Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 18:11 +0430 on Thursday March 22nd 2018

مقاله پژوهشی

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک

سال 13، شماره 1 (شماره پیاپی 50)، بهار 1389، 126-119

اثر بخشی عصاره هیدرو الکلی گیاه برهان بر باسیل‌های گرم منفی روده‌ای و باسیل‌های گرم مثبت هوازی

دکتر سید مجتبی موسویان[1*]، دکتر امیرسیاهپوش[2]، عفت عباسی[3]، دکتر حیدر دارابی فر[4]

1- دانشیار، دکترای میکروب شناسی، گروه میکروب شناسی، مرکز تحقیقات بیماری های عفونی و گرمسیری، دانشگاه جندی شاپور، اهواز، ایران

2- استادیار، دکترای داروسازی، دانشکده داروسازی، دانشگاه جندی شاپور، اهواز، ایران

3- دانشجوی دکترای میکروب شناسی و باکتری شناسی، دانشگاه جندی شاپور، اهواز، ایران

4- دکتری داروسازی، اهواز، ایران

تاریخ دریافت 88/6/28، تاریخ پذیرش 88/8/13

چکیده

زمینه و هدف: گیاه برهان در درمان اسهال ساده و اسهال خونی مورد استفاده قرار می گیرد. در این تحقیق اثر بخشی عصاره هیدروالکلی این گیاه بر باسیل های گرم منفی روده ای و باسیل های گرم مثبت هوازی تعیین گردید.

مواد و روش ها: در این تحقیق تجربی- آزمایشگاهی میوه، گل و برگ گیاه برهان با روش خیساندن در حلال الکل مورد عصاره‌گیری تام قرار گرفتند. سپس با حلال اتیل استات، ترکیبات پلی فنلی آن جدا گردید. پس از تغلیظ عصاره‌های مختلف با روش‌های دیسک دیفیوژن و نیز رقت در لوله، حداقل غلظت مهار کنندگی ماده ضد میکروبی و حداقل غلظت کشندگی ماده ضد میکروبی آنها بر باکتری‌های اشریشیاکلی، شیگلا دیسانتریه، پروتئوس میرابیلیس، سالمونلا تیفی و باسیلوس‌های آنتراسیس و سرئوس مورد سنجش قرار گرفتند. سپس تاثیر هر کدام از عصاره‌ها با هم و نیز با چند آنتی بیوتیک مختلف، با روش آنالیز واریانس مقایسه گردیدند.

یافته ها: عصاره‌های مختلف گیاه مذکور فقط بر شیگلا دیسانتریه، باسیلوس آنتراسیس و سرئوس نتایج مؤثر و نزدیک به هم داشته‌اند. با این حال تأثیر عصارهٔ تام میوه بهتر از عصاره گل، برگ و فلاونوئیدی میوه بود. نتایج حداقل غلظت مهار کنندگی ماده ضد میکروبی و حداقل غلظت کشندگی ماده ضد میکروبی برروی سه باکتری نامبرده، به ترتیب 0/125 و 0/25 گرم در میلی‌لیتر بود در حالی که اثرات ترکیبات پلی فنلی میوه این گیاه با عصاره هیدروالکلی آن شبیه بود.

نتیجه گیری: با شناسایی ترکیبات مختلف گیاه برهان و با دستیابی به فرمولاسیون جدیدی از این ترکیبات، امکان استفاده از آن برای درمان بیماری‌های التهابی، آسم و افزایش سطح ایمنی بیماران فراهم خواهد شد.

واژگان کلیدی: گیاه برهان، باسیلوس ها، فلاونوئید ها، عصاره هیدروالکلی، شیگلا

* **نویسنده مسئول:** اهواز، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور ، دانشکده پزشکی، گروه میکروب شناسی

Email:moosavian_m@yahoo.com

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 18:11 +0430 on Thursday March 22nd 2018

مقدمه

طی سالیان متمادی داروهای طبیعی، خصوصاً گیاهان دارویی اساس و حتی در برخی موارد تنها طریق درمان محسوب می‌شدند. در عین حال مواد اولیه موجود در این گیاهان در صنعت داروسازی و یا به عنوان گیاهانی با خاصیت ضد عفونی کنندگی مورد استفاده قرار می‌گرفتند(1، 2).

