مقاله
پژوهشی

# بررسی ترکیبات فنلی و اثر ضد میکروبی عصاره های مختلف اندام هوایی گیاه دارویی Scutellaria pinnatifida بر روی پاتوژنهای شاخص مواد غذایی

*آمنه محمدی[۱]، طوبی احمدزاده ثانی[۲]، حسین کمالی[۳]، پیمان آل شیخ[۴]، پیمان فیضی[۵]، پرستو ضرغامی مقدم[۶]*

[۱]کارشناسی ارشد فیتوشیمی، مرکز تحقیقات فرآورده های طبیعی و گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران
[۲]دکترای حرفه ای داروسازی، دانشکده داروسازی مشهد، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران
[۳]کارشناسی ارشد مهندسی شیمی، مرکز تحقیقات فرآورده های طبیعی و گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی ، بجنورد، ایران
[۴]دکترای تخصصی طب چینی، مرکز تحقیقات فرآورده های طبیعی و گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران
[۵] کارشناس ارشد شیمی آلی، مرکز تحقیقات فرآورده های طبیعی و گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران
[۶]کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، مرکز تحقیقات فرآورده های طبیعی و گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران
**نویسنده مسئول:** مرکز تحقیقات فرآورده های طبیعی و گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد.
پست الکترونیک: parastoozarghami @yahoo.com

## چکیده

**زمینه و هدف:** *امروزه استفاده از عصاره های گیاهی برای درمان کمکی عفونتهای میکروبی، توجه بسیاری از پژوهشگران را به خود معطوف کرده است . در این پژوهش اثرات عصاره های مختلف گیاه Scutellaria pinnatifida بر روی پاتوژن های شاخص مواد غذایی مورد ارزیابی قرار گرفته است. Scutellaria pinnatifida گیاهی از جنس اسکوتلاریا ، خانواده نعناعیان و بومی خراسان می باشد.*

**مواد و روش کار:** *پس از تهیه عصاره متانولی، دی کلرومتانی و اتیل استاتی گیاه به روش ماسراسیون، حضور ترکیبات فنلی و اثر ضد میکروبی عصاره های حاصل از اندام هوایی Scutellaria pinnatifida به دو روش دیسک و چاهک در باکتریهای گرم مثبت و منفی بررسی گردید.*

**یافته ها:** *باکتری استافیلوکوکوس اورئوس با بالاترین هاله عدم رشد به عنوان حساس ترین باکتری در دو روش دیسک (۲۴ میلیمتر) و چاهک (۲۴ میلیمتر) مشاهده گردید. در حالیکه اثر قابل ملاحظه ای بر روی باکتری های گرم منفی نداشت. در این مطالعه عصاره متانولی دارای بالاترین میزان ترکیبات فنلی می‌باشد. یافته ها نشانگر این است که در اندام هوایی گیاه، عصاره اتیل استاتی نسبت به سایر عصاره ها بیشترین اثر را داشت و عصاره دی کلرومتانی کمترین اثر را نشان داد.*

**نتیجه گیری:** *نتایج نشان داد که هاله عدم رشد به دست آمده در اندام هوایی این گیاه بر روی باکتریهای استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سرئوس در مقایسه با نمونه کنترل مثبت جنتامایسین قابل توجه بوده و تاثیر تقریبا مشابهی با جنتامایسین بر روی حذف باکتریهای گرم مثبت نشان داد.*

**واژه های کلیدی:** *Scutellaria pinnatifida ، آنتی باکتریال، ترکیبات فنلی*

وصول: ۹۳/۱۲/۴
اصلاح: ۹۴/۲/۲۹
پذیرش: ۹۴/۵/۲۵

مجله دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی سال ۹۴؛ دوره ۷ (۲): ۳۹۳-۴۰۳
Journal of North Khorasan University 2015;7(1):393-403

## مقدمه

امروزه استفاده از عصاره های گیاهی برای درمان کمکی عفونتهای میکروبی، توجه بسیاری از پژوهشگران را به خود معطوف کرده است. اگرچه تاکنون تعداد زیادی از گیاهان عالی به منظور یافتن مواد ضد میکروب مورد بررسی قرار گرفته اند، اما هیچ یک از ترکیبات ضد میکروب حاصل از آنها قادر به رقابت با آنتی بیوتیک های رایج نبوده و جستجو جهت یافتن عوامل گیاهی ضد میکروب همچنان ادامه دارد [۱].

