مجله دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی
بهار ۱۳۹۳؛۶(۱):۱۶۷-۱۶۱

Journal of North Khorasan University of Medical Sciences
Spring2014;6(1) : 161-167

مقاله پژوهشی

بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی و آنتی باکتریایی عصاره های متانولی، دی کلرومتانی و هگزانی اندام هوایی گونه *(Cyperus longus)*

مهسا محمدی[۱]، سید کمال کاظمی تبار[۲]، جواد اصیلی[۳]، حسین کمالی[۴]*

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران
[۲] دانشیار، دانشکده ی علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران
[۳] استاد، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران
[۴] کارشناسی ارشد مهندسی شیمی، مرکز تحقیقات ایمنی فرآورده های طبیعی و گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران
[*]**نویسنده مسئول**: بجنورد، خیابان شهید چمران، معاونت غذا و دارو، مرکز تحقیقات ایمنی فرآورده های طبیعی و گیاهان دارویی
پست الکترونیک: mahsa.mohammadi67@yahoo.com

وصول:۹۲/۹/۲۳ اصلاح:۹۳/۱/۱۹ پذیرش:۹۳/۳/۵

چکیده

زمینه و هدف: *به دلیل عوارض ناخواسته آنتی اکسیدان‌ها و آنتی میکروب‌های مصنوعی، این پژوهش فعالیت آنتی اکسیدانی و برخی خواص آنتی باکتریایی عصاره‌های مختلف اندام هوایی گیاه اویار سلام گونه ی Cyperus longus را مورد بررسی قرار می دهد.*

مواد و روش کار: *عصاره‌های هگزانی، دی‌کلرومتانی و متانولی اندام هوایی گیاه Cyperus longus به روش خیساندن تهیه و فعالیت آنتی باکتریایی عصاره‌ها به روش انتشار در آگار توسط دیسک‌بررسی شد. ظرفیت آنتی اکسیدان عصاره‌ها به روش DPPH مورد مطالعه قرار گرفت و نتایج آن به صورت IC_{50} بیان گردید. اندازه‌گیری محتوای فنل کل عصاره‌ها با استفاده از معرف فولین سیو- کالچو و اندازه‌گیری محتوای فلاونوئید کل عصاره‌ها بر اساس روش کلریمتری آلومینیوم کلراید انجام شد. اندازه گیری میزان آنتوسیانین نیز به روش Mita صورت گرفت.*

یافته‌ها: *عصاره متانولی و هگزانی اندام هوایی در غلظت ۳mg/disc دارای خاصیت مهاری ضعیفی علیه باسیلوس سرئوس می‌باشد. IC_{50} عصاره‌های متانولی، دی‌کلرومتانی و هگزانی به ترتیب ۱/۵۲۹ ±۱۰/۰۷۱، ۰/۲۰۶ ±۸/۷۵۶ و ۶/۴۵۷±۲۹/۵۵۱ میلی گرم بر میلی لیتر، میزان فنول های تام به ترتیب ۵۶/۶۶، ۱۴ و ۱۱ میلی گرم در گرم عصاره‌ها و همچنین میزان فلاوونوئیدهای موجود نیز به ترتیب ۲۲، ۸۴/۱۵ و ۵۱/۹ میلی گرم در گرم عصاره‌ها حاصل شد. میزان آنتو سیانین موجود در یک گرم نمونه خشک شده ی اندام هوایی اویارسلام ۱۱ میلی گرم بدست آمد.*

نتیجه گیری: *نتایج آزمایشات ضد باکتریایی نشان داد عصاره‌های این گیاه بر باکتری های گرم منفی تاثیر نداشته اما بر باکتری های گرم مثبت موثر بوده‌است. همه ی عصاره‌ها دارای اثر آنتی اکسیدانت در آزمون DPPH بوده و از بین آنها عصاره‌های دی‌کلرومتانی و هگزانی به ترتیب بیشترین و کمترین فعالیت آنتی اکسیدانی را نشان دادند.*

واژه های کلیدی: *Disc Diffusion، DPPH، آنتی اکسیدانی، آنتی باکتریایی، فلاوونوئید، IC_{50}، Cyperus longus*

مقدمه

فعالیت آنتی اکسیدانی و آنتی میکروبیال عصاره های گیاهی سال های زیادی مورد بررسی قرار گرفته است، اما بیشترین تمرکز و بررسی طی سی سال گذشته می باشد. در این دوره بیشتر روی گیاهانی که کاربرد سنتی داشته به ویژه در کشورهایی نظیر چین و آمریکا کار شده است. در حالی که گزارش های مربوط به گیاهان بومی کشور ما ایران، بسیار پراکنده و جزئی می باشد [۱]. با توجه به اینکه استان خراسان شمالی از لحاظ پوشش گیاهی غنی می باشد، در این منطقه گیاهان بومی فراوانی وجود دارد