گیاه برهان با نام علمی *Albizzia lebbeck* درختی است زیبا، زینتی، بدون خار و به ارتفاع 20-5 متر که ساقه و شاخه‌هایی با پوست سبز روشن دارد. شاخه‌های گستردهٔ آن وضع چتر مانند به درخت می‌دهد. گل‌های سفید، صورتی و یا سرخ رنگ آن به تعداد فراوان بر روی شاخه‌ها ظاهر می‌شود. میوه‌ای نیام باریک و نازک، مسطح و محتوی دانه‌های بیضوی دراز به رنگ قهوه‌ای روشن دارد. در مناطق نیمه گرم آسیا و آفریقا می‌روید و پرورش می‌یابد. این گیاه غالباً در نوحی جنوب ایران مانند بوشهر، بلوچستان، آبادان، خرمشهر، اهواز و بندر عباس رویش دارد(3).

ترکیبات شیمیایی برهان شامل صمغ(Gum) ، چند ساپونین (Saponin) و تانن (Tannin) می‌باشند. مخلوطی از چند ساپونین که از دانه‌های گیاه گرفته می‌شود دارای اسید اولئانوئیک (Oleanoic acid) ، اسید آلینوسیتیک (Alinocytic) و اسید اکینوسیستیک (Echinocystic Acid) است. دانه‌های داخل غلاف دارای اسید آلبی ژنیک (Albigenic Acid) است که ایزومر اسید اکینوسیستیک می‌باشد(4). هم‌چنین ترکیبات فلاونوئیدی(Flavonoid) (5، 6) اسید آمینه غیرپروتئینی آلبی زین(Aibizzine) دارد(7، 8).

از پوست این گیاه برای درمان ناراحتی‌های پوستی، خارش، رفع التهاب، مداوای باد سرخ (Erysipelase) و رفع ترشح زیاد و غیر طبیعی عرق استفاده می‌شود. در هند و چین از پوست ساقه‌ها و دانه‌های آن برای رفع اسهال خونی، اسهال ساده و معالجه بواسیر استفاده می‌شود. علاوه بر این از گل‌های آن به عنوان نرم کننده و باز کنندهٔ دمل و جراحات و برای معالجه جوش‌ها و نیز برای درمان آسم استفاده می‌گردد(4، 5، 9). بعضی از ترکیبات این گیاه دارای اثرات ضد باروری، ضد هورمونی و ضد توموری می‌باشند که در پزشکی اهمیت ویژه‌ای دارند(9).

هم‌چنین عصارهٔ پوست گیاه برهان دارای اثرات ضد میکروبی بر میکروارگانیسم‌های هوازی می‌باشد. مکانیسم اثر آن به علت نشت ماده سیتوپلاسمی از پیکر میکروب‌ها به بیرون می‌باشد(9 ،10). بعضی از بررسی‌ها نیز نشان داده‌اند که ترکیبات فلاونوئیدی موجود در این گیاه دارای اثرات ضد باکتریال بر تعداد زیادی از باکتری‌های پاتوژن بوده است(7 ،9).

هدف این بررسی نیز تعیین اثر عصاره هیدروالکلی اجزاء هوایی این گیاه برچند باسیل گرم منفی خانوادهٔ انتروباکتریاسه و نیز بعضی باسیل‌های گرم مثبت بود. انتخاب این باکتری‌ها نیز به خاطرنقش ویژه‌ای است که در ایجاد اسهال و یا اختلالات معدی-روده‌ای کودکان یا بزرگسالان ایفا می‌نمایند.

مواد و روش ها

در این تحقیق تجربی – آزمایشگاهی باکتری‌های باسیلوس سرئوس (PTCC1247-*Bacillus* cereus)، سالمونلا تیفی (PTCC1639 - *Salmonella typhi*)، شیگلا دیسانتری (PTCC1188- *Shigella dysentriae*) و اشریشیاکلی (PTCC1399- *Escherchia coli*) از مرکز کلکسیون میکروبی در سازمان پژوهش‌های علمی– صنعتی ایران تهیه گردید ولی دو باکتری باسیلوس آنتراسیس (*Bacillus anthracis*) و پروتئوس میرابیلیس (*Proteus mirabilis*) از نمونه‌های بالینی جدا شدند. در نهایت با انجام تست‌های تشخیصی استاندارد نظیر: SIM (Lysine Iron ,(Triple Suger Iron Agar)TSI (Sulfide indole motility), Agar)LIA، مالونیت و اوره باسیل‌های گرم منفی و با انجام تست‌های حساسیت به پنی سیلین، حرکت، همولیز در محیط بلادآگار و شکل کلنی‌ها، باسیل‌های گرم مثبت مجدداً مورد آزمایش قرار گرفتند(11).

