

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

دکتر سید مجتبی موسویان<sup>1\*</sup>، دکتر امیر سیاهپوش<sup>2</sup>، عفت عباسی<sup>3</sup>، دکتر حیدر داریایی<sup>4</sup> فر

- 1- دانشیار، دکترای میکروب شناسی، گروه میکروب شناسی، مرکز تحقیقات بیماری‌های 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- دکترای 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 می‌گیرد. در این تحقیق اثر بخشی عصاره هیدروالکی این گیاه بر باسیل‌های گرم منفی روده‌ای و باسیل‌های گرم مثبت هوازی تعیین گردید.

**مواد و روش‌ها:** 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.

**یافته‌ها:** عصاره‌های مختلف گیاه مذکور فقط بر شیگلا دیسانتریه، باسیلوس آنتراسیس و سرئوس نتایج مؤثر و نزدیک به هم داشته‌اند. با این حال تأثیر عصاره 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 بر روی 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 هیدروالکی آن شبیه بود.

**نتیجه‌گیری:** 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، باسیلوس‌ها، فلاونوئیدها، عصاره هیدروالکی، شیگلا

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

Email: moosavian\_m@yahoo.com

## 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 کننده مورد استفاده قرار می‌گرفتند (1، 2).

گیاه برهان با نام علمی *Albizia lebbek* درختی است زیبا، زینتی، بدون خار و به ارتفاع 20-5 متر که ساقه و شاخه‌هایی با پوست سبز روشن دارد. شاخه‌های گسترده آن وضع چتر مانند به درخت می‌دهد. گل‌های سفید، صورتی و یا سرخ رنگ آن به تعداد فراوان بر روی شاخه‌ها ظاهر می‌شود. میوه‌ای نیم باریک و نازک، مسطح و محتوی دانه‌های بیضی 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 اولئانویک (Oleanoic acid)، اسید آلینوسیتیک (Alinocytic) و اسید اکتینوسیتیک (Echinocystic Acid) است. دانه‌های داخل غلاف دارای اسید آلینی ژنیک (Albigenic Acid) است که ایزومر اسید اکتینوسیتیک می‌باشد (4). هم‌چنین ترکیبات فلاونوئیدی (Flavonoid) (5، 6) اسید آمینه غیر پروتئینی آلینی زین (Aibizzine) دارد (7، 8).

از پوست این گیاه برای درمان ناراحتی‌های پوستی، خارش، رفع التهاب، مداوای باد سرخ (Erysipelas) 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 کننده 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 عصاره پوست گیاه برهان دارای اثرات ضد میکروبی بر میکروارگانیسم‌های هوازی می‌باشد. مکانیسم اثر آن به علت نشت ماده سیتوپلاسمی از پیکر میکروپ‌ها 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 بر چند باسیل گرم منفی خانواده انتروباکتریاسه و نیز بعضی باسیل‌های گرم مثبت بود. انتخاب این باکتری‌ها نیز به خاطر نقش ویژه‌ای است که در ایجاد اسهال و یا اختلالات معدی-روده‌ای کودکان یا بزرگسالان ایفا می‌نمایند.

## مواد و روش‌ها

در این تحقیق تجربی - آزمایشگاهی باکتری‌های باسیلوس سرئوس (*Bacillus cereus*-PTCC1247)، سالمونلا تیفی (*Salmonella typhi* - PTCC1639)، شنگلا دیسانتری (*Shigella dysenteriae*-PTCC1188) و اشریشیاکلی (*Escherchia coli*-PTCC1399) 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 (Triple Sugar Iron Agar)، (Lysine Iron Agar)، (Sulfide indole motility)، (AgarLIA)، 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).