که بسیاری از آنها حتی بصورت گیاهان هرز می رویند. گیاه اویار سلام (*Cyperus longus*) نیز که یک علف هرز دارویی محسوب می شود از گونه های نادر این منطقه است. از طرفی دیگر این گیاه از دیرباز توسط روستائیان این منطقه جهت درمان بیماری های مختلف به ویژه درمان ناراحتی های پوستی مانند اگزما و گال و همچنین رفع خارش کاربرد فراوان داشته است. بنابراین به لحاظ خاصیت درمانی و کاربرد سنتی، بررسی این گیاه مورد توجه قرار گرفته است.

اویار سلام گیاهی یکساله است که اغلب در شالیزارها یافت می شود، ارتفاع این گیاه به ۷۰ سانتی متر می رسد، و میوه ی آن گندمه بیضی شکل و به رنگ قهوه ای است. این گیاه بومی آفریقا، اروپای مرکزی و جنوبی و دارای خواص متعددی است. به تعدادی از خواص آن اشاره می کنیم: مصرف آن بینایی را تقویت و ناراحتی های چشمی را برطرف می کند، مصرف پودر اویارسلام سیستم گوارشی را بهبود می بخشد و انگل روده را دفع می کند و بهترین گیاه برای درمان تب محسوب می شود [۲].

آنتی اکسیدان ها به موادی گفته می شود که قادر به ایجاد تاخیر، کند کردن و حتی توقف فرآیندهای اکسیداسیون می باشند. این ترکیبات می توانند به نحو مطلوبی از تغییر در رنگ و طعم مواد غذایی در نتیجه واکنش های اکسیداسیون جلوگیری کنند [۳]. مکانیسم اثر آنتی اکسیدان ها به این صورت است که با دادن اتم هیدروژن به رادیکال های آزاد، از گسترش واکنش های زنجیره ای اکسیداسیون جلوگیری می کنند [۴].

در سال های اخیر استفاده از آنتی اکسیدان های سنتزی نظیر BHA، BHT، TBHQ همانند سایر افزودنی های شیمیایی به دلیل سمیت احتمالی و سرطان زایی آنها، محدود شده است. امروزه بیشتر تحقیقات صورت گرفته در این زمینه بر استفاده از آنتی اکسیدان های جدید و بدون خطر از منابع گیاهی، حیوانی، میکروبی و غذایی، تمرکز یافته است [۵]. پژوهش های انجام شده و مطالعات پیشین روی گونه های این گیاه لزوم ادامه مطالعه روی این گیاه را نشان می دهد؛ در سال ۲۰۰۸، بهمن نیک آور و همکاران، مواد تشکیل دهنده اسانس و اثرات ضد میکروبی ریزوم گیاه *Cyperus rotundus l.* را مورد بررسی قرار دادند و مشاهده کردند که تنها روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و میکروکوکوس لوتئوس موثر می باشد. ترکیبات عمده اسانس آن را سکویی ترپن ها تشکیل می دهند (۸۲٪) [۱۱]. در یک تحقیق در سال ۲۰۰۷، ظرفیت آنتی اکسیدانی عصاره هیدرو الکلی (CRE) C.rotundus با روش های مختلف سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی مورد بررسی قرار گرفت. این روش ها شامل: روش Phosphomolybdenum، روش لینولئیک اسید- سیستم، روش DPPH، مهار رادیکال های هیدروکسیل و نیتریک اکسید (NO) می باشند. فعالیت های مختلف آنتی اکسیدانی با آنتی اکسیدان های استاندارد مثل: بوتیل هیدروکسی تولوئن، توکوفرول، آسکوربیک اسید و catechin مورد مقایسه قرار گرفتند. محتوای کلی فنول و فلاوونوئید CRE هم با روش کلرسنجی (colorimetric) مورد ارزیابی قرارگرفت. عصاره، ظرفیت کاهندگی خوب و مهار رادیکال های آزاد بسیار قوی را نشان داد، بخصوص در مقابل DPPH و آنیون های سوپراکسید. جلوگیری از تخریب دئوکسی ریبوزها، فعالیت مهارکنندگی رادیکال های هیدروکسیل و کلات کنندگی آهن را در عصاره ی *Cyperus rotundus* به اثبات رساند. این نتایج به روشنی نشان می دهد که *C.rotundus* ظرفیت آنتی اکسیدانی بالایی دارد، که می تواند برای برخی اهداف پزشکی نسبت داده شده به این گیاه مورد استفاده قرار گیرد [۱۶].

