oral and dental illness. The *Malva sylvestris* L. is among these plants. *Malva sylvestris* L. belongs to Malvaceae family from which a great deal of (Malvone A: 2-methyl-3-methoxy-5,6-di-hydroxy-1,4-naphthoquinone) anthocyanin and important natural pigments have been extracted. Anthocyanins and other substances of *Malva sylvestris* own antibacterial properties. Antibacterial properties of *Malva sylvestris* were investigated on the bacterial species. The purpose of this study was to investigate the antibacterial effects of the *Malva sylvestris* L. extract on the *Streptococcus mutans* and compare it with the effect of chlorhexidine (0.12%).

Methods: This experimental study was carried out at the Shahed University of Medical Sciences, Tehran, Iran in the field of microbiology in January 2016 to September 2016. Methanolic aqueous extract of *Malva sylvestris* L. was prepared by decoction extraction method. The presence of polyphenol trepoid, saponine, anthocyanins compounds in the extract was approved by high performance thin layer chromatography. Chromatographic and spectral fingerprint analysis plays an important role in the quality control of complex herbal medicines. The antimicrobial effect of the *Malva sylvestris* L. on the growth of *Streptococcus mutans* was evaluated.

Results: Extract at different concentrations (16.8-4.2 mg/ml) had an antibacterial effect and compared with commonly used chlorhexidine in dentistry. The non-growth halo against *Streptococcus mutans* showed an average of 1.66 mm. The minimum inhibitory concentration against *Streptococcus* was 2 mg/ml. The presence of polyphenols, troponides of saponin, was characterized by high performance thin-layer chromatography (HPTLC).

Conclusion: However, antibiotics play an important role in human health, with the increasing occurrence of bacterial resistance against available antibiotics. The results of this study showed that the aqueous-methanolic extract of the *Malva sylvestris* L. plant has antimicrobial activity affecting *Streptococcus mutans*. The flowers extract also showed high antibacterial effects against some human pathogen bacteria strains. This property of polyphenolic compounds of the plant, identified by fingerprint analysis, was less susceptible to chlorhexidine than gold standard.

Keywords: anti-bacterial, chlorhexidine, chromatography, *Malva sylvestris* L., *Streptococcus mutans*.