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 18:11 +0430 on Thursday March 22nd 2018

برای گرفتن عصاره گیاه از روش خیساندن (Maceration) استفاده شد. ارلن حاوی اندام‌های خرد شدهٔ گیاه با مقدار لازم از حلال اتانول 80 درصد "شرکت سیمین تاک" برای مدت 72-48 ساعت روی شیکر قرار گرفت تا عمل جدا سازی مواد مؤثره به خوبی صورت پذیرد(12). سپس خیسانده را با صافی کتانی و بعد با صافی کاغذی صاف کرده و با استفاده از دستگاه تقطیر در خلاء (Heidolph - آلمان) تغلیظ و عصارهٔ خشک آن تعیین مقدار گردید. برای تهیه عصاره پلی فنلی، عصاره تام تغلیظ شده را با مقادیر لازم اتیل استات (شرکت Merck آلمان - به عنوان حلال فلاونوئیدی) مخلوط و سپس عمل دکانتاسیون انجام گرفت. عصارهٔ اتیل استاتی نیز به همان طریق ذکر شده (با دستگاه تقطیر در خلاء) تغلیظ و خشک گردید. به این ترتیب عصارهٔ پلی فنلی(فلاونوئیدی) نیز جدا شد(13).

با حل کردن مقدار یک گرم از هر عصاره (میوه، برگ، گل و فلاونوئید) در یک میلی‌لیتر اتانول، ابتدا غلظت 100 درصد و سپس با حل کردن مقادیر مختلف، غلظت‌های 1، 30، 60 و 80 درصد آن عصاره به صورت وزنی- حجمی تهیه گردید.

در این تحقیق از دو روش استفاده شد. روش اول انتشار از طریق دیسک کاغذی (Disk diffusion method) بود. در این روش طبق روش متداول کربی- بوئر (Kirby - Bauer)، جهت تعیین حساسیت میکروارگانیسم‌ها نسبت به مواد ضد میکروبی عمل گردید. ابتدا سوسپانسیون میکروبی معادل 0/5 مک فارلند بر اساس روش استاندارد تهیه شد(11). سپس با استفاده از یک سوآب استریل اشباع شده از سوسپانسیون میکروبی، کشت سفره‌ای فشرده‌ای در تمام سطح پلیت مولر هینتون آگار (شرکت Merck آلمان) ایجاد گردید. با قرار دادن دیسک‌های(شرکت پادتن طب) اشباع شده از ماده ضد میکروبی و نیز بعضی از دیسک‌های آنتی بیوتیکی نظیر وانکومایسین، تتراسیکلین، سفتی زوکسیم، سفتریاکسون و جنتامایسین، به منظور مقایسه با عصاره ضد میکروبی مورد آزمایش برسطح محیط کشت باکتری، پلیت‌ها به مدت 24 ساعت در دمای 37 درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. در پایان دوره انکوباسیون هاله عدم رشد اطراف هر دیسک با خط کش میلی‌متری به دقت اندازه‌گیری شد(14). این کار برای هر رقت و هر باکتری به طور جداگانه، حداقل 5 بار انجام پذیرفت. در این بررسی از دیسک‌های کاغذی استریل فاقد هر گونه ماده ضد میکروبی، به عنوان کنترل استفاده گردید. پس از تعیین دانسیته هرکدام از عصاره‌ها و نیز تعیین وزن میانگین هر دیسک کاغذی، مقدار وزن هرکدام از عصاره‌های میوه، گل، برگ و نیز عصاره فلاونوئیدی میوه به ترتیب 18، 19، 35 و 43 میلی‌گرم به ازای هر دیسک بود.

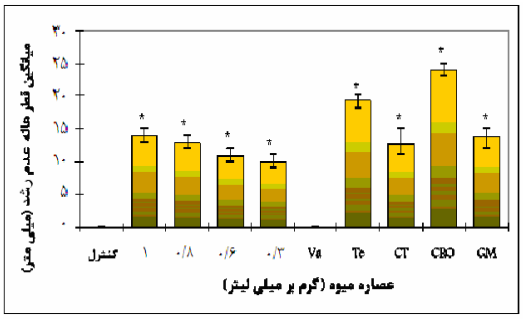
برای مقایسه عصاره‌های مختلف گیاه برهان، با استفاده از روش‌های آماری توصیفی و آزمون‌های آماری (آنالیز واریانس) و سطح معنی‌دار بودن($p<0/05$) غلظت‌های مختلف تعیین گردید، روش دوم رقت لوله‌ای(Tube Dilution Method) بود. با استفاده از روش رقت لوله‌ای، حداقل غلظت مهار کنندگی مادهٔ ضد میکروبی – (Minimal Inhibitory Concentration MIC) و حداقل غلظت کشندگی مادهٔ ضد میکروبی (Minimal Bacteriocidal Concentration -MBC) تعیین می‌گردید. در این روش از محیط کشت آبگوشتی مولرهینتون (شرکت Merck آلمان) استفاده شد. ابتدا از مادهٔ ضد میکروبی رقت‌های سریالی حاوی 1، 0/5 ، 0/25 ، 0/125 و 0/0625 گرم در هر میلی‌لیتر محیط را تهیه نموده و سپس به هر کدام از این لوله‌ها،10 میکرو لیتر سوسپانسیون میکروبی معادل 0/5 مک فارلند(11) افزوده شد. این لوله در دمای 37 درجه سانتی‌گراد به مدت 18 ساعت انکوبه شدند. آخرین لوله‌ای که فاقد کدورت بود به عنوان MIC در نظر گرفته شد(15)، ولی برای سنجش MBC، کشت مجددی از لوله‌های MIC و یک رقت پایین‌تر و بالاتر از آن بر روی محیط جامد مولر هینتون آگار صورت گرفت. بعد از 24-18 ساعت انکوبه کردن پلیت‌ها در 37 درجه سانتی‌گراد، آخرین لوله‌ای که هیچ گونه رشدی از باکتری بر روی پلیت مربوطه نداشت، به عنوان MBC در نظر گرفته شد(15).