در سال ۲۰۱۰ مطالعه ای توسط موری کاوا[1] و همکاران بر روی عصاره های متانولی کل گیاه *Cyperus longus* مصری انجام گرفت که اثرات آنتی آلرژیکی را روی واکنش های آنافیلاکسی پوستی گوش در موش ها نشان داد [۱۲]. با توجه به مطالب پیش گفته لزوم جستجو برای یافتن داروهای ضد میکروبی و آنتی اکسیدان های جدید احساس می شود، لذا هدف مطالعه ی حاضر اندازه گیری خصلت ضد باکتریایی و فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه های عصاره حاصله از گیاه اویارسلام گونه ی *Cyperus longus* ، یک گیاه نایاب از خانواده ی Cyperaceae می باشد.

1 -Mori kawa

روش کار

مواد شیمیایی مورد استفاده: حلال های دی کلرومتان و هگزان از محصولات شرکت Scharlau اسپانیا، حلال متانول، دی متیل سولفوکساید (DMSO)، کلیه ی محیط کشت ها، جنتامایسین، فولین- سیوکالچو، استات پتاسیم، آلومینیوم کلراید ۶ آبه و نیز (vitc) ویتامین c و بوتیل هیدروکسی تولوئن (BHT) محصول شرکت Merck آلمان و دی فنیل پیکریل هیدرازیل (DPPH) و گالیک اسید از شرکت Sigma آمریکا تهیه شدند. کربنات سدیم و اسید کلریدریک ۱٪ از شرکت دکتر مجللی ایران تهیه شدند.

جمع آوری و آماده سازی گیاه: گیاه اویار سلام از مناطق اطراف استان خراسان شمالی، شهرستان بجنورد، در مرداد ماه سال ۱۳۹۱ جمع آوری شد و توسط گیاه شناس متخصص شناسایی گردید. پس از جدا کردن اندام هوایی، قطعه قطعه کرده و در سایه خشک و در نهایت آسیاب شدند.

عصاره گیری: بر روی گیاه آسیاب شده عملیات عصاره گیری به روش خیساندن، در سه مرحله و با سه حلال هگزان نرمال، دی کلرومتان و متانول انجام شد. به این ترتیب که ابتدا پودر اندام هوایی به مدت ۴۸ ساعت در حلال هگزان نرمال خیسانده شد. پس از جداسازی کامل عصاره، باقیمانده ی گیاه کاملا خشک و به مدت ۴۸ ساعت در دی کلرومتان خیسانده شد و مراحل قبلی مجددا تکرار شد. در مرحله ی آخر هم به باقیمانده ی خشک شده ی گیاه، متانول اضافه و بقیه مراحل مانند قبل انجام شد. عصاره های حاصل با دستگاه روتاری اواپراتور و در فشار کاهش یافته، تغلیظ شد. همه ی عصاره ها تا زمان انجام آزمون در ظروف استریل غیر قابل نفوذ به هوا و نور، در یخچال نگهداری شد.

تهیه ارگانیسم های مورد آزمایش: در این مطالعه ۳ گونه باکتری گرم مثبت: استافیلوکوکوس اورئوس (PTCC 1431)، باسیلوس سرئوس (PTCC 1015)، لیستریا مونوسیتوژنس (PTCC 1298) و سه گونه باکتری گرم منفی: انتروباکتر آئروژنز (PTCC 1221)، سالمونلا انتریکا (PTCC 1709) و اشریشیاکلای (PTCC 1399) از مرکز پژوهش های علمی- صنعتی ایران تهیه گردیدند و در طول ۱۸- ۲۴ ساعت قبل از تست، بطور تازه در محیط مولر هینتون آگار(MHA) تهیه و کشت داده شدند.