برای رسیدن به چنین اهدافی در این پژوهش اثرات ضد میکروبی عصاره های مختلف گیاه Scutellaria pinnatifida از خراسان شمالی مورد ارزیابی قرار گرفته اند. جنس اسکوتلاریا، یک جنس شایع در خانواده نعناع می‌باشد که ۳۵۰ گونه در جهان دارد و در سراسر جهان به جز آفریقا یافت می‌شوند، ریشه خشک شده این گیاهان به عنوان داروی گیاهی در چین و چندین کشور دیگر به کار می‌رود. بسیاری از گونه‌های اسکوتلاریا دارای مقادیر بالایی فلاونوئید است و گزارشات بسیاری راجع به اثرات ضد باکتری، ضد ویروس، ضد تومور، ضد تشنج و ضد اضطراب از گیاهان این گونه گزارش شده است و تحقیقات فارماکولوژیک خواص ضد تومور، کبدی، آنتی اکسیدان، ضد التهاب، ضد تشنج، ضد باکتری و ضد ویروسی عصاره های جنس Scutellaria را تایید کرده است [۲]. تاکنون بیش از ۲۹۵ ترکیب از ۳۵ گونه این جنس شناسایی شده است که بیشتر شامل ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و کمی هم آلکالوئیدی می باشند. که ترکیبات فلاونوئیدی مهمی که از این جنس تاکنون جدا شده است شامل بایکالین، بایکالئین و وگونین می باشد که این ترکیبات خواص ضد سرطان، ضد ویروس و آنتی باکتریال قابل توجهی از خود نشان می دهند [۳]. در آسیای شرقی به ویژه در کره و ژاپن گیاهان این جنس در طب سنتی به عنوان ضد التهاب، ضد ویروسی، آرام بخش، ضد انعقادی و آنتی اکسیدان به کار می روند. در کانادا، گیاهان این جنس به عنوان چای به فروش می رسند و همچنین به عنوان گیاهی جهت تسکین درد، سم زدایی، ترویج اثرات گردش خون نیز به کار می روند [۲]. این جنس در فلور ایرانیکا ۴۰ گونه دارد و دارای ۲۰ گونه در ایران است که ۱۰ مورد آن بومی ایران است یکی از گونه های ایرانی، Scutellaria pinnatifida A.Hamilt subsp alpina (Bornm) Rech.f می‌باشد که این گیاه بومی ایران بوده و گرگان، آذربایجان، خراسان، دامغان، سمنان از مراکز اصلی پراکنش این گیاه محسوب می‌شوند [۳]. بر اساس نتایج بدست آمده از مطالعه روی گونه های مختلف Scutellaria مشخص شده است که گیاهان مذبور دارای اثرات ضد میکروبی و آنتی اکسیدان می باشند [۵،۴] در مطالعه ای که بر روی S. baicalensis Georgi انجام شد اثر قابل ملاحظه ای در مهار استافیلوکوکوس اورئوس از خود نشان داد [۶]. عصاره اتانولی اسکوتلاریا بایکالنسیس می‌تواند فعالیت ضدمیکروبی ۴ آنتی بیوتیک (سفتریاکسون، سیپروفلاکزاسین، پنی سیلین جی، جنتامیسین) را در مقابله با استافیلوکوکوس اوروئوس افزایش دهد [۷]. عصاره آبی S.baicalensis دارای خواص ضد قارچ در مقابل آسپرژیلوس فومیگاتوس، کاندیدا آلبیکنس، کپک ماتیکی و روبرا رودوتورولا بوده و بالاترین فعالیت را علیه کاندیدا آلبیکانس نشان داد [۸]. فعالیت برضد ویروس سینسیتیال تنفسی در انسان (RSV)، توسط عصاره آبی اسکوتلاریا باربارا، نشان داده شد [۹]. عصاره آبی گیاه اسکوتلاریا بایکالنسیس فعالیت بازدارندگی رشد (۹۰٪) را برضد فعالیت ویروس HIV-1 protease از خود نشان داد [۱۰]. طی مطالعات انجام شده عصاره های اتیل استات و متانولی litwinowii Scutellaria خاصیت آنتی باکتریال خوبی را دارا بودند [۱۱]. ۹۰ درصد از عفونت ها توسط باکتری ها ایجاد می گردد و اشرشیاکلی، استافیلوکوکوس اورئوس، سودوموناس آئروژینوزا از جمله مهم ترین عوامل مسبب عفونت هستند. بنابراین هدف از این مطالعه بررسی اثر ضد میکروبی عصاره های مختلف سرشاخه های گیاه اسکوتلاریا علیه برخی از پاتوژن های بیماری زا می باشد.

## روش کار

حلالهای متانول، دی کلرومتان، اتیل استات از شرکت مرک آلمان تهیه گردید و سویه های میکروبی مورد نظر نیز از مرکز و پژوهش های علمی -صنعتی ایران تهیه گردیدند. در تیر ماه سال ۱۳۹۲ اندام هوایی گیاه Scutellaria pinnatifida از رویشگاه های طبیعی آن