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 18:11 +0430 on Thursday March 22nd 2018

تعیین MIC با روش E-test برای شناسایی MIC عصاره فلاونوئیدی استفاده گردید. ابتدا یک سوسپانسیون میکروبی مطابق با 0/5 مک فارلند تهیه نموده و بر روی سطح محیط مولر هینتون آگار به طور یکنواخت پخش گردید. مادهٔ ضد میکروبی را در غلظت‌های سریالی (مانند قبل) تهیه کرده و در شرایط آسپتیک به دیسک‌های کاغذی استریل (شرکت پادتن طب) منتقل شدند. سپس دیسک‌ها به ترتیب غلظت از بالا به پایین، به صورت خطی و پشت سرهم بر روی محیط جامد قرار گرفتند. بعداز انکوباسیون پلیت‌ها در دمای 37 درجه سانتی‌گراد، به مدت 16-18 ساعت، هاله بیضوی شکل ممانعت از رشد باکتری در اطراف نوار دیسک‌ها ایجاد گردید. محل قطع هاله ممانعت از رشد با دیسک‌ها، به عنوان MIC در نظر گرفته شد(16).

یافته‌ها

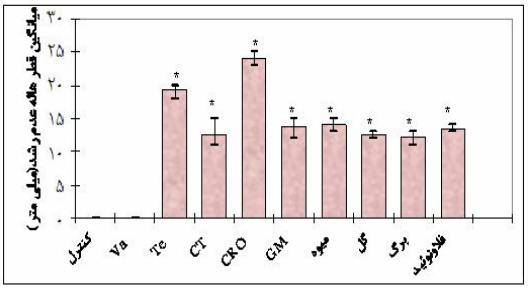
نتایج به دست آمده از آزمون مقایسه میانگین قطر هاله عدم رشد غلظت‌های مختلف عصاره میوه گیاه برهان بر باکتری شیگلادیسانتریه نشان دهندهٔ آن است که تفاوت معنی‌داری بین میانگین 4 غلظت عصاره میوه وجود دارد($p<0/05$)، ولی چنان چه میانگین‌ها به صورت دوتایی با یکدیگر مقایسه شوند، میان دو غلظت 80 و 100 درصد (به ترتیب حاوی 1 و 0/8 گرم در میلی‌لیتر) و هم‌چنین بین دو غلظت 30 و 60 درصد (به ترتیب حاوی 0/6 و 0/3 گرم در میلی‌لیتر) از عصاره میوه تفاوت معنی‌داری از نظر آماری وجود ندارد($p>0/05$). به بیان دیگر دو غلظت گروه اول(80 و 100) و هم‌چنین دو غلظت گروه دوم(30 و60)، از نظر اندازه قطر هاله عدم رشد مانند هم عمل می‌کنند. اما میان هر کدام از غلظت‌های گروه اول با هر کدام از غلظت‌های گروه دوم تفاوت معنی‌داری وجود دارد(نمودار1).



نمودار1. میانگین قطر هاله‌های ایجاد شده علیه باکتری شیگلادیسانتریه توسط عصاره تام میوهٔ گیاه برهان، در مقایسه با آنتی بیوتیک‌های مختلف (میانگین 5 بار آزمایش) به روش دیسک دیفیوژن.
***اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل (دیسک کاغذی استریل فاقد هر ماده ضد میکروبی).**
(Te: تتراسیکلین30 میکروگرم، Va: وانکومایسین30 میکروگرم، GM: جنتامایسین10 میکروگرم، CT : سفتی زوکسیم 30 میکروگرم، CRO: سفتریاکسون30 میکروگرم)

این نتایج هم‌چنین برای عصاره‌های 100 درصد (یک گرم در میلی‌لیتر) گل، برگ و فلاونوئیدی میوه در مقابل بقیه باکتری‌ها، در هنگام سنجش دو به دو با یکدیگر مشابه نمودار1 بود.

