ارزیابی ترکیبات شیمیایی و اثرات ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاه پنجه‌برگ راست (*Potentilla recta*)

حجت آزاد[1]، تورج مهدی زاده[2]*

۱.دانشجوی کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد ارومیه، دانشگاه آزاد اسلامی، ارومیه،ایران.

۲.گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه.

* **نویسنده مسئول**:*t.mehdizadeh@urmia.ac*.ir

تاریخ دریافت : ۱۳۹۶/۰۱/۳۱ تاریخ پذیرش : ۱۳۹۶/۰۴/۰۱

چکیده

گیاهان دارویی علاوه بر ماده موثراصلی، دارای موادی با اثر درمانی هستند که ضمن تشدید اثر درمانی گیاه در بسیاری از موارد می‌توانند از سمیت و اثرات ناخواسته آن نیز جلوگیری نمایند. در این مطالعه برای اولین بار سه نوع مختلف عصاره گیاه‌پنجه‌برگ راست(*Potentilla recta*)، از گیاهان دارویی بومی ایران و منطقه آذربایجان ازنظرترکیبات شیمیایی تشکیل‌دهنده، قدرت ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی مورد مطالعه قرار گرفت. پس از جمع‌آوری گیاه و تهیه عصاره‌های اتانولی، متانولی و اتیل استاتی، از روش کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی‌برای شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده عصاره‌ها استفاده شد. برای اندازه‌گیری قدرت آنتی‌اکسیدانی روش ربایش رادیکال آزاد DPPH استفاده و نتایج بر اساس اندیس IC_{50} گزارش شد. روش چاهک برای اندازه‌گیری قدرت ضدمیکروبی و روش براث میکرودایلوشن نیز برای تعیین MIC و MBC به‌کار رفت. داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه و روش مقایسه میانگین دانکن با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS 16.0 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. نتایج اثرات ضدمیکروبی عصاره‌های مورد استفاده در تحقیق نشان داد که عصاره متانولی موجب افزایش معنی‌داری در مساحت هاله بازدارندگی رشد میکروبی در محیط کشت می‌شود به‌طوری‌که بیشترین تأثیر بر روی باکتری *لیستریا مونوسایتوژنز* مشاهده شد ($p<0/05$). تمامی عصاره‌های تهیه شده دارای توانایی رادیکال دی فنیل پیکریل هیدرازیل بودند و بالاترین قدرت آنتی‌اکسیدانی پس از گذشت ۳۰ دقیقه به عصاره متانولی متعلق بود. بیشترین ترکیبات شیمیایی در عصاره‌های متانولی، اتانولی و اتیل استاتی را به ترتیب: متیل لینولئات، اتیل لینولئات و پنتاکوزان را تشکیل دادند. نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره‌ی متانولی گیاه پنجه‌برگ راست دارای خواص ضد باکتریایی و آنتی‌اکسیدانی بالاتری در مقایسه با سایرین بوده و می‌تواند با تحقیقات بیشتر کاربردهای مختلفی داشته باشد.

کلمات کلیدی: آنتی‌اکسیدان، ضدباکتریایی، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *لیستریا منوسیاتوژنز*، *اشریشیاکلی*، پنجه‌برگ راست.

مقدمه

در بسیاری از نقاط دنیا ترکیبات گیاهی به‌منظور درمان برخی بیماری‌ها به‌خصوص بیماری‌های عفونی، اسهال، تب، سرماخوردگی و بهداشت دهان و دندان استفاده می‌شوند. خواص ضد میکروبی گیاهان از زمان‌های قدیم مورد توجه بوده و گذشتگان بدون اطلاع از وجود میکروب‌ها و تنها از طریق تجربه‌های بالینی از این گیاهان در درمان بیماری‌های عفونی استفاده می‌کردند. مواد گیاهی طبیعی سنتی می‌توانند به‌عنوان عوامل ضد میکروبی در درمان عفونت‌ها و یا به عنوان نگهدارنده مواد غذایی به‌کاربرده شوند (Palombo and Semple, Newton, et al., 2002;2002). استفاده ازموادگیاهی به عنوان یک روش مکمل مناسب برای کنترل میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا می‌تواند مطرح باشند. با ظهور عوامل بیماری‌زای مقاوم به دارو به‌خصوص در کشورهای درحال توسعه، مطالعه درمورد توسعه کاربرد مواد طبیعی غیر سمی لازم به نظر می‌رسد Chandra, (2013). از طرفی با توجه به نگرانی مصرف‌کنندگان و متولیان بهداشتی در رابطه با استفاده از نگهدارنده‌های شیمیایی و مضرات آن‌ها، در سال‌های اخیر گرایش به استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی به‌ویژه اسانس گیاهان و ادویه‌ها و شناسایی ترکیبات آن‌ها افزایش یافته و نتایج مثبتی را در غلبه برپاتوژن‌های غذایی و جلوگیری از