واقع در ارتفاعات کوه تیغ بل در استان خراسان شمالی و در فصل تابستان جمع آوری گردید، گیاه مذکور در هرباریوم مرکز تحقیقات سلامت فرآورده های طبیعی و گیاهان دارویی خراسان شمالی بایگانی شد. بعد از خشک کردن در سایه از آنها جهت آزمایش‌ها استفاده شد. بر روی گیاه آسیاب شده عملیات عصاره گیری به روش خیساندن، در سه مرحله و با سه حلال دی کلرومتان، اتیل استات و متانول انجام شد. به این ترتیب که ابتدا پودر اندام هوایی به مدت ۲۴ ساعت در حلال دی کلرومتان خیسانده شد. پس از جداسازی کامل عصاره، باقیمانده ی گیاه کاملا خشک و به مدت ۲۴ ساعت در اتیل استات خیسانده شد و مراحل قبلی مجددا تکرار شد، سپس به باقیمانده ی خشک شده ی گیاه، متانول اضافه و بقیه مراحل مانند قبل انجام شد. عصاره های حاصل با دستگاه روتاری اواپراتور تغلیظ شد. همه عصاره ها تا زمان انجام آزمون در ظروف استریل غیر قابل نفوذ به هوا و نور، در یخچال نگهداری شد.

جهت تعیین محتوای ترکیبات فنلی عصاره های مختلف، ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره با غلظت۱میلی گرم بر میلی لیتر به ۵۰۰ میکرولیتر از معرف فولین اضافه گشته و پس از گذشت ۱ دقیقه، ۱/۵ میلی لیتر از سدیم بیکربنات ۲۰٪ به هر لوله اضافه گشته و سپس ورتکس گشته و به مدت ۱۲۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه می شود. جذب نمونه در ۷۶۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروسکوپی خوانده می شود. منحنی استاندارد توسط محلولهای ۵۰ تا ۵۰۰ میلی گرم بر لیتر از گالیک اسید در متانول تهیه شد. محتوای فنل کل به صورت معادل اکی والان گالیک اسید بیان شد (میلی گرم گالیک اسید/ گرم وزن عصاره) می باشد [۱۲].

در این مطالعه ۳ گونه باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس (PTCC 1431)، باسیلوس سرئوس (PTCC 1015) و لیستریا مونوسیتوژنز (PTCC 1298) و سه گونه باکتری گرم منفی سالمونلا انتریکا (PTCC1709)، اشریشیاکلای (PTCC 1399)، انتروباکتر آئروژنز (PTCC 1221) از مرکز و پژوهش های علمی -صنعتی ایران تهیه گردیدند و در ۲۴ ساعت قبل از تست، بطور تازه در محیط کشت مولر هینتون آگار(MHA) تهیه و کشت داده شدند. جهت سنجش خاصیت آنتی باکتریال عصاره های مختلف از روش های انتشار دیسک کربی- بائر و روش چاهک استفاده شد.

در روش دیسک، از کلنی ۲۴ ساعته هر کدام از باکتری های کشت شده مورد آزمایش در محیط کشت به کمک لوپ برداشته و در لوله آزمایش استریل حاوی ۵ میلی لیتر سرم فیزیولوژی استریل کاملا مخلوط گردید ؛ سپس سوسپانسیون یکنواختی از باکتری های مورد آزمایش مشابه کدورت لوله استاندارد نیم مک فارلند تهیه شد .توسط سواپ بر روی محیط های مولر هینتون آگار به صورت چمنی کشت داده شد. جهت تهیه دیسک های حاوی عصاره ۵۰ میکرولیتر از عصاره ها را که در DMSO حل شده اند، بر روی دیسک های بلانک استریل اضافه و به مدت ۲ ساعت زمان داده شد تا عصاره ها کاملاً جذب دیسک های کاغذی شوند. سپس دیسک ها روی پلیت به فواصل مناسب قرار داده شد و به مدت ۱۸ ساعت در ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه گردید. در این مطالعه از جنتامیسین به عنوان کنترل مثبت و از DMSO به عنوان کنترل منفی استفاده شد و آزمون ها سه بار تکرار شدند [۱۳].

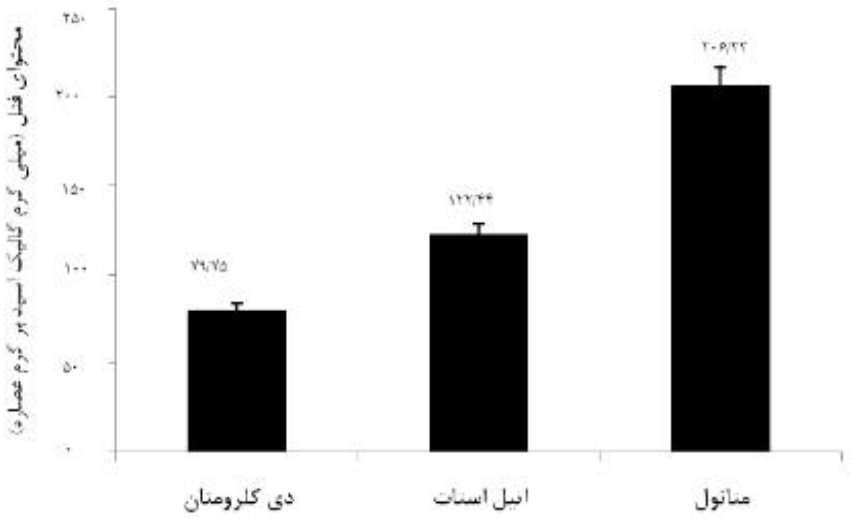
در روش چاهک هم از پلیت های حاوی محیط کشت مولر هینتون آگار که آغشته به میکروارگانیسم بودند استفاده شد. توسط یک پیپت پاستور استریل که مخصوص ایجاد چاهک است، یک گودی در محیط کشت ایجاد کرده و داخل هر چاهک با سمپلر ۵۰ لاندا از عصاره ها به طور جداگانه قرار داده شد. سپس پلیت ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتیگراد قرار داده شدند. عملیات مذکور در مورد هر نمونه دو بار تکرار گردید، پس از آن میزان مناطق مهاری مورد ارزیابی قرار گرفت و بر اساس میلی متر محاسبه و سپس میانگین آنها ثبت گردید [۱۴].