آزمون ضد باکتریایی: روش تست اثر ضد باکتریایی بر اساس روش دیسک دیفیوژن انتخاب شد. برای تهیه سوسپانسیون باکتری از کشت یک شبه ی میکروارگانیسم با غلظت معادل استاندارد ۰/۵ مک فارلند استفاده گشت. سپس نمونه باکتری روی محیط مولر هینتون آگار کشت داده شد و بعد دیسک های کاغذی استریل به پلیت های حاوی باکتری اضافه شدند که هر یک با ۱۵µl از غلظت های ۲۰۰µl و ۱۰۰µl هر نمونه عصاره حل شده در حلال DMSO تلقیح شدند. به این ترتیب غلظت های ۳ mg /disc و ۱.۵ mg /disc در نظر گرفته شده بود و به آنها زمان کافی داده شد تا عصاره ها به داخل آگار نفوذ کنند. دیسک حاوی ۱۵µl حلال DMSO بعنوان شاهد منفی و دیسک حاوی ۱۵µl آنتی بیوتیک جنتا مایسین بعنوان شاهد مثبت مصرف شد. پلیت ها برای ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه انکوباتور قرار داده شدند. هاله های شفاف عدم رشد در اطراف دیسک ها نشانگر فعالیت ضد باکتریایی عصاره ها می باشد [۷،۶]. بعد از گذشت زمان انکوباسیون این هاله های عدم رشد دقیقا اندازه گیری شدند. آزمون بصورت دوتایی و تکرارپذیر انجام شد و هاله های عدم رشد به دقت ثبت گشت. قدرت فعالیت بصورت زیر تفسیر شده است: (+++) برای قطر هاله عدم رشد بیشتر از ۱۲mm، (++) متوسط برای قطرهای mm ۱۰- ۱۲ و (+) برای قطرهای mm ۸- ۹/۵ (جدول ۱).

تعیین فعالیت آنتی اکسیدانی با روش DPPH: در این روش ابتدا ۰/۱ml از محلول متانولی نمونه ی موردنظر (متانولی، دی کلرومتانی یا هگزانی) را در یک لوله ی آزمایش ریخته، سپس به آن ۳/۹ml محلول متانولی DPPH اضافه می کنیم. محتویات هر لوله با ورتکس کاملا مخلوط شد و پس از گذشت ۳۰ دقیقه، در دمای اتاق و در تاریکی جذب آنها در طول موج ۵۱۷ nm با استفاده از اسپکتروفتومتر UV/Vis در برابر بلانک حاوی متانولی خوانده شد. در این روش از BHT و Vit C بعنوان کنترل مثبت استفاده شد. با توجه به مکانیسم ذکر شده هر چه قدرت آنتی اکسیدان نمونه بیشتر باشد رنگ محلول حاصل زردتر خواهد بود [۸، ۹، ۱۰].

محاسبه ی میزان خاصیت آنتی اکسیدان: درصد مهار اکسیداسیون هر نمونه از معادله زیر محاسبه شد [۸، ۹، ۱۰].

$$A_I = (A\text{-}A_0 / A_0) \times 100$$

A_I= درصد مهار اکسیداسیون

A_0= جذب محلول کنترل که در آن هیچ ترکیب مورد آزمایشی (مانند عصاره یا استاندارد) وجود ندارد.

A= جذب محلول حاوی مهار کننده ی اکسیداسیون

اندازه‌گیری فنل کل: اندازه‌گیری محتوای فنل کل عصاره-ها با استفاده از معرف فولین سیو- کالچو انجام گرفت [۱۳]. در این سنجش از گالیک‌اسید به عنوان استاندارد استفاده گردید و منحنی استاندارد آن رسم شد. سپس با استفاده از معادله خط حاصل، محتوای فنل کل عصاره ها تعیین گردید. مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره‌های گیاهی، رقیق شده با آب در لوله‌های آزمایش ریخته شد. پس از انجام مراحل مختلف مطابق روش (Meda et al.,2005)، مقدار جذب نمونه ها نسبت به شاهد در ۷۲۰ نانومتر خوانده شد. با قرار دادن مقدار جذب نمونه‌ها در معادله مربوط به منحنی استاندارد، مقدار فنل‌کل موجود در عصاره ها محاسبه شد.