اکسیداسیون به همراه داشته است (Burt, 2004). اهمیت این ترکیبات از آن نظر است که علاوه بر ماده موثراصلی، دارای موادی با ویژگی‌های درمانی هستند که ضمن تشدید اثر درمانی گیاه در بسیاری از موارد می‌توانند از سمیت و عوارض ناخواسته آن نیز جلوگیری نمایند. همچنین طبیعی بودن و پایین بودن عوارض نامطلوب در مقایسه با داروهای شیمیایی، موجب استفاده روزافزون از این ترکیبات شده است (Atanasov et al., 2015). جنس *پوتنتیلا*[1] شامل گروه پیچیده‌ای است که بالغ بر ۳۰۰ گونه را شامل می‌شود که به‌طور عمده در مناطق معتدل نیم‌کره شمالی توزیع شده‌اند (Guillén, 2005). گیاه پنجه برگ راست[2]جزء تیره گل سرخ [3] زیر تیره *روزسیده* [4]و جنس *پوتنتیلا* می باشد. این گیاه، گیاهی است چندساله، افراشته یا گسترده ساقه گل دهنده به ارتفاع ۱۰تا ۷۰ سانتی‌متر، سطح فوقانی و تحتانی برگ پوشیده از کرک،گل‌ها به قطر ۱۵تا۲۵ میلی‌متر.کاسبرگ‌ها فرعی خطی-نیزه ای، مساوی یا کمی کوتاه‌تر از کاسبرگ‌ها، گلبرگ‌ها زرد، فصل گلدهی این گیاه نیزبهار می‌باشد (Khatamsaz, 2003). این گیاه، گیاهی بسیار تهاجمی است که در انواع زیستگاه‌ها یافت می‌شود و توسط نوع خاک محدود نمی‌شود. به‌طور فراوانی ارزش علوفه مراتع و چراگاه‌ها را کاهش می‌دهد و در مناطق سایه و خاک‌های مرطوب گسترش زیادی دارد. این گیاه به‌عنوان علف هرز شناخته می‌شود و می‌تواند به‌تنهایی تا ۲۰ سال در خاک زندگی کند. گیاه بومی منطقه مدیترانه شرقی اوراسیا است و در آسیای غربی و میانه، و از جنوب تا آسیای صغیر و شمال ایران و در کوه‌های شمال آفریقا یافت شده و اغلب به‌طور مداوم در مناطق وسیعی از کنار جاده‌ها و زمین‌های بایر گسترده است (Wang et al., 2013). خواص درمانی جنس *پوتنتیلا* از گذشته‌ها آشکار بوده و در طب سنتی برای درمان التهاب، زخم، انواع خاصی از سرطان، عفونت ناشی از باکتری‌ها، قارچ‌ها و ویروس‌ها، اسهال، دیابت و دیگر بیماری‌ها استفاده شده است. بررسی‌های جامع گیاه‌شناسی این گونه نشانگر آن است که گیاه ترکیبات فیتوشیمیایی خود را در بخش‌های هوایی و زیرزمینی تجمیع می‌کند (Tomczyk and Peter Latté, 2009). گونه‌های*پوتنتیلا* برای مدت‌زمان گسترده‌ای به‌عنوان گیاهان دارویی محلی و دم‌نوش برای درمان اسهال، هپاتیت وگال استفاده شده است (Wang et al., 2013). در مطالعات اندک بر روی سمیت بالقوه گونه‌ها و عصاره‌ای‌آن، هیچ نشانه‌ای دال بر مسمومیت حاد یافت نشده است (Lund and Rimpler, 1985). در سال ۲۰۱۰ و در طی مطالعات فارماکولوژیک مشخص شد که به‌طورکلی عصاره‌های بخش‌های هوایی و یا قطعات زیرزمینی *پوتنتیلا* برای درمان التهاب انواع خاصی از سرطان، عفونت‌های ویروسی و میکروبی، کولیت، بیماری قند خون، اسپاسم و کبد موثر می‌باشد (Tomczyk et al., 2010). در مطالعه‌ای که وانگ وهمکاران (۲۰۱۳) بر روی سه گونه *پوتنتیلا* انجام دادند مشخص شد که در میان گونه‌ها از نظر محتوای فتوکمیکال تفاوت معنی‌داری می‌تواند وجود داشته باشد. همچنین ازنظر خاصیت آنتی‌اکسیدانی *پوتنتیلا فروتیکوزا* [5]دارای بالاترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی است (Wang et al., 2013). درمطالعات لی وهمکاران (۲۰۰۳) تری ترپو نوئیدها شامل اسید پالمولیک و اسید اورسولیک در این گونه شناسایی شده‌اند (Li et al., 2003). نتایج حاصل از مطالعات وانگ وهمکاران (۲۰۱۳) بر روی عصاره سه گونه *پوتنتیلا* نشان داد که این گیاه می‌تواند به‌عنوان مکمل مفید برای محصولات دارویی و یک آنتی‌اکسیدان جدید ضد میکروب عمل نماید (Wang, 2013). باژیلکو و همکاران (۲۰۱۳) در طی مطالعه‌ای مشخص کردند که عصاره پنجه برگ راست دارای فعالیتی قوی علیه آب‌اکسیژنه و ممانعت از فعالیت آنزیمی لیپوکسیداز و به‌خصوص هیالورونیداز است