## یافته ها

درصد عصاره خشک دی کلرومتانی، اتیل استاتی و متانولی در جدول ۱ آمده است به طوریکه مشخص می شود عصاره متانولی بالاترین درصد عصاره را دارد. میزان فنل های تام موجود در هر عصاره متفاوت بوده و بر حسب گالیک اسید، که یک ترکیب فنلی می باشد و از روی منحنی استاندارد آن به روش فولین سیو کالتو محاسبه می شود که معادله حاصل از منحنی استاندارد گالیک

جدول۱: بازده استخراج عصاره های مختلف و محتوای فنل عصاره های مختلف اندام هوایی Scutellaria pinnatifida

| عصاره | بازده استخراج(%) | محتوای فنل کل (میلی گرم گالیک اسید/ گرم عصاره خشک) | محتوای فنل کل (میلی گرم گالیک اسید/ گرم گیاه خشک) |
|---|---|---|---|
| دی کلرومتانی | ٪۱/۶۷ | ۷۹/۷۵±۰/۰۷۰ | ۱/۳۳±۰/۰۷۰ |
| اتیل استاتی | ٪۱/۶۵ | ۱۲۲/۴۴± ۰/۰۶۷ | ۲/۰۲۰ ± ۰/۰۶۷ |
| متانولی | ٪۹/۰ | ۲۰۶/۲۲±۰/۱۲۴ | ۱۸/۵۸ ± ۰/۱۲۴ |




شکل۱: محتوای فنل کل در عصاره مختلف اندام هوایی Scutellaria pinnatifida

جدول۲: قطر مهار رشد باکتریها توسط عصاره های متانولی، دی کلرومتانی و اتیل استاتی اندام هوایی گیاه Scutellaria pinnatifida به روش دیسک در غلظت ۱۰۰ mg/ml.

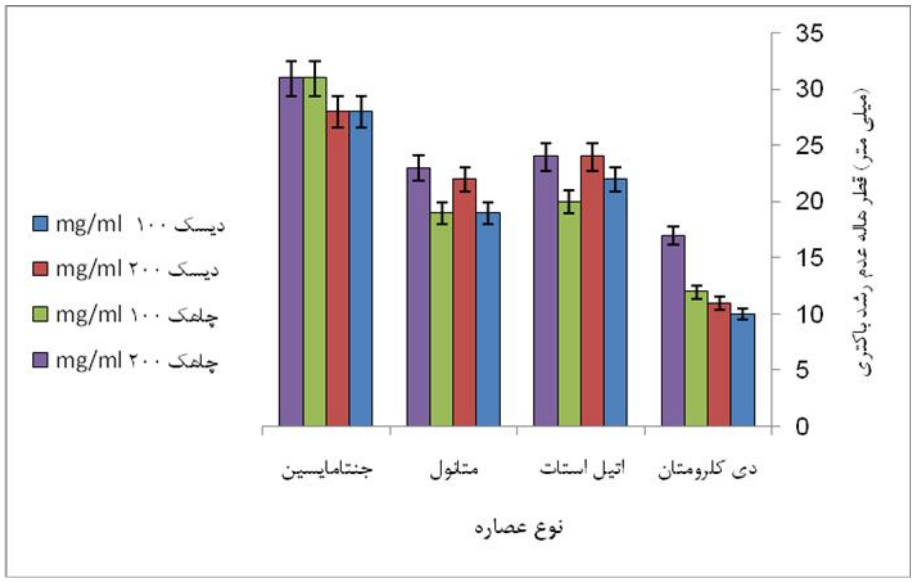
| عصاره | ۱۰۰mg/ml | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | S. aureus | B. cereus | L. monocytogenes | S.enterica | E. aerogenes | E. coli |
| دی کلرومتان | ++ ۱۰ mm | +++ ۱۴ mm | – | – | – | – |
| اتیل استات | +++ ۲۲ mm | +++ ۱۴ mm | – | – | – | – |
| متانول | +++ ۱۹ mm | ++ ۱۰ mm | – | – | – | – |
| جنتامایسین | +++ ۲۸ mm | +++ ۳۲ mm | +++ ۳۰ mm | +++ ۲۶ mm | +++ ۲۶ mm | +++ ۲۶ mm |
| عصاره | ۲۰۰ mg/ml | | | | | |
| | S. aureus | B. cereus | L. monocytogenes | S.enterica | E. aerogenes | E. coli |
| دی کلرومتان | ++ ۱۱ mm | +++ ۱۵ mm | – | – | – | – |
| اتیل استات | +++ ۲۴ mm | +++ ۱۷ mm | – | – | – | – |
| متانول | +++ ۲۲ mm | +++ ۱۲ mm | – | – | – | – |
| جنتامایسین | +++ ۲۸ mm | +++ ۳۲ mm | +++ ۳۰ mm | +++ ۲۶ mm | +++ ۲۶ mm | +++ ۲۶ mm |