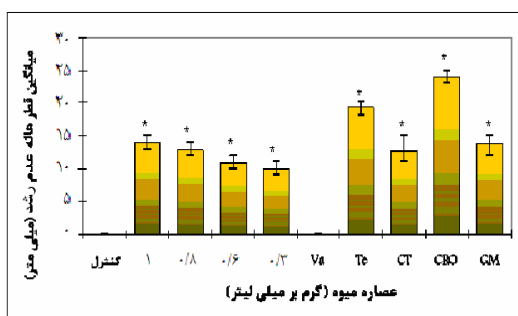
برای گرفتن عصاره گیاه از روش خیساندن (Maceration) استفاده شد. ارلن حاوی اندام‌های خرد شده گیاه با مقدار لازم از حلال اتانول 80 درصد "شرکت سیمین تاک" برای مدت 48-72 ساعت روی شیکر قرار گرفت تا عمل جدا سازی مواد مؤثره به خوبی صورت پذیرد (12). سپس خیسانده را با صافی کتانی و بعد با صافی کاغذی صاف کرده و با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

با حل کردن مقدار یک گرم از هر عصاره (میوه، برگ، گل و فلاونوئید) در یک میلی لیتر 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 هیتون 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 وانکومايسين، تتراسیکلین، سفنی زوکسیم، سفتریاکسون و جنتامایسین، به منظور مقایسه با عصاره ضد میکروبی مورد آزمایش بر سطح محیط کشت

باکتری، پلیت‌ها به مدت 24 ساعت در دمای 37 درجه سانتی گراد انکوبه شدند. در پایان دوره انکوباسیون هاله عدم رشد اطراف هر دیسک با خط کش میلی متری به دقت اندازه گیری 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 هر کدام از عصاره‌ها و نیز تعیین وزن میانگین هر دیسک کاغذی، مقدار وزن هر کدام از عصاره‌های میوه، گل، برگ و نیز عصاره فلاونوئیدی میوه به ترتیب 18، 19، 35 و 43 میلی گرم به ازای هر دیسک بود.

برای مقایسه عصاره‌های مختلف گیاه برهان، با استفاده از روش‌های آماری توصیفی و آزمون‌های آماری (آنالیز واریانس) و سطح معنی دار 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 ماده ضد میکروبی (Minimal Inhibitory Concentration - MIC) و حداقل غلظت کشندگی ماده ضد میکروبی (Minimal Bacteriocidal Concentration - MBC) تعیین می گردید. در این روش از محیط کشت آبگوشتی مولر هیتون (شرکت Merck آلمان) استفاده شد. ابتدا از ماده ضد میکروبی رقت‌های سریالی حاوی 1، 0/5، 0/25، 0/125 و 0/0625 گرم در هر میلی لیتر 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 سانتی گراد 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 پایین تر و بالاتر از آن بر روی محیط جامد مولر هیتون آگار صورت گرفت. بعد از 24-18 ساعت انکوبه کردن پلیت‌ها در 37 درجه سانتی گراد، آخرین لوله‌ای که هیچ گونه رشدی از باکتری بر روی پلیت مربوطه نداشت، به عنوان MBC در نظر گرفته شد (15).

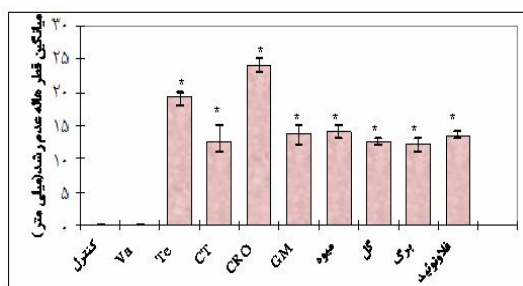


نمودار 1. میانگین قطر هاله‌های ایجاد شده علیه باکتری شیگلادیسانتیره توسط عصاره تام میوه گیاه برهان، در مقایسه با آنتی بیوتیک‌های مختلف (میانگین 5 بار آزمایش) به روش دیسک دیفیوژن. \*اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل (دیسک کاغذی استریل فاقد هر ماده ضد میکروبی).