1.Potentilla
2.*Potentilla recta*
3.Rosaceae
4.Rosicdeae
5.*P. fruticosa*

و در درمـان التهـاب پوسـت تـا حـدودی مفیـد مـی‌باشـد (Bazylko et al., 2013). در بررســی کورکــوران وهمکــاران (۲۰۱۲) نیــز نتــایج فعالیــت ضــد میکروبــی *پوتنتیلارپتانس*[1]در برابر عوامل بیماری‌زا اثبات شـده اسـت که نشانگر مؤثر بودن آن برای درمـان زخـم و عفونت‌هـای باکتریایی اسـت (Corcoran et al., 2012). از آنجـا کـه هیچ مطالعه‌ای در ارتباط با بررسی اثرات ضـد میکروبـی و آنتی اکسیدانتی عصاره‌های مختلف پنجه بـرگ راسـت در ایران صورت نگرفته است لذا این تحقیق با این هدف انجام پذیرفت.

مواد و روش کار

تهیه عصاره‌ها

گیاه‌پنجه برگ راست در اواخر اردیبهشت ماه از مراتع دره قاسملوی ارومیه جمع‌آوری شد و پس از تائیـد نـام علمـی آن توسط محققین گیاه‌شناسی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی آذربایجان غربی به شماره ۹۵۲۷ در هرباریوم مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی بـه ثبـت رسـید. جهت تهیه عصاره‌ها در این تحقیق از روش مسریشـن[2]بـه دلیل جلوگیری از آسیب مواد موجود در عصـاره‌های تهیـه شده استفاده شد. پس از خشک نمودن برگ‌هـای گیـاه در سایه،توسط آسیاب اقدام به تهیه پودر گیاه شـده و از الـک با اندازه ۴۰ مش[3] عبور داده شد، سپس ۲۵۰ گرم از پـودر در یک لیتر حلال خالص (شرکت مرک آلمان) حل شده و به مدت ۶ ساعت در روتـاری شـیکر بـا دور ۱۵۰ قـرار داده شد، بعداز انجام این مرحله از کاغذ واتمن[4]شماره ۴۱ عبور داده شـد. سـپس در تبخیرکننـده بـا دمـای ۴۰ درجـه سانتی‌گراد برای حذف حداقل ۹۰ درصد حـلال قـرار داده شد و درنهایت برای تغلیظ نهایی در دسـیکاتور خـلأ قـرار داده شد و تا زمان استفاده در شیشه‌های عایق نـور و هـوا در دمای یخچال نگهداری شد. جهـت شناسـایی ترکیبـات شیمیایی تشکیل‌دهنده عصاره‌ها از دستگاه کرومـاتوگرافی متصـل بـه طیف‌سـنج جرمـی[5] پژوهشـگاه زیسـت‌فناوری دانشگاه ارومیه استفاده شد (Li et al., 2006).