* قطر هاله عدم رشد: فاقد مهارکنندگی (– )، ۸-۹ میلیمتر (+)، ۱۰-۱۲ میلیمتر (++)،۱۲ میلیمتر< (+++).

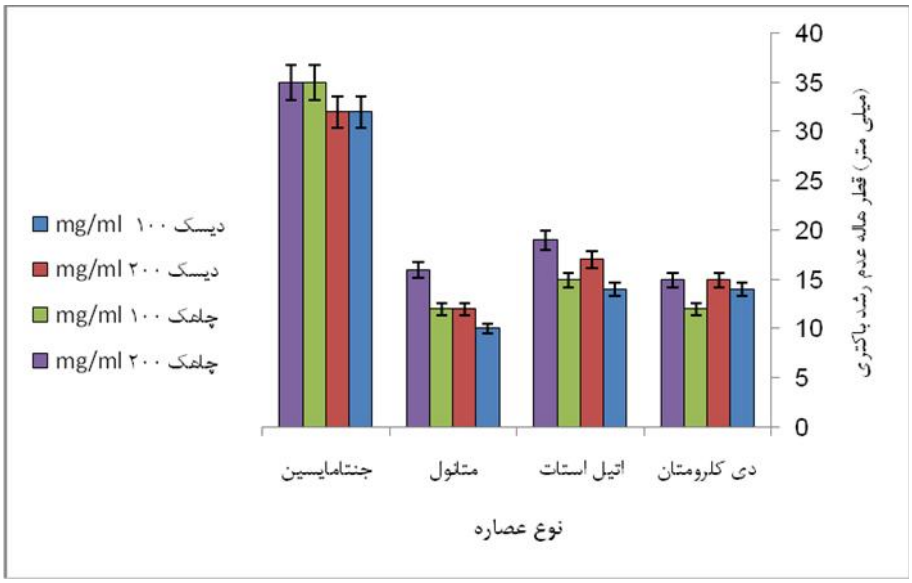
جدول ۳: قطر مهار رشد باکتریها توسط عصاره های متانولی، دی کلرومتانی و اتیل استاتی اندام هوایی گیاه Scutellaria pinnatifida به روش چاهک در غلظت ۱۰۰ mg/ml و ۲۰۰ mg/ml.

| عصاره | ۱۰۰ mg/ml | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | S. aureus | B. cereus | L. monocytogenes | S.enterica | E. aerogenes | E. coli |
| دی کلرومتان | +++ ۱۲ mm | +++ ۱۲ mm | – | – | – | – |
| اتیل استات | +++ ۲۰ mm | +++ ۱۵ mm | – | – | – | – |
| متانول | +++ ۱۹ mm | +++ ۱۲ mm | – | – | – | – |
| جنتامایسین | +++ ۳۱ mm | +++ ۳۵ mm | +++ ۳۲ mm | +++ ۲۷ mm | +++ ۳۰ mm | +++ ۳۲ mm |
| عصاره | ۲۰۰ mg/ml | | | | | |
| | S. aureus | B. cereus | L. monocytogenes | S.enterica | E. aerogenes | E. coli |
| دی کلرومتان | +++* ۱۷ mm | +++ ۱۵ mm | – | – | – | – |
| اتیل استات | +++ ۲۴ mm | +++ ۱۹ mm | – | – | – | – |
| متانول | +++ ۲۳ mm | +++ ۱۶ mm | – | – | – | – |
| جنتامایسین | +++ ۳۱ mm | +++ ۳۵ mm | +++ ۳۲ mm | +++ ۲۷ mm | +++ ۳۰ mm | +++ ۳۲ mm |

* قطر هاله عدم رشد: فاقد مهارکنندگی (- )، ۸-۹ میلیمتر (+)، ۱۰-۱۲ میلیمتر (++)،۱۲ میلیمتر< (+++).