اندازه‌گیری فلاونوئید کل: اندازه‌گیری محتوای فلاونوئید کل عصاره‌ها بر اساس روش کلریمتری آلومینیوم کلراید، همراه با تغییراتی انجام شد. به منظور تعیین مقدار فلاونوئید کل موجود در هریک از نمونه‌ها از منحنی استاندارد کوئرستین استفاده شد. مقدار ۵۰۰ میکرولیتر از عصاره گیاهی رقیق شده با متانول ۸۰ درصد در لوله‌های آزمایش ریخته شد. سپس بقیه مراحل مطابق روش ذکر شده توسط (Chang et al., 2002) انجام گرفت. جذب محلول‌ها نسبت به شاهد در طول موج ۴۱۵ نانومتر اندازه-گیری شد. با قرار دادن مقدار جذب نمونه‌ها در معادله مربوط به منحنی استاندارد مقدار فلاونوئید کل عصاره‌ها اندازه‌گیری شد [۱۴]. اندازه‌گیری میزان آنتوسیانین: سنجش به روش (Mita et al., 1997)، صورت گرفت. برای سنجش میزان آنتوسیانین مقدار ۰/۰۲ گرم از بافت خشک گیاهی با ۴ میلی‌لیتر محلول اسید کلریدریک ۱٪ حاوی متانول در یک هاون چینی ساییده شد. محلول حاصل به مدت ۲۴ ساعت در یخچال نگهداری شد. سپس محلول به مدت ۱۰ دقیقه و در ۱۳۰۰۰ دور سانتریفوژ گردید. فاز رویی را برداشته و جذب محلول ها در طول موج ۵۳۰ و ۶۵۷ نانومتر نسبت به شاهد اندازه‌گیری شد. از ۴ میلی‌لیتر محلول اسید کلریدریک ۱٪ متانول به عنوان شاهد استفاده شد. میزان آنتوسیانین برای هر عصاره با استفاده از رابطه‌ی مقابل محاسبه گردید.

$$A = A_{530} - (0.25 \times A_{657})$$

A : جذب محلول (اعداد اندیس نشانگر طول موج‌هایی است که جذب در آنها اندازه‌گیری شد) [۱۵].

آنالیز داده ها و رسم نمودار: برای محاسبه ی IC_{50} عصاره های اتانولی، دی کلرومتانی و هگزانی ریشه ی گیاه و هم چنین برای مقایسه ی اثرات آنتی اکسیدان عصاره های مذکور با استاندارد ها و کنترل منفی و رسم نمودار از نرم افزار Excel و Bio Data Fit 1.02: Data Fit For Biologists استفاده شد.

یافته ها

نتایج آزمون آنتی باکتریال نشان داد که نمونه ی عصاره ی متانولی و هگزانی اندام هوایی اویارسلام در غلظت ۳mg/disc دارای خصلت مهارکنندگی علیه *باسیلوس سرئوس* می باشد (جدول ۱).

آزمون های فیتوشیمیایی اولیه انجام گرفته روی عصاره ی اندام هوایی گیاه اویارسلام حضور ترکیبات فنولی، فلاوونوئیدها و آنتوسیانین ها را در نمونه های عصاره تائید کردند. اطلاعات حاصل از مطالعات فیتوشیمیایی در جدول ۲ آورده شده است.

میزان آنتو سیانین موجود در یک گرم نمونه خشک شده ی اندام هوایی اویارسلام ۱۱ میلی گرم بدست آمد.

از تست DPPH برای اندازه گیری خصلت آنتی اکسیدانی عصاره های متانولی، دی کلرومتانی و هگزانی استفاده شد [۸، ۹، ۱۰].

در این تحقیق با قیاس نمونه های مختلف، نمونه ی عصاره ی دی کلرومتانی اندام هوایی حاصل از گیاه اویارسلام، حداکثر فعالیت آنتی اکسیدانی را در بین نمونه های مورد آزمایش به خود اختصاص داد (جدول ۳).

IC_{50} عصاره های متانولی، دی کلرومتانی و هگزانی به ترتیب۱/۵۲۹ ± ۱۰/۰۷۱، ۰/۲۰۶ ± ۸/۷۵۶ و ۶/۴۵۷ ± ۲۹/۵۵۱ میلی گرم بر میلی لیتر به دست آمد.

جدول ۱: مهارکنندگی رشد نمونه های مختلف تهیه شده از اندام هوایی گیاه اویارسلام

عصاره (نمونه)	*لیستریا مونوسیتوژنس*	*باسیلوس سرئوس*	*استافیلوکوکوس اورئوس*	*اشریشیا کلای*	*انتروباکتر آئروژنز*	*سالمونلا تیفی موریوم*
عصاره متانولی برگ اویارسلام	–	+	–	–	–	–
عصاره دی کلرومتانی برگ اویارسلام	–	–	–	–	–	–
عصاره هگزانی برگ اویارسلام	–	+	–	–	–	–
جنتامایسین (۱۵ µg/disc)	+++	+++	+++	+++	+++	+++
DMSOشاهد منفی	رشد کامل	رشد کامل	رشد کامل	رشد کامل	رشد کامل	رشد کامل