آماده سازی سوسپانسیون باکتری‌ها

سویه‌های باکتریایی مورد استفاده در این تحقیق شامل *استافیلوکوکوس اورئوس* (ATCC29923) *لیستریامنوسایتوژنز* (ATCC19115) *اشریشیاکلی* (PTCC1533) موجود در گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه بود. به‌منظوردستیابی به کشت تازه و فعال از میکروارگانیسم‌های مورد مطالعه، ازمحیط کشت ذخیره مورد نظردو بار به‌طورمتوالی با استفاده از سمپلر به لوله‌های در پیچ‌دار استریل حاوی محیط کشت برین هارت اینفیوژن براث منتقل و دردمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۱۸ ساعت گرمخانه‌گذاری شد. سپس ازکشت‌های ۱۸ ساعته دوم، مقادیرمختلف به کووت‌های یکبار مصرف منتقل وجذب نوری با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۲۵ نانومترتعیین شد تا سوسپانسیون باکتری معادل نیم مک فارلند تهیه شود. برای تائید تعداد باکتری‌ها با کشت پورپلیت مشخص شد.

روش انتشار چاهک[6]

اندازه گیری قدرت ضدباکتریایی عصاره‌ها بـر اسـاس روش چاهک انجام شد. بدین منظور پس از تهیـه سوسپانسـیون میکروبی از محیط بـراث مغـذی، نمونـه بـاکتری بـر روی محیط برین‌هارت‌اینفوژین براث (BHI) کشـت داده شـد و سپس چاهک‌هایی با استفاده از پانچ استریل ایجاد شد کـه هریک با ۲۰میکرولیتر محلول نمونه عصاره‌ی حل‌شـده در حلال دی متیل سولفوکساید تلقیح شدند. همچنین یـک چاهک حاوی حلال دی متیل سولفوکساید نیـز بـه‌عنـوان شاهد منفی در نظر گرفته شد. پلیت‌ها به‌مدت ۲۴ سـاعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گـراد انکوبـه شـده و پـس از ۲۴ ساعت هاله‌های شفاف عـدم رشـد در اطـراف چاهـک‌هـا (

1.*P. reptans*
2.Maceration
3.Mesh
4.Whatman
5.Gas chromatography- Mass Spectrometers (Thermofinigan, USA) coupled with mass spectrometry (TRACE 2000/EI quadrapole)
6.Well Diffusion

نشان‌گر فعالیت ضد باکتریایی) با کولیس مخصوص به‌دقت اندازه‌گیری شد. این آزمون در سه تکرار انجام شد (NCCLS, 2002).

آزمایش تعیین‌کمترین رقت مهاری رشد(MIC) و کمترین رقت باکتری‌کشی (MBC)

برای این منظور درپلیت ۹۶ خانه استریل و با روش براث-میکرودایلوشن انجام شد (Koletar, 2000). ۵۰۰ میکروگرم از عصاره‌ها در دی‌متیل‌سولفوکساید ۵ درصد حل شد و سپس اقدام به تهیه غلظت‌های سریالی برای عصاره‌ها در ادامه ۱۶۰میکرو لیتر از محیط کشت مولر-هینتون‌براث به همراه ۲۰میکرولیتر از غلظت‌های سریالی عصاره‌ها و ۲۰میکرولیتر از باکتری مورد مطالعه به چاهک‌های میکروپلیت ۹۶ خانه‌ای افزوده شده و به مدت ۲۰-۱۸ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد و سپس با استفاده از مشاهده ظاهری و مشخص نمودن چاهک‌های روشن فاقد رشد باکتری، برای تائید چاهک‌هایی که عصاره مانع از رشد باکتری شده بودند را جهت تعیین کمترین رقت مهاری رشد انتخاب و بر روی محیط کشت نوترینت آگار منتقل و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. حداقل غلظتی از عصاره که منجر به کاهش ۹۰ درصد تعداد کلنی‌های باکتریایی شده بود به‌عنوان‌کمترین رقت مهاری رشد در نظر گرفته شد. مقدار ۱۰میکرولیتر نیز از هر یک ازمیکروپلیت‌های فاقد کدورت بر روی محیط کشت مولرهینتون آگارتلقیح وکشت داده شد و پس از ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری دردمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، پلیت‌ها از نظر رشد باکتری بررسی شد و غلظتی از عصاره که ۹۹/۹ ٪ باکتری در آن رشد نکرده بود، به‌عنوان‌کمترین رقت باکتری‌کشی در نظرگرفته شد.