شکل ۲: مقایسه اثر عصاره های مختلف بر روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس توسط دو روش دیسک و چاهک




شکل ۳: مقایسه اثر عصاره های مختلف بر روی باکتری باسیلوس سرئوس توسط دو روش دیسک و چاهک

اسید به صورت $R^2$=۳/۷۲۴+۰/۰۶,y= ۰/۹۸۵ می باشد و میزان فنل های تام موجود در هر عصاره بر حسب گالیک اسید در جدول ۱ آمده است. شکل ۱ مقایسه محتوای فنلهای های عصاره های مختلف را نشان می دهد. اثر ضد میکروب سه عصاره مختلف متانولی، دی کلرومتانی و اتیل استاتی حاصل از سرشاخه های گیاه Scutellaria pinnatifida به روش های دیسک و چاهک بر روی ۶ نوع باکتری گرم مثبت و منفی بررسی شد تا طیف اثر ضد میکروبی آن مشخص شود. این بررسی بر روی دو غلظت ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم در میلی لیتر انجام شد تا بهترین غلظت موثر تعیین گردد. نتایج مربوط به مهار کنندگی باکتریهای بیماری زا توسط عصاره های مختلف در جدول۲ و ۳ و مقایسه اثر عصاره های مختلف بر روی دو باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سرئوس در شکلهای ۲ و ۳ آمده است.

## بحث

بر اساس نتایج بدست آمده از مطالعه روی گونه های مختلف Scutellaria مشخص شده است که گیاهان مذبور دارای اثرات آنتی باکتریال خوبی می باشند [۵]. با توجه به این موضوع اثر آنتی باکتریال سرشاخه های گیاه Scutellaria pinnatifida توسط عصاره های مختلف مورد بررسی قرا گرفت، زیرا هنگامی که از حلال های مختلف استفاده می شود متابولیت های گیاهی متفاوت دارای فعالیت های گوناگون استخراج می شود [۱۵]. در این بررسی خاصیت آنتی باکتریال سه حلال متانول، دی کلرومتان و اتیل استات که دارای قطبیت های متفاوتی هستند، به روش دیسک و چاهک بررسی شد [۱۶]. عصاره متانولی محتوی طیف وسیعی از ترکیبات قطبی و نسبتا قطبی می باشد و ترکیباتی همچون آنتوسیانین ها، ترپنوئیدها، ساپونین ها، تانن ها، لاکتونها، فلاون ها و پلی فنول ها را استخراج می کند و ترکیباتی با قطبیت کمتر مانند ایزوفلاون ها، فلاون ها، فلاونون ها و فلاونول های متوکسیله شده نیز توسط این حلال استخراج می شوند. اتیل استات نیز ترکیباتی که کمی قطبیت بیشتری دارند مانند ترکیبات منو گلیکوزیله را استخراج می کند [۱۷] و از طرفی نتایج بدست آمده نشان می دهند که عصاره های حاصل از سرشاخه های گیاه S. pinnatifida در دو غلظت ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر، بر روی باکتری های گرم مثبت موثر می باشند و اثری بر روی مهار باکتریهای گرم منفی ندارند (جدول ۲-۵). تفاوت مذکور ممکن است ناشی از این امر باشد که در باکتری های گرم مثبت دیواره سلولی دارای یک لایه است حال آنکه در باکتری های گرم منفی این دیواره از چند لایه تشکیل شده است [۱۸]. در این مطالعه مشاهده شد، عصاره متانولی دارای بالاترین میزان ترکیبات فنلی می-باشد و پس از آن عصاره اتیل استاتی و در نهایت عصاره دی کلرومتانی دارای بالاترین میزان ترکیبات فنلی می باشند که در شکل ۱، این تفاوت مشاهده می شود. یافته ها نشانگر این است که در اندام هوایی گیاه، عصاره اتیل استاتی که دارای محتوای فنلی کمتری از عصاره متانولی است، نسبت به سایر عصاره ها بیشترین اثر را داشت و عصاره دی کلرومتانی کمترین اثر را نشان داد، در نتیجه در این مطالعه رابطه مستقیمی بین ترکیبات فنلی و خاصیت آنتی باکتریال مشاهده نشد. که نتایج این آزمایش با مطالعات بر روی گونه scutellaria litwinowii مطابقت دارد، به طوریکه در این تحقیق نیز عصاره مشخص شده بود که عصاره های اتیل استات و متانولی این گیاه خاصیت آنتی باکتریال بیشتری از عصاره دی کلرومتانی دارا بودند [۱۱]. از بین باکتریهای گرم مثبت، استافیلوکووس اورئوس با بالاترین هاله عدم رشد به عنوان حساس ترین باکتری در دو روش دیسک ۲۴ میلی متر و چاهک ۲۴ میلی متر مشاهده گردید. نتیجه بدست آمده از این تحقیق با نتایج حاصل از مطالعات قبلی همخوانی دارد، مطالعه ای که بر روی فلاون های جدا شده از گیاه Scutellaria Barbata انجام شد اثرات ضد میکروبی این ترکیبات را بر روی استافیلوکوکوس اورئوس بررسی کرد که نتیجه آن مهار رشد بوده است. در حالیکه اثر قابل ملاحظه ای بر روی باکتری های گرم منفی و یا قارچ نداشتند [۲]. در مطالعه ی دیگری که بر روی S. barbata انجام شد بیشترین حساسیت را استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس و استافیلو کوکوس آرئوس از خود نشان دادند و کمترین حساسیت مربوط به سالمونلا بود [۱۹]. در مطالعه دیگری که بر روی S. Baicalensis انجام شد اثر قابل ملاحظه ای در مهار رشد استافیلوکوکوس اورئوس