جدول ۲: محتویات ترکیبات فنولی و فلاوونوئیدهای اندام هوایی گیاه اویارسلام

عصاره (نمونه)	gعصاره/mg فنل تام	g عصاره/mg فلاونوئید تام
عصاره متانولی برگ اویارسلام	۵۶/۶۶	۲۲
عصاره دی کلرومتانی برگ اویارسلام	۱۴	۸۴/۱۵
عصاره هگزانی برگ اویارسلام	۱۱	۵۱/۹

جدول ۳: بررسی اثر آنتی اکسیدانی عصاره های متانولی، دی کلرومتانی و هگزانی اندام هوایی گیاه *Cyperus Longus* به روش DPPH (n=۳)

نمونه ها	درصد مهار اکسیداسیون (AI%) در غلظت های مختلف		
غلظت ها	عصاره ی متانولی برگ	عصاره ی دی کلرو متانی برگ	عصاره ی هگزانی برگ
۱۶	۸۸/۶۵۷±۲/۵۰۰	۴۳/۷۳۶±۶/۱۹۴	۲۴/۲۴۳±۲/۳۴۹
۸	۵۹/۷۲۹±۶/۱۵۲	۲۸/۸۵۵±۳/۹۹۲	۱۱/۳۵۸±۰/۷۷۱
۴	۳۰/۸۶۴±۱/۹۹۳	۱۶/۳۶۷±۱/۵۲۰	۶/۱۲۵±۰/۸۹۱
۲	۱۴/۸۹۷±۰/۶۹۷	۸/۸۰۲±۰/۶۴۴	۲/۵۷۸±۰/۴۴۴
۱	۸/۳۰۹±۱/۲۹۰	۴/۶۹۵±۰/۲۸۳	۱/۶۴۱±۰/۲۰۰
۰/۵	۳/۶۲۳±۰/۵۸۷	۲/۲۳۲±۰/۲۴۲	۰/۵۳۳±۰/۴۰۶

بحث

این مطالعه جهت اندازه گیری قدرت آنتی اکسیدانی و آنتی باکتریایی سه نمونه ی تهیه شده از گیاه *Cyperus Longus* انجام گشت. در گیاهان ترکیبات پلی فنلی، فلاوونوئیدی و آنتوسیانین ها نقش زیادی در فعالیت آنتی اکسیدانی دارند. که این فعالیت به نظر مربوط به خاصیت اکسایش و کاهش آنها می باشد [۳]. طبق مطالعات مقدماتی فیتوشیمیایی، سطح ترکیبات پلی فنلی در عصاره ی متانولی و میزان فلاوونوئیدها در عصاره ی دی کلرومتانی قابل توجه بوده است. بنابراین این نتایج ارزشمند می تواند حاکی از نقش بیولوژیکی (زیستی) پراهمیت مواد پلی فنلی موجود در نمونه های این گیاه باشد. دانشمندان بر این باورند که فعالیت آنتی اکسیدانی فلاوونوئیدها به علت قابلیت در اختیار گذاشتن هیدروژن آنها می باشد(Hydrogen donation) [۴]. فلاوونوئید ها گروه وسیعی از ترکیبات هستند که در پاسخ به عفونت های میکروبی در گیاه ساخته می شوند و علیه طیف وسیعی از میکروارگانیسم ها فعال می باشند اثر ضد میکروبی فلاونوئید ها از طریق تشکیل کمپلکس با غشاء خارجی و پروتئین های محلول که به غشاء متصل هستند، می باشد [۳]. همچنین این ترکیبات با نفوذ در غشاء سلولی و شکستن آن باعث اثر ضد میکروبی می شوند. ترکیبات فنلی هم با تداخل در عمل غشاء سیتوپلاسمی و تداخل در ورود و خروج مواد به درون سلول اثر ضد میکروبی خود را اعمال می کنند [۴]. علت حساسیت بیشتر باکتری های گرم مثبت نسبت به عصاره ها، ممکن است ناشی از این باشد که این باکتری ها در دیواره ی سلولی یک لایه دارند، در حالی که در باکتری های گرم منفی این دیواره از چند لایه تشکیل شده است. به عبارت دیگر باکتری های گرم منفی دارای یک غشای بیرونی و یک فضای پری پلاسمیک هستند که هیچ کدام از آن ها در باکتری های گرم مثبت وجود ندارد. غشای خارجی باکتری های گرم منفی به عنوان یک سد برای نفوذ مولکول های آنتی بیوتیک متعدد شناخته شده است. از سوی دیگر این غشا از نفوذ هیدروفیل به داخل باکتری جلوگیری می کند. فضای پری پلاسمیک هم شامل آنزیم های بسیاری است که قادر به تجزیه ی مولکول های خارجی که از فضای بیرون وارد می شوند هستند [۶]. مشخصه ی اصلی جنس Cyperus حضور سسکوئی ترپن هاست و کوئینون ها، فلاوونوئیدها، استیل بنوئیدها (Stilbenoids)، کومارین ها و فنیل پروپانوئیدها. مطالعات فیتوشیمیایی اخیر روی *C.rotundus* L. نشان داد که سسکوئی ترپن ها از این گیاه خالص سازی شدند [۱۲،۱۱].