تعیین قدرت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها

برای این منظور از روش رادیکال دی فنیل پیکریل هیدرازیل[1] استفاده شد. توانایی دادن اتم هیدروژن یا الکترون توسط ترکیب‌های شیمیایی و عصاره‌های مختلف از روی میزان بی‌رنگ کردن محلول بنفش دیفنیل پیکریل هیدرازیل درمتانول سنجیده می‌شود. با استفاده از ترازوی با دقت ده‌هزارم گرم، از هرکدام از عصارها ۰/۱گرم توزین و در دی متیل سولفوکساید (مرک آلمان)[2] ۵ درصد حل شده و بعد از عبور از فیلترهای سرنگی ۰/۴۵ میکرومتراستریل و درلوله‌های در پیچ‌دار جمع‌آوری شد. جهت اندازه‌گیری قدرت آنتی‌اکسیدانی بر روی هرکدام از غلظت‌ها ۲ سی‌سی از محلول ۱ میلی مولاردیفنیل پیکریل هیدرازیل اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه در یک محیط کاملاً تاریک قرار گرفت و نهایتا در طول‌موج ۵۱۷ نانومتر توسط اسپکتوفتومتر میزان جذب نوری آن‌ها قرائت شد. جهت کنترل نیز از متانول خالص مرک استفاده شد. جهت کنترل مثبت نیز از ماده سنتتیک هیدروکسی تولوئن بوتیله[3] استفاده شد (Akowuah et al., 2005). بر اساس معادله زیر اقدام به‌اندازه‌گیری درصد مهار رادیکال‌های آزاد شد:

$$\text{DPPH scavenging effect \%} = \frac{\text{AbsDPPH} - \text{Absextract}}{\text{AbsDPPH}} \times 100$$

جهت بررسی بهتر فعالیت آنتی‌رادیکالی از فاکتور IC_{50} استفاده شد که بیانگر غلظتی از عصاره هست که قادر است رادیکال دیفنیل پیکریل هیدرازیل را به ۵۰ درصد مقدار اولیه برساند که این عدد با استفاده از رسم منحنی استاندارد محاسبه شد.

تجزیه‌وتحلیل آماری

کلیه آزمایش‌ها حداقل در سه تکرار انجام گرفت. داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس[4] یک‌طرفه و نرم‌افزار SPSS[5]تجزیه و تحلیل شدند. آزمون آماری دانکن[6] برای مقایسه میانگین‌ها در سطح معنی‌داری ۰/۰۵مورد استفاده قرار گرفت و نمودارها توسط نرم‌افزار اکسل رسم شد.

1.2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

2.Dimethyl sulfoxide
3.Butylated hydroxytoluene(BHT)
4.ANOVA
5.IBM SPSS(Statistical Package for Social Sciences) Statistics 16
6.Duncan's new multiple range test

نتایج

نتایج آنالیز ترکیبات شیمیایی عصاره‌های مورد استفاده در تحقیق با استفاده از دستگاه گاز کروماتوگرافی متصل به طیف‌سنج جرمی در جداول شماره ۲،۱ و ۳ آورده شده‌اند. از بین ترکیبات تشکیل‌دهنده عصاره‌ها، ۸۷٪ از مواد تشکیل‌دهنده عصاره اتیل استاتی را ۱۹ ترکیب به خود اختصاص دادند که به ترتیب: فیتول ۲۳/۷٪ و پنتاکوزان ۱۹/۳۹٪ بیشترین درصد مواد تشکیل‌دهنده را به خود اختصاص دادند. ۸۲٪ از مواد تشکیل‌دهنده عصاره اتانولی را ۱۷ ترکیب تشکیل دادند که فیتول با ۲۵/۱۱٪ و اتیل لینولئات ۲۰/۹۵٪ و بتاسیستروئول با ۱۷/۵۳٪ بیشترین درصد مواد تشکیل‌دهنده را به خود اختصاص دادند. ۹۸٪ از مواد تشکیل‌دهنده عصاره متانولی را نیز ۹ ترکیب شیمیایی به خود اختصاص دادند که متیل لینولئات با ۴۶/۹۷٪ و فیتول با ۱۳/۴۲٪ بیشترین درصد مواد تشکیل‌دهنده را به خود اختصاص دادند.