از خود نشان داد که این اثر با افزایش غلظت افزایش یافت [۶]. در بررسی های انجام شده بر روی گونه های مختلف Scutellaria مشخص شده است که فلاونوئید های بایکالین، بایکالئین، آپی ژنین و لوتئولین موجود در این جنس، مسئول اثرات ضد میکروبی آنها هستند [۲۰]. بنابراین شاید بتوان بروز اثرات ضد میکروب در گونه مورد مطالعه در این تحقیق را نیز به ترکیبات فلاونوئیدی و پلی فنولی آن نسبت داد، چرا که در مطالعات انجام شده بر روی ریشه این گیاه دو فلاونوئید وگونین و نئوبایکالین جدا شده است و احتمالا به دلیل حضور این دو فلاونوئید در اندام هوایی گیاه، این خاصیت بالای آنتی باکتریال مشاهده شده است [۲۱].

## نتیجه گیری

از یافته های پژوهش حاضر این نتیجه حاصل شد که هاله عدم رشد به دست آمده در اندام هوایی این گیاه بر روی دو باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سرئوس در مقایسه با نمونه کنترل مثبت جنتامایسین قابل توجه بوده و تاثیر تقریبا مشابهی با جنتامایسین بر روی حذف باکتریهای گرم مثبت نشان داد و این امر مطالعات بیشتر در زمینه انجام آزمایشات بر روی ترکیبات جدا شده از این گیاه و بررسی خاصیت آنتی باکتریال ترکیبات جدا شده از آن، می طلبد.

## تشکر و قدردانی

بدین وسیله مقاله حاصل از طرح پژوهشی با کد ۷۴۵پ۹۲ استخراج گردیده لذا از ریاست و معاونت محترم مرکز تحقیقات سلامت فراورده های طبیعی خراسان شمالی و دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی تقدیر و تشکر به عمل می آید.