در عصاره ی بدست آمده از ریزوم های گیاه *Cyperus rotundus* یک فلاوونون جدید که ساختار آن ۷ و ۸- دی هیدروکسی -۵ و ۶- متیلن دی اکسی فلاوون می باشد شناسایی شد و این ترکیب جدید فعالیت بازدارندگی با عدد IC_{50} = ۳/۱μM در روش مهار رادیکال های سوپراکسید نشان داد [۱۷].

بنابراین می توان میزان قابل توجه فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره ی دی کلرومتانی را به مقدار بالای ترکیبات فلاوونوئیدی در عصاره ی دی کلرومتانی گیاه اویارسلام نسبت داد. علاوه بر این ها با مدنظر گرفتن فعالیت ضدباکتریایی نمونه ی عصاره ی متانولی اندام هوایی که بیشتر از فعالیت نمونه های دی کلرومتانی آن می باشد، می توان این احتمال را تقویت کرد که همچنان فلاوونوئیدها مسئول این اثرات می باشند. اگر چه برخی ممکن است ادعا کنند که غلظت mg/disc ۳ غلظت انبوهی است اما این آزمایش توانست گیاه اویارسلام را به عنوان منبعی برای فعالیت In vitro ضدباکتریایی معرفی کند.

نتیجه گیری

نتایج بدست آمده نشان داد که ترکیبات پلی فنلی و فلاوونوئیدی و ترکیبات آنتوسیانین در گیاه اویارسلام نقش عمده ای را برعهده دارند که این امر مطالعات بیشتری جهت جداسازی و خالص سازی ترکیبات موثر این گیاه را می طلبد.

تشکر و قدردانی

کد طرح پژوهشی "۵۲۶پ۹۱" و حامی مالی پروژه دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی- مرکز تحقیقات سلامت و ایمنی فرآورده های طبیعی می باشد. بدینوسیله از زحمات جناب آقای مهندس جلیلوند ریاست مرکز تحقیقات سلامت و ایمنی فرآورده های طبیعی، جناب

آقای مهندس پیمان فیضی، سرکار خانم مهندس ناهید قدرتی و سرکار خانم مهندس آمنه محمدی، کمال سپاس و تشکر را دارم.

References

1. Suffredini, I.B., Paciencia, M.L.B., Varella, A.D., Younes R.N ,2006, Antibacterial activity of Brazilian Amazon plant Extracts, The Braz J Infects Dis. 10(6) :400 – 402.
2. Riddle J.M. 1992, Contraception and Abortion from the Ancient World to the Renaissance, Harvard University Press, Cambridge, MA.
3. Shahidi F., Wanasundara P.K.J.P.D. 1992, Phenolic antioxidant, Critical Reviews in Food Science and Nutritions. 32:67-103[Persian]
4. Deshpande S.S,2002, Handbook of food toxicology, Toxicants and Antinutrient in Plant foods, Marcel Dkkel, New York. 920P.
5. Halliwell B., Aeschbach R., Loliger J. and Aruoma, O.I. 1995, The characterization of antioxidants, Food Chem, Toxicol. 33: 601-617.
6. Elgayyar M., Draughon F.A., Golden D.A. 2001,Antimicrobiol activity of essential oils from plants against selected pathogenic and saprophytic microorganisms, J Food Protect . 64:1019-1024.
7. Collins C.H., Lyne P.M., Grange J.M. 1989, Microbiological Methods, Butterworths & Coltd, London, 6th Edition.
8. Saha K., Lajis N.H., Israf D.A., Hamzah A.S., Khozirah S., Khamis S. and Syahida A,2004, Evaluation of antioxidant and nitric oxide inhibitory activities of selected Malaysian medicinal plant, J. Ethnopharmacol. 92: 263-267.
9. Kulisic T., Radonic A., Katalinic V, Milosa M, 2004, Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil, Food Chem, 85:633-640.
10.Ruberto G. and Baratta M.T, 2000, Antioxidant activity of selected essential oil componenets in two lipid model systems, Food Chem, 69: 167-174.
11.Nikavar B., Mojab F., Vahidi H,And Kamalinejad M,2008, Study of Essential oil's components and antimicrobial activities in rhizomes of *Cyperus rotundus* L, Journal of medicinal Plants,8(32): 91.
12.Morikawa T., Xu F., Matsuda H., and Yashikawa M, 2002, Structures and radical scavenging activities of novel Norstilbene dimer, longusone A and new stilbene dimer, longusols A, B and C, from Egyptian herbal medicineCyperus longus, Heterocycles, 57: 1983–1988.
13.Meda A., Lamien C.E., Romito M., Millogo J., Nacoulma O.G, 2005, Determination of the total phenolic, flavonoid and pralin contents in Burkina Fasan honey, as well as their scavenging activity. Food Chemistry. 91: 571-577.
14.Chang C., Yang M., Wen H., Chern J, 2002, Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods, Journal of Food and Drug Analysis, 10: 178-182.
15.Mita S., Murano N., Akaike M., Nakamura K, 1997, Mutants of Arabidopsis thaliana with pleiotropic effects on the expression of the gen for beta-amylase and on the accumulation of anthocyanin that are inducible by sugars, Plant Journal, 11: 841-851.
16.Yazdanparast, R. and Ardestani, A. 2007. In vitro Antioxidant and Free Radical Scavenging Activity of Cyperus rotundus. Journal of Medicinal Food, 10 (4): 667-674[Persian]
17.Zhongliu Z and Chunyan F, 2013, A new Flavanone and Other Constituents from rhizomes of Cyperus rotundus and their antioxidant activities, Chemistry of natural compounds, 48 (6): 963-965.