جدول۱- ترکیبات شیمیایی تشکیل دهنده عصاره گیاه پنجه برگ راست عصاره اتیل استاتی

ردیف	ترکیبات	شاخص زمان بازداری	درصد (Area)
۱	Nonadecane	۲۶/۹۶	۴/۰۴
۲	Farnesene	۲۸/۴۸	۱/۷۱
۳	Octadecane	۲۹/۷۲	۴/۳۶
۴	Nonadecane	۲۹/۸۱	۳/۲۸
۵	Phytol	۳۰/۱۸	۱۰/۵۵
۶	Phytol	۳۰/۴۷	۲/۲۴
۷	Phytol	۳۰/۶۸	۴/۲۲
۸	Di-tert-butyl-1-oxaspiro(4,5)deca-6,9-diene-2,8-dione-۷،۹	۳۱/۲۴	۱/۰۸
۱۹	methyloctadecane-۲	۳۱/۴۲	۰/۹۷
۱۰	Eicosane	۳۱/۹۳	۶/۲۷
۱۱	Stearyl alcohol	۳۲/۱	۲/۰۱
۱۲	Phytol	۳۳/۱۳	۶/۶۹
۱۳	Heptacosane	۳۳/۸۶	۶/۱۷
۱۴	Arachidyl alcohol	۳۴/۰۶	۲/۳۵
۱۵	Tetracosane	۳۴/۷۵	۳/۱۱
۱۶	Bis(2-ethylhexyl) adipate	۳۵/۶۵	۴/۱۶
۱۷	Pentatriacontene-۱۷	۳۵/۸۲	۰/۷۵
۱۸	Mono(2-ethylhexyl) phthalate	۳۶/۴۱	۳/۳۳
۱۹	Pentacosane	۳۶/۹	۱۹/۳۹

نتایج حاصل از داده‌های قدرت آنتی‌اکسیدانتی پس از گذشت ۳۰ دقیقه بر اساس اندیس IC_{50}، در نمودار شماره ۱ آورده شده است. مشخص است که پایین بودن اندیس IC_{50} نشان دهنده بالاتر بودن قدر ت آنتی اکسیدانتی ترکیب می‌باشد. همانطور که از نتایج مشخص است در بین عصاره‌های تهیه شده از گیاه پنجه برگ راست عصاره متانولی بیشترین قدرت ضدمیکروبی را نشان داد ($p<۰/۰۵$) و عصاره‌های اتانولی و اتیل استات ازنظر قدرت

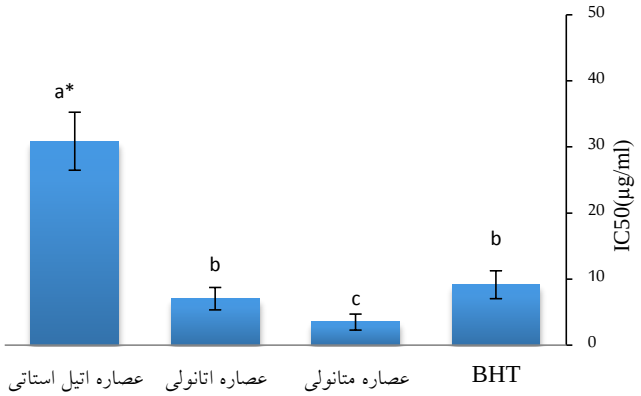
آنتی اکسیدانتی در رده‌های بعدی قرار داشتند (جدول شماره۱). همچنین از نظر مقایسه با هیدروکسی تولوئن (کنترل مثبت) بوتیله اختلاف معنی‌دار بین آن و عصاره متانولی و نیز بین عصاره اتیل استاتی مشاهده گردید (p<۰/۰۵).

جدول۲- ترکیبات شیمیایی تشکیل دهنده عصاره گیاه پنجه برگ راست عصاره اتانولی

ردیف	ترکیبات	شاخص زمان بازداری	درصد (Area)
۱	Octadecane	۲۷/۷	۰/۹۵
۲	Phytane	۲۷/۸	۰/۸۳
۳	phytol	۲۸/۱۸	۲/۹۹
۴	phytol	۲۸/۴۷	۱
۵	phytol	۲۸/۶۸	۱/۴۴
۶	Palmitic acid	۲۹/۷۳	۷/۷۹
۷	Ethyl palmitate	۲۹/۹	۳/۸۸
۸	phytol	۳۱/۱۲	۱۹/۶۸
۹	Ethyl linolenate	۳۱/۶۵	۲۰/۹۵
۱۰	Ethyl stearate	۳۱/۸۴	۰/۷۳
۱۱	Heneicosane	۳۲/۷۵	۱/۵۸
۱۲	Beta Sitosterol	۳۳/۶	۱/۱۶
۱۳	Beta Sitosterol	۳۳/۷۱	۶/۷۷
۱۴	Beta Sitosterol	۳۳/۸۹	۷/۷۱
۱۵	Beta Sitosterol	۳۴/۱۵	۱/۱۸
۱۶	Pentacosane	۳۴/۴۲	۱/۸۹
۱۷	Diisooctyl phthalate	۳۴/۹	۳/۰۸