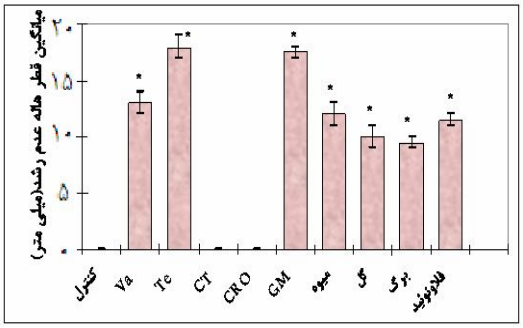
مقایسه اثر عصاره‌های اجزاء مختلف گیاه برهان و آنتی بیوتیک‌های مختلف بر میانگین قطر هاله عدم رشد باکتری شیگلا دیسانتریه نشان داد که غلظت‌های 100 درصد عصاره میوه، گل، برگ، فلاونوئید و هم‌چنین آنتی بیوتیک سفتی زوکسیم و جنتامایسین اثر یکسانی داشته اما در مقایسه با دو آنتی بیوتیک تتراسایکلین و سفتریاکسون متفاوت (ضعیف‌تر) عمل می‌کنند(نمودار2).



نمودار2. میانگین قطر هاله‌های ایجاد شده علیه باکتری شیگلادیسانتریه توسط عصاره100درصد میوه، گل، برگ و فلاونوئیدی میوه گیاه برهان در مقایسه با آنتی بیوتیک‌های مختلف (میانگین 5 بار آزمایش) به روش دیسک دیفیوژن نشان داده شده است.
***اختلاف معنی دار با گروه کنترل(دیسک کاغذی استریل فاقد هر ماده ضد میکروبی).**

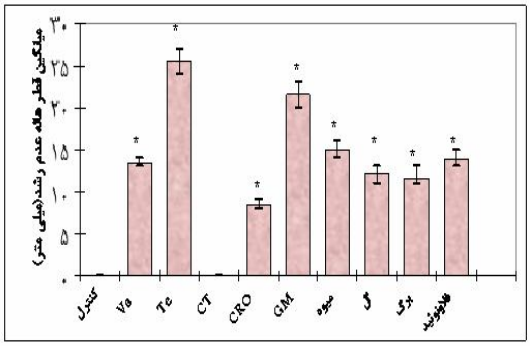
Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 18:11 +0430 on Thursday March 22nd 2018

نتایج این بررسی هم‌چنین نشان داد که اثر غلظت‌های 100 درصد (یک گرم در میلی‌لیتر) میوه بر میانگین قطر هاله عدم رشد باسیلوس سرئوس نسبت به گل و برگ تفاوت معنی‌داری داشته($p<0/05$) و در واقع هاله عدم رشد بزرگ‌تری ایجاد می‌کند، اما تفاوت معنی‌داری با عصاره 100 درصد فلاونوئید و هم‌چنین آنتی بیوتیک وانکومایسین نشان نمی‌دهد($p>0/05$). با این حال عصاره 100 درصد میوه در مقایسه با دو آنتی بیوتیک تتراسایکلین و جنتامایسین ضعیف‌تر عمل کرده و تفاوت معنی‌داری نیز نشان می‌دهد(نمودار3).



نمودار 3. میانگین قطر هاله‌های ایجاد شده علیه باکتری باسیلوس سرئوس توسط عصاره یک گرم در میلی لیتر (100درصد) میوه، گل، برگ و فلاونوئیدی میوه گیاه برهان در مقایسه با آنتی بیوتیک‌های مختلف (میانگین 5 بار آزمایش) به روش دیسک دیفیوژن نشان داده شده است.
***اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل(دیسک کاغذی استریل فاقد هر ماده ضد میکروبی).**

این نتایج در مورد باسیلوس آنتراسیس نشان داد که میانگین غلظت یک گرم در میلی‌لیتر عصاره میوه در مقایسه با میانگین‌های عصاره یک گرم در میلی‌لیتر فلاونوئیدی و هم‌چنین آنتی بیوتیک وانکومایسین تفاوت معنی‌داری نداشته است($p>0/05$). اما در مقایسه با میانگین دو غلظت عصاره یک گرم در میلی‌لیتر برگ و گل و هم‌چنین آنتی بیوتیک سفتریاکسون تفاوت معنی‌داری نشان داده($p<0/05$) و بهتر از آنها عمل می‌کند. مقایسه همین عصاره با دو آنتی بیوتیک تتراسایکلین و جنتامایسین حاکی از تفاوت معنی‌دار بوده و هاله عدم رشد کوچکتری ایجاد نمود(نمودار4).