(Te): تتراسیکلین 30 میکروگرم، Va: وانکوماسین 30 میکروگرم، GM: جنتامایسین 10 میکروگرم، CT: سفتری زوکسیم 30 میکروگرم، CRO: سفتری‌اکسون 30 میکروگرم)

این نتایج هم‌چنین برای عصاره‌های 100 درصد (یک گرم در میلی لیتر) گل، برگ و فلاونوئیدی میوه در مقابل بقیه باکتری‌ها، در هنگام سنجش دو به دو با یکدیگر مشابه نمودار 1 بود.

مقایسه اثر عصاره‌های اجزاء مختلف گیاه برهان و آنتی بیوتیک‌های مختلف بر میانگین قطر هاله عدم رشد باکتری شیگلا دیسانتیره نشان داد که غلظت‌های 100 درصد عصاره میوه، گل، برگ، فلاونوئید و هم‌چنین آنتی بیوتیک سفتری زوکسیم و جنتامایسین اثر یکسانی داشته اما در مقایسه با دو آنتی بیوتیک تتراسایکلین و سفتری‌اکسون متفاوت (ضعیف تر) عمل می‌کنند (نمودار 2).



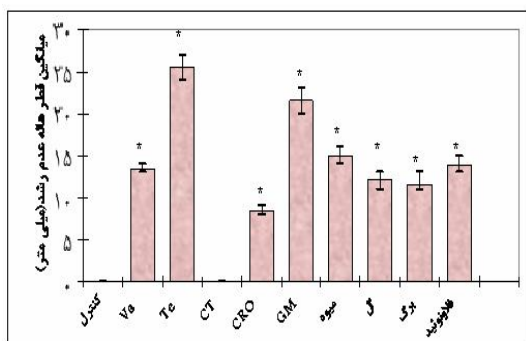
نمودار 2. میانگین قطر هاله‌های ایجاد شده علیه باکتری شیگلادیسانتیره توسط عصاره 100 درصد میوه، گل، برگ و فلاونوئیدی میوه گیاه برهان در مقایسه با آنتی بیوتیک‌های مختلف (میانگین 5 بار آزمایش) به روش دیسک دیفیوژن نشان داده شده است.

\*اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل (دیسک کاغذی استریل فاقد هر ماده ضد میکروبی).

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. ماده 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. بعد از آنکوباسیون پلته‌ها 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 شیگلادیسانتیره نشان دهنده آن است که تفاوت معنی‌داری بین میانگین 4 غلظت عصاره میوه وجود دارد ( $p < 0/05$ )، ولی چنانچه میانگین‌ها به صورت دوتایی با یکدیگر مقایسه شوند، میان دو غلظت 80 و 100 درصد (به ترتیب حاوی 1 و 0/8 گرم در میلی لیتر) و هم‌چنین بین دو غلظت 30 و 60 درصد (به ترتیب حاوی 0/6 و 0/3 گرم در میلی لیتر) 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 و 60)، 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 (نمودار 1).



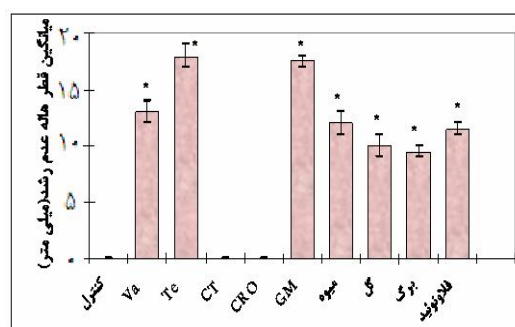
نمودار 4. میانگین قطر هاله‌های ایجاد شده علیه باکتری باسیلوس آنتراسیس توسط عصاره 100 درصد میوه، گل، برگ و فلاونوئیدی میوه گیاه برهان در مقایسه با آنتی بیوتیک‌های مختلف (میانگین 5 بار آزمایش) به روش دیسک دیفیوژن نشان داده شده است. \*اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل (دیسک کاغذی استریل فاقد هر ماده ضد میکروبی).