جدول۳- ترکیبات شیمیایی تشکیل دهنده عصاره گیاه پنجه برگ راست عصاره متانولی

ردیف	ترکیبات	شاخص زمان بازداری	درصد (Area)
۱	Phytol	۶/۱۴	۳/۳۹
۲	Methyl linolenate	۲۶/۳۲	۴۶/۹۷
۳	Squalene	۷/۹	۵/۳۴
۴	Nonacosane	۱۳/۴۵	۸/۷۹
۵	Hentriacontane	۷/۹	۷/۵۶
۶	Eicosane, 2-methyl-	۷/۲۲	۴/۸۲
۷	Octadecane, 2-m	۹/۳۴	۴/۱۳
۸	Vitamin E	۱۱/۷	۷/۱۹
۹	Phytol	۱۰/۰۳	۱۱/۸



نمودار ۱- اندیس IC_{50} بدست آمده از تست رادیکال دی فنیل پیکریل هیدرازیل برای عصاره‌های مختلف گیاه پنجه‌برگ راست درمقایسه باکنترل مثبت BHT در ۳۰ دقیقه

*حروف کوچک غیر همسان نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ($p<۰/۰۵$) می‌باشد.

اندازه‌گیری قدرت ضد میکروبی عصاره‌های مختلف گیاه بروش انتشار چاهک در جدول شماره ۴ آورده شده است نتایج حاصل از داده‌های قدرت ضد میکروبی به‌روش انتشار چاهک نشان داد که در غلظت‌های مساوی عصاره‌ها (۱ mg/ml) عصاره متانولی بیشترین قدرت ضدمیکروبی را بر علیه باکتری *اشریشیاکلی* نشان داد ($p<۰/۰۵$) و عصاره‌های اتانولی و اتیل استات از نظر قدرت ضد میکروبی در رده‌های بعدی قرار گرفتند. در مورد باکتری-های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *لیستریا مونوسیتوزنز* نیز اختلاف معنی‌داری بین عصاره‌های متانولی و اتانولی دیده نشد ولی هردو عصاره فوق اختلاف معنی‌دار با عصاره اتیل استاتی داشتند. در بررسی قدرت ضد میکروبی عصاره‌های به‌دست‌آمده از گیاه پنجه‌برگ راست مشخص شد که باکتری *لیستریا منوسایتوژنز* بالاترین حساسیت را در برابر هر سه عصاره مورد مطالعه نشان داد. هر چند اختلاف معنی‌دار بین عصاره‌ها به غیر از عصاره اتیل استاتی دیده نشد ($p<۰/۰۵$). بر اساس نتایج نمودار شماره ۲ تعیین‌کمترین رقت مهاری رشد (MIC) وکمترین رقت باکتری‌کشی (MBC) نیز مشخص گردید که در مورد هر سه باکتری مورد مطالعه عصاره متانولی کمترین غلظت بازدارندگی و کشندگی را داشت و عصاره اتیل استات نیز کمترین قدرت ضد میکروبی را در این روش نشان داد.

بحث

مقابله با پدیده مقاومت به مواد ضد میکروبی در راستای کاهش بروز آن و یا محدود نمودن عوامل میکروبی مقاوم از اهمیت زیادی برخوردار است (Daneshmandi et al., 2010). مشکلاتی که در این رابطه به وجود آمده، انگیزه زیادی را برای جستجو و ارائه ترکیبات ضد میکروبی به‌ویژه با منشاء گیاهی فراهم آورده است (Kudi et al., 1999; Cimanga et al., 2002). در این بین شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده و موثره گیاهی از اهمیت خاصی برخوردار است. در بررسی تومیچک و همکاران (۲۰۰۹) بر روی آنالیز ترکیبات شیمیایی گونه‌های مختلف گیاه *پوتنتیلا* از قبیل *پوتنتیلا آنسرینا*[1]، *پوتنتیلا ویسکوزا*[2]، *پوتنتیلا ارکتا*[3]، *پوتنتیلا فروتیکوزا*[4]، *پوتنتیلا رپتنس*[5]، *پوتنتیلا دیسکولور*[6] و *پوتنتیلا مولتی فیلد*[7] مشخص شد که ترکیباتی از قبیل پنتا دی گالویکوز، آگریمونین، اسید اورژیک، کاتاچین، پونتتانین، اسید اورسیک، اسید گالیک، اسید فرومیک وسیسترول بیشترین مقدار را دارا می‌باشند. در نتایج حاصل از مطالعات باژیلکو وهمکاران (۲۰۱۳) بیشترین بخش از ترکیبات شیمیایی

1.*P.anserina*
2.*P.viscosa*
3.*P. erecta*
4.*P. fruticosa*
5.*P. reptans*
6.*P. discolor*
7.*P. multifield*