نمودار4. میانگین قطر هاله‌های ایجاد شده علیه باکتری باسیلوس آنتراسیس توسط عصاره100 درصد میوه، گل، برگ و فلاونوئیدی میوه گیاه برهان در مقایسه با آنتی بیوتیک‌های مختلف (میانگین 5 بار آزمایش) به روش دیسک دیفیوژن نشان داده شده است.
***اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل(دیسک کاغذی استریل فاقد هر ماده ضد میکروبی).**

بنابراین در این تحقیق، نتایج حاصل از میانگین 5 بار تکرار عصاره‌های میوه، گل و برگ گیاه برهان با غلظت یک گرم در میلی‌لیتر، بر روی قطر هاله عدم رشد باسیلوس آنتراسیس، سرئوس و شیگلا دیسانتریه یکسان و یا نزدیک به هم بوده است. هم‌چنین MIC محاسبه شده برای هرکدام از این عصاره‌ها، برابر با 0/125 گرم در میلی‌لیتر(لوله حاوی 12/5 درصد) و MBC آنها برابر با رقت قبلی یعنی 0/25 گرم در میلی‌لیتر (لوله حاوی 25 در صد) حاصل گردید.

برای عصارهٔ فلاونوئیدی میوه نیز نتایج MIC که از روش E.test به دست آمد برای هر 3 باکتری شیگلا دیسانتریه، باسیلوس آنتراسیس و سرئوس همان 0/125 گرم در میلی‌لیتر بود.

بحث

وجود خواص ضد عفونی کنندگی علاوه بر اثرات درمانی از عوامل توجه طب سنتی به گیاهان دارویی در سال‌های اخیر بوده است(2). گیاه برهان از گیاهانی است که در طب سنتی به دلیل خواص درمانی و اثرات ضد میکروبی فراوان مورد توجه زیاد قرار گرفته است. رویش فراوان این گیاه در مناطق جنوبی و شرقی ایران، بویژه در مناطق آب و هوایی گرم ایران (نظیر بندرعباس و خوزستان) واستفاده از اجزاء مختلف آن برای درمان‌های پوستی -

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 18:11 +0430 on Thursday March 22nd 2018

جلدی، به خصوص در درمان بیماری‌های التهابی و اسهال‌های ساده و خونی(4، 5، 9) از عوامل موثر برای انتخاب گیاه برهان در این بررسی بوده است.

نتایج بررسی عصاره هیدروالکلی میوه،گل و برگ این گیاه برروی باسیل‌های گرم منفی و مثبت حاکی از عدم تأثیر آنها بر سه باکتری اشریشیاکلی، پروتئوس میرابیلیس و سالمونلاتیفی بوده، در حالی که بر سه باکتری دیگر مورد آزمایش، یعنی شیگلادیسانتریه، باسیلوس آنتراسیس و باسیلوس سرئوس نتایج موثر و نزدیک به هم داشته است.

میانگین قطر هاله‌های به دست آمده از روش دیسک دیفیوژن نشان داد که بیشترین اثر مربوط به عصاره اتانولی تام میوه گیاه مذکور بر باسیلوس آنتراسیس و پس از آن بر شیگلا دیسانتریه بوده است. در این بررسی، کمترین اثر حاصل، مربوط به اثر عصاره برگ بر باسیلوس سرئوس بود. در واقع باسیلوس سرئوس مقاومت بیشتری نسبت به دو باکتری حساس نام برده در مقابل تمامی عصاره‌ها نشان داد.

نتایج این بررسی هم‌چنین نشان داد که عصاره فلاونوئیدی میوه نیز بر سه باکتری شیگلادیسانتریه، باسیلوس سرئوس و آنتراسیس با غلظت‌های مختلف موثر بوده، اما بر میانگین قطر هاله عدم رشد آنها به طور متفاوتی عمل می‌کند. در این میان عصاره فلاونوئیدی میوه با غلظت یک گرم در میلی‌لیتر (100درصد) باعث ایجاد هاله عدم رشد بسیار نزدیک یا مشابه با عصاره هیدروالکلی می‌شود.