## References

1. Hamburger M, Hosttemann K, The link between phytochemistry and medicine, Phytochem, 1991; 30: 38-84.
2. Shang X, He X, He X, Li M, Zhang R, Fan P, Zhang Q, Jia Z, The genus Scutellaria an ethnopharmacological and phytochemical review, Journal of Ethnopharmacology, 2010; 128: 279–313.
3. Rechinger K.H, Hedge I.C, Ietswaart J.H, Jalas J, Mennema J, Seybold S, Labiatae, In: Flora Iranica. Austria: Akademische Druck-u, Verlagsanstalt, Graz. 1982; pp. 62-63
4. Nagai T, Moriguchi R, Suzuki Y, Tomimori T, Yamada H, Mode of action of the anti-influenza virus activity of plant flavonoid, 5,7,4´- trihydroxy-8-methoxyflavone, from the roots of Scutellaria baicalensis, Antivir. Res.1995; 26:11-25.
5. Sato Y, Suzaki S, Nishikawa T, Kihara M, ShibataH, Higuti T, Phytochemical flavones isolated from Scutellaria barbata and antibacterial activity against methicillin-resistance Staphylococcus aureus, J. Ethanopharmacol, 2000; 72:483-488.
6. Zhao TH, Deng SH, Yang HS, Chen SP, Study of antibacterial activity of active fraction from stems and leaves of Scutellaria baicalensis Georgi. Chin, Pharmacol, Bull, 2007; 23: 882-886.
7. Yang ZC, Wang BC, Yang XS, Wang Q, Ran L, The synergistic activity of antibiotics combined with eight traditional Chinese medicines against two different strains of Staphylococcus aureus, Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2005; 41: 79–81.
8. Blaszczyk T, Krzyzanowska J, Lamer-Zarawska E, Screening for antimycotic properties of 56 traditional Chinese drugs, Phytotherapy Research 2000; 14: 210–212.
9. Li Y L, Ooi L S M , Wang H , But P P H , Ooi V E C, Antiviral activities of medicinal herbs traditionally used in southern mainland China, Phytotherapy Research, 2004; 18: 718–722.
10. Lam TL, Lam ML, Au TK, Ip DTM, Ng TB, FonWP, Wan DCC, A comparison of human immunodeficiency virus type 1protease inhibition activities by the aqueous and methanol extracts of Chinese medicinal herbs, Life Sciences, 2000; 67: 2889–2896.
11. Fazly Bazzaz B S, Hassanzadeh Khayat M, Emami SA, Asili J, Sahebkar A, Javadi Neishabo E, Antioxidant and antimicrobial activity of methanol, dichloromethane and ethyl acetate extracts of Scutellaria litwinowii, ScienceAsia, 37;2011: 327–334[Persian].
12. Hayouni EA, Abedrabba M, Bouix M, Hamdi M, The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian Quercus coccifera L. and Juniperus phoenicea L. fruit extracts, Food Chemistry, 2007;105(3):1126-1134.
13. Baydar H, Sagdic O, Ozkan G, Karadogan T, Antibacterial activity and composition of essential oils from Origanum, Thymbra and Satureja species with commercial importance in Turkey, Food Control, 2004;15(3):169-72.
14. Saeidnia S, Yassa N, Rezaeipoor R, Shafiee A, Comparative investigation of the essential oils of Achillea talagonica Boiss. and A. millefolium, chemical composition and immunological studies, Journal of Essential Oil Research, 2004; 16(3): 262-265[Persian].
15. Eloff JN, A sensitive and quick microplate method to determine the minimal inhibitory concentration of plant extract for bacteria, Planta Med. 1998; 64: 711-713.
16. Leite S P, Raphael J, Vieira C, Medeiros P L, Leite RMP, Menezes Lima V L, Xavier H S, Lima O, (). Antimicrobial activity of Indigofera suffruticosa, Oxf. J 2006; 3: 261-265.
17. Markham R K, Techniques of Flavonoid Identification, 1982, pp. 15, 45. London: Academic Press.
18. Enzo A, Palombo EA, Susan J, Antibacterial activity of traditional Australian medicinal plants, J. Ethnopharmacol, 2001; 77:151-157.
19. Yu J, Lei J, YuH, Cai X, Zou G, Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of Scutellaria barbata, Phytochem, 2004; 65: 881-884.
20. Yang J H, Lin H C, Mau J L, Antioxidant properties of several commercial mushrooms, Food Chem, 2000; 71: 224-235.
21. Mohammadi A, Asili J, Emami S A, Mighani H, Bibak B, Phytochemical investigation on Scutellaria pinnatifida roots, Journal of North Khorasan University of Medical Sciences (Natural Products & Medicinal Plants Suplemntry) 2012; 4:93-101[Persian].

Original Article

# Evaluation of phenolic compounds and the antibacterial effect of various extracts of aerial parts of scutellaria pinnatifida on typical food-born pathogens

*Mohammadi A[1], Ahmadzadeh Sani T [2], Kamali H [3], Alesheikh P[4], Feyzi P [5], Zarghami moghaddam P [6]**

[1]MS of phytochemistry, Research center of natural products & medicinal plants, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran.
[2] Pharm.D, School of Pharmacy, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran
[3]MS of chemistry engeneering, Research Center of Natural Products & Medicinal Plants, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran.
[4]MD, PhD of Chinese medicine, Research Center of Natural Products & Medicinal Plants, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran
[5]MS of Organic chemistry, Research Center of Natural Products & Medicinal Plants, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran.
[6] MS of microbiology, Research Center of Natural Products & Medicinal Plants, North Khorasan university of Medical Sciences, Bojnurd, Iran.
***Corresponding Author:** Research Center of Natural Products & Medicinal plants
E-mail: parastoozarghami @yahoo.com

## Abstract

**Background & Objectives:** *Nowadays, the use of extracts of plants for cure of bacterial infections is beloved on scientists. In this study, the effect of various extracts of aerial parts of Scutellaria pinnatifida on typical food-borne pathogens was studied. Scutellaria pinnatifida from labiatae family and scutellaria genus is endemic to Khorasan province.*

**Material and Methods:** *After preparation of methanol, dichloromethane and ethyl acetate extracts with maceration method, the presence and amount of phenolic compounds was evaluated and antimicrobial activity of Scutellaria pinnatifida was examined with disc diffusion and well diffusion methods in the positive and negative bacteria.*

**Results:** *staphylococcus aureus with highest diameter of the inhibition zone, was sensitive bacteria in disc diffusion and well diffusion methods. There wasn't any effect on the negative bacteria. Methanol extract had highest amount of phenolic compounds. The results showed in the aerial parts of plant, ethylacetate extract had highest effect and dichloromethane extract had lowest effect on the bacteria.*

**Conclusion:** *The results showed that diameter of the inhibition zone of aerial parts extract of this plant on S. aureus and B. cereus were differentiable to positive control such as Gentamycin and this plant was similar to Gentamycin for inhibition of positive bacteria.*

**Keywords:** *scutellaria pinnatifida, antibacterial, phenolic compounds*

*Journal of North Khorasan University 2015;7(1): 393-403*

Recivied: 23 Feb 2015
Revised: 19 May 2015
Accepted:16 Aug 2015