Original Article

Study of the antioxidant and antibacterial activity in methanolic, dichloromethan and hexane extracts of aerial parts of Cyperus longos

Mohammadi M[1], Kazemi tabar K[2], asili J[3], Kamali H[4]*

[1]Student of plant biotechnology, Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Sari,Iran
[2]Associated professor of plant biotechnology, Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources ,Sari,Iran
[3]Professor of pharmacy, school of pharmacy, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad,Iran
[4]M.Sc of Chemical Engineering, Natural Products Safety and Medicinal Plants Research Center, North Khorasan University of Medical Sciences,Bojnurd, Iran

***Corresponding Author**: North Khorasan, Bojnourd, Natural Products Safety and Medicinal Plants Research Center, North Khorasan University of Medical Sciences.
Email**:** mahsa.mohammadi67@yahoo.com

Abstract

Background and Objectives: *mainly due to increased unintentional side-effects of synthetic antioxidants and antimicrobials, This study evaluated the antioxidant and some antibacterial properties of different* aerial parts' extracts in Cyperus longus.

Material and Methods: *The Hexane, Dichloromethan and Methanolic* aerial parts' extracts of Cyperus longus were obtained by maceration *method. Antibacterial activity of extracts determined by Disc Diffusion Method. The antioxidant capacity of extracts was assessed through DPPH method. The results of DPPH assay were showed by* $IC_{50.}$ *The total phenolic content was measured using the Folin-*Ciocalteu's *reagent. The total flavonoid content was assessed by a colorimetric method based on Aluminum Chloride, has been associated with some changes. The anthocyanin content was measured by (Mita et al., 1997) method.*

Results*: The Methanolic extract of aerial parts exhibited slight antibacterial effects against B.cereus at the concentration of 3 mg/disc. The* IC_{50} *values for Methanolic, Dichloromethan and Hexane extracts in DPPH assay were 10.071 ± 1.529, 8.756 ± 0.206 and 29.551 ± 6.457 mg/ml, respectively. The phenolic content of the Methanolic, Dichloromethan and Hexane extracts were obtained 56.66, 14 and 11 mg/ml, respectively. The total flavonoid content of the Methanolic, Dichloromethan and Hexane extracts were obtained 22, 84.15 and 51.9, respectively. Anthocyanin amount, contained in one gram sample of dried aerial Cyperus longus was 11 mg.*

Conclusion: *Antibacterial test results were showed that it has no effect on Gram-negative bacteria. But it is effective on Gram-positive bacteria. All extracts showed antioxidant activity in DPPH method and the Dichloromethan and Hexane extracts were found to have maximum and minimum activity in DPPH assay, respectively.*

Key Words*: Disc Diffusion, DPPH, Antioxidant, Antibacterial, Flavonoid,* IC_{50}*, Cyperus longus*

Submitted:14 Dec 2013
Revised:8 Apr 2014
Accepted:26 May 2014