مطالعات انجام شده توسط محققین بنگلادشی در دانشگاه داکا (Dhaka) نشان داد که ترکیبات فلاونوئیدی موجود در میوه گیاه برهان، نظیر 7-دی متوکسی- فلاون (7-dimethoxy-flavon) و 3`و5 دی هیدروکسی -4 (3`-5-dihydroxy-4`) خاصیت ضد میکروبی داشته و آنها این اثر را بر روی 19 باکتری مختلف، از طریق دیسک دیفیوژن(با مقادیر 200 میکروگرم در هر دیسک) مورد سنجش قرار دادند(7). آنها نشان دادند که اگرچه ترکیبات فلاونوئیدی میوه گیاه برهان بر سالمونلا تیفی و شیگلا دیسانتریه بی‌تأثیر است، ولی بر اشریشیا کلی و باسیلوس سرئوس اثر داشته و هاله‌های عدم رشدی با قطرهای به ترتیب 10 و 15 میلی‌متر در مقابل آنها ایجاد می‌نماید. با این حال تاثیر این ترکیبات در مقایسه با آنتی بیوتیک کانامایسین کمتر بوده است.

نتایج حاصل از تحقیق ما نیز در مواردی با نتایج آنها هم‌خوانی داشته است و علاوه بر آن، نتایج تحقیق حاضر نشان داد اثر ضد میکروبی گیاه برهان فقط مربوط به ترکیبات فلاونوئیدی آن نمی‌باشد. کومار و همکاران نیز نشان دادند که ترکیبات فعال جداشده از پوست گیاه برهان دارای فعالیت ضد میکروبی بوده و موجب تراوش مواد سیتوپلاسمی موجود در پیکر میکروارگانیسم می‌گردد(9). بعضی از محققین هندی نیز نشان دادند که این تاثیر ضد میکروبی مربوط به آنتراکینون گلیکوزیدها است(10).

نکته دیگر اینکه در بررسی حاضر، MIC برای عصاره‌های اجزاء مختلف گیاه برهان یکسان بود. به طوری که MIC حاصل برای عصاره‌های هیدروالکلی میوه، برگ و گل ونیز عصاره فلاونوئیدی میوه این گیاه مشابه و برابر با 0/125 گرم در میلی‌لیتر بوده است. در این حالت قطر هاله عدم رشد برروی محیط مولرهینتون آگار برای باکتری‌های شیگلادیسانتریه و باسیلوس آنتراسیس، در مقابل دیسک‌های اشباع شده از عصاره فلاونوئیدی میوه گیاه، برابر 9 میلی‌متر و برای باسیلوس سرئوس، 8 میلی‌متر به دست آمد. این نتایج نشان داد که هاله‌های بزرگ‌تر، که در مقابل غلظت بالاتر (یعنی 0/25 گرم در میلی‌لیتر) حاصل گردیدند، مربوط به MBC بوده و به عنوان هاله‌های حساس در نظر گرفته شدند.

نتیجه گیری

با توجه به اهمیت گیاه برهان در طب سنتی و موارد استعمال فراوان آن و نقشی که احتمالاً در حفاظت از سلول‌های کبدی دارند(9)، هم‌چنین با در نظر گرفتن نتایج حاصل از این تحقیق، می‌توان از طریق آنالیز ترکیبات ضد باکتری موجود در گیاه و یافتن ماده خالص و موثر آن و نیز بررسی اثرات فارماکولوژیکی ماده خالص شده در شرایط آزمایشگاهی (In vitro) و داخل بدن (In vivo)، مقدمات

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 18:11 +0430 on Thursday March 22nd 2018

معرفی آن را برای درمان بیماری‌های عفونی فراهم نمود. ضمن آن که با وجود ترکیبات قوی ضد آسم در عصاره‌های گیاه برهان، تهیه فرمولاسیون جدید دارویی برای درمان‌های التهابی، افزایش سطح ایمنی و درمان آسم دور از انتظار نیست.

تشکر و قدردانی

از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه، مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی و گرمسیری و دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز که با تصویب و تأمین هزینه‌های طرح و امکانات لازم ما را در انجام این پروژه تحقیقاتی یاری رسانیده‌اند، سپاسگزاری می‌نماییم.