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 هر کدام از این عصاره‌ها، برابر با 0/125 گرم در میلی‌لیتر (لوله حاوی 0/25 درصد) و MBC آنها برابر با رقت قبلی یعنی 0/25 گرم در میلی‌لیتر (لوله حاوی 25 درصد) حاصل گردید. برای عصاره 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 عفونی‌کنندگی 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) و استفاده از اجزاء مختلف آن برای درمان‌های پوستی -

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 وانکومايسين 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 (نمودار 3).



نمودار 3. میانگین قطر هاله‌های ایجاد شده علیه باکتری باسیلوس سرئوس توسط عصاره یک گرم در میلی‌لیتر (100 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).

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 وانکومايسين 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 (نمودار 4).

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 بر روی باسیل‌های گرم منفی و مثبت حاکی از عدم تأثیر آنها بر سه باکتری اشریشیا کلی، پروتئوس میرابیلیس و سالمونلاتیفی بوده، در حالی که بر سه باکتری دیگر مورد آزمایش، یعنی شیگلادیسانتیره، 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 دیسانتیره 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 شیگلادیسانتیره، 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 (100 درصد) 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 و 5 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 دیسانتیره بی تأثیر 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 تأثیر 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 جدا شده 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 تأثیر 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 و نیز عصاره فلاونوئیدی میوه این گیاه مشابه و برابر با 0/125 گرم در میلی‌لیتر بوده است. در این حالت قطر هاله عدم رشد بر روی محیط مولر هینتون آگار برای باکتری‌های شیگلادیسانتیره 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

7. Rizwana BR, Rasheduzzaman C, Abduljabbar CM, Choudhury M, Hasan and Mohammad A Rashid. Constituents of Albizzia lebeck 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 Agric Sci (Cambridge) 1986; 107:227–233
9. Kumar A, Saluja AK, Shah UD, Mayavanshi AV. Pharmacological potential of Albizzia lebeck: A Review. Pharmacognosy Reviews 2007; 1(1):171-4.
10. Chintawar SD, Somani RS, Kasturc SB. Nootropic activity of Albizzia lebeck in mice. J Ethnopharmacol 2002; 81(3): 299-305.
11. Baron EJ, Finegold SM. Bailey & Scott's diagnostic microbiology. 8<sup>th</sup> 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. 11<sup>th</sup> 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.

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

### تشکر و قدردانی

از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه، مرکز تحقیقات بیماری های عفونی و گرمسیری و دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز که با تصویب و تأمین هزینه های طرح و امکانات لازم ما را در انجام این پروژه تحقیقاتی یاری رسانیده اند، سپاسگزاری می نمایم.

### منابع

1. Volak J, Stodola J. Pharmaceutical plants, culturing and taking methods and explanation of 256 plant color slides. Translated by: Saed Z. 2<sup>nd</sup> ed. Tehran: Ghoghhus 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. 5<sup>th</sup> 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.

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

Moosavian M<sup>1\*</sup>, Siahpoosh A<sup>2</sup>, Abbasi E<sup>3</sup>, Darabi Far H<sup>4</sup>

1- Associate Professor, PhD in Microbiology, Microbiology Department, 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 University, School of Medical Sciences, Ahvaz, Iran

Received 19 Sep, 2009 Accepted 4 Nov, 2009

### Abstract

**Background:** *Albizzia lebbek* 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 bacillus was determined.

**Materials and Methods:** In this experimental-clinical trial, cold maceration method by ethanol was used for extraction of *Albizzia lebbek* 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 lebbek* extracts together and in combination with some antibiotics, were compared through variance analysis.

**Results:** Different extracts of *Albizzia lebbek* 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 lebbek* 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 lebbek*, 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.