منابع

1. Volak J, Stodola J. Pharmaceutical plants, culturing and taking methods and explanation of 256 plant color slides. Translated by: Saed Z. 2nd ed. Tehran: Ghoghnus Pub; 1995.
2. Amin Gh. Traditional pharmaceutical plants of Iran. Vol 1. Tehran: Farhang Edition; 1991.
3. Hans F . Medicinal plants. Translated by: Tavakoli Saberi MR, Sedaghat MR. 5th ed. Tehran: Roozbahan Publication; 2000.
4. Zargari A. Pharmaceutical Plants. Vol 2. Tehran: Tehran University Publication; 1988.
5. Mirheidar H. Plants information. Application in prevention and treatment of diseases. Vol 4 Tehran: Islamic Cultural Publication;1994.
6. Nair AGR, Krishnakumary P. Flavonoids of Dendrophthone falcata Ettingsh growing on different host plants. Indian J Chem 1989; 29 B (6): 584 – 5.
7. Rizwana BR, Rasheduzzaman C, Abduljabbar CM, Choudhury M, Hasan and Mohammad A Rashid. Constituents of Albizzia lebbeck and antibacterial activity of on isolated flavone derivative. Saudi Pharm J 2003; 11: 52 – 5.
8. Van Eys JE, Mathius IW, Pongsapan P, Johnson WL. Foliage of the tree legumes gliricidia, leucaena, and sesbania as supplement to napier grass diets for growing goats. J Agricul Sci (Cambridge) 1986; 107:227– 233
9. Kumar A, Saluja AK, Shah UD, Mayavanshi AV. Pharmacological potentioal of Albizzia lebbeck: A Review. Pharmacognosy Reviews 2007; 1(1) :171-4.
10. Chintawar SD, Somani RS, Kasturc SB. Nootropic activity of Albizzia lebbeck in mice. J Ethnopharmacol 2002; 81(3): 299-305.
11. Baron EJ, Finegold SM. Bailey & Scott's diagnostic microbiology. 8th ed. St louis: Mosby; 1990.
12. Markham KR. Technique of flavonoid identification. London: Academic Press; 1982.
13. Ghasemi N, Moattar F. Pharmacognosy laboratory procedures.Isfahan: Pharmacy School, Isfahan University of Medical Sciences; 1992.
14. Block JH, Beale JM. Wilson and Gisvold's textbook of organic medicinal and pharmaceutical chemistry. 11th ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins; 2004.
15. Rahman M, Kuhn I, Rahman M, Olsson-Liljequist B, Mollby R. Evaluation of a scanner-assisted Colorimetric MIC method susceptibility testing of gram-negative fermentative bacterial. Appl Environ Microbial 2004; 70(4): 2398-403.
16. Coplu N, Aktepe OC, Uluutku S, Guvener E. In vitro MIC determination of hemophilus influenzae strain using E-Test. Ankara. Turk J Med Sci 2001; 31: 205-8.

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 18:11 +0430 on Thursday March 22nd 2018

Arak Medical University Journal (AMUJ)
Spring 2010; 13(1): 119-126

Original Article

The effects of hydro-ethanolic *Albizzia lebbeck* extract on enteric gram-negative and aerobic gram-positive bacilli

Moosavian M[1*], Siahpoosh A[2], Abbasi E[3], Darabi Far H[4]

1- Associate Professor, PhD in Microbiology, Microbiology Dpartment, Infectious & Tropical Diseases Research Center, Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran
2- Assistant Professor, PhD of pharmacology, School of Pharmacy, Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran
3- PhD student Medical Microbiology, School of Medicine, Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran
4- Pharm D. School of Pharmacy, Ahvaz Jundishapur Univercity, School of Medical Sciences, Ahvaz, Iran

Received 19 Sep, 2009 Accepted 4 Nov, 2009

Abstract

Background: *Albizzia lebbeck* is used for the treatment of diarrhea and dysentery. In this study the efficacy of hydro-ethanolic extract of this plant on enteric gram-negative and aerobic gram-positive bacillis was determined.

Materials and Methods: In this experimental-clinical trial, cold maceration method by ethanol was used for extraction of *Albizzia lebbeck* fruit, seed, flower and leaves. Then its polyphenolic components were separated by ethyl acetate. After concentrating the different extracts through disk diffusion and tube dilution, the effect of minimal inhibitory concentration (MIC) and minimal bacteriocidal concentration (MBC) of their antibacterial component on *shigella dysenteriae, proteus mirabilis, escherchia coli, bacillus cereus and bacillus anthracis* were evaluated. Also, the antibacterial effects of *Albizzia lebbeck* extracts together and in combination with some antibiotics, were compared through variance analysis.

Results: Different extracts of *Albizzia lebbeck* just had similar and positive effects on *shigella dysenteriae, bacillus cereus, and bacillus anthracis*. However, the hydro-ethanolic fruit extract was more effective than the falavnoid fruit, flower and leave extracts. MIC and MBC results for antibacterial material on the three aforementioned bacterias were 0.125 and 0.25 gram/ml, respectively while the effects of the polyphenolic components of this plant's fruit were similar to its hydro-ethanolic extracts.

Conclusion: Through the identification of different components of *Albizzia lebbeck* and the attainment of new formulations of these components, the grounds will be provided for its application on treatment of patients with inflammatory diseases and asthma, and on improvement of their immune system.

Keywords: *Albizzia lebbeck*, bacillus, flavonoid, hydro-ethanolic extraction, *shigella*

*Corresponding Author:
Email: moosavian_m@yahoo.com
Address: Dept. of Microbiology, School of Medicine, Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.