تشکیل‌دهنده عصاره اتیل استاتیپنجه برگ راست که توسط روش کروماتوگرافی با عملکرد بالا[1] اقدام به تجزیه‌شده بود، را روتین، اسید الاژیک و آگریمونین به خود اختصاص دادند (Bazylko, 2013). در مطالعه‌ای که وانگ وهمکاران (۲۰۱۳) بر روی سه گونه از گیاه *پوتنتیلا* شامل *پوتنتیلا گلابر*[2]، *پوتنتیلا فروتیکوزا* و *پوتنتیلا پاوی فولیا*[3]به روش کرماتوگرافی فاز معکوس با عملکرد بالا انجام دادند میزان فنولیک استخراج‌شده در سه گیاه بیانگر این بود که هیپروسید بیشترین فراوانی را به خود اختصاص داده و ترکیبات استخراج‌شده شامل اسید گالئیک، اسید فرولیک، روتین، اسید الاژیک وکاتاچین را شامل می‌شدند (Wang et al., 2013). در مطالعاتی که ژو وهمکاران (۲۰۰۵)، وو وهمکاران (۲۰۰۹) وتومیچیک وهمکاران (۲۰۰۹) انجام داده‌اند از بخش‌های هوایی پنجه برگ راست ده ترکیب ازجمله نئوگلیکانگلیکوزیدها و فلاونوئیدها جداسازی شده است. جنس‌های پوتنتیلا به‌عنوان جنس‌های شاخصی که شامل فلاونوئیدها و تری ترپو نوئیدها هستند شناخته‌شده‌اند (Wu et al., 2009; Xue et al., 2005; Tomczyk et al., 2009).این در حالی است که بیشترین ترکیبات شناسایی‌شده از عصاره‌های موردتحقیق پیش رو شامل فیتول، متیل لینئوات، اتیل لینئوات، بتا سیسترول و پنتاکوزان بودند. نتایج حاصل از مطالعات قبلی و تحقیق حاضر بیانگر این موضوع است که نوع حلال و روش استخراج و نیز منطقه جغرافیایی گیاه می‌تواند بر ترکیبات تشکیل دهنده موثر باشد. هرچند استفاده از روش‌های دقیق‌تر و با حساسیت بالاتر می‌تواند در شناسایی اجزاءتشکیل‌دهنده عصاره‌ها بسیار مؤثرتر و تأثیرگذارتر باشد. با توجه به اینکه در هر سه عصاره مورد مطالعه ماده شیمیایی فیتول مشترک بود می‌توان بالا بودن قدرت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی عصاره متانولی را بر اساس درصد تشکیل دهندگی به متیل لینولنات نسبت داد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی عصاره‌های گیاهی سال‌های زیادی مورد بررسی قرارگرفته است، اما بیشترین تمرکز و بررسی طی سی سال گذشته بوده است. در این دوره بیشتر روی گیاهانی که کاربرد سنتی داشته‌اند به‌ویژه در کشورهایی نظیر چین و آمریکا بررسی شده اند. درحالی‌که گزارش‌های مربوط به گیاهان بومی کشور ما بسیار پراکنده و جزئی است (Suffredini et al., 2006). روش‌های مختلفی جهت اندازه‌گیری تعیین قدرت بالقوه آنتی‌اکسیدانی از نمونه‌های زیستی وجود دارد. در میان روش‌های مورداستفاده، روش ربایش رادیکال دیفنیل پیکریل هیدرازیل به‌طورگسترده‌ای مورداستفاده قرار می‌گیرد. از مزایای این روش می‌توان به استفاده سریع، آسان و ارزان بودن اشاره کرد (Kedare and Singh, 2011).در تحقیقی که وانگ و همکاران انجام دادند قدرت آنتی‌اکسیدانی سه گونه از گیاه *پوتنتیلا* با *ترولکس*[4]مقایسه شد. عصاره *پوتنتیلا فروتیکوزا*بیشترین قدرت آنتی‌اکسیدانی را در بین عصاره سایر گونه‌ها به خود اختصاص داد (IC_{50} معادل ۲۳/۸۷ میکروگرم بر سی سی) که در مقایسه با تحقیق حاضر، عصاره متانولی مورد تحقیق در ایران اثر آنتی‌اکسیدانتی قوی تری داشته است (IC_{50} معادل ۳/۵ میکروگرم بر سی سی). ولی با افزایش غلظت، تفاوت معناداری بین قدرت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها مشاهده نشد. در مطالعه بازیلکو وهمکاران (۲۰۱۳) عصاره اتیل استاتی استخراج شده با روش اولتراسونیکاسیون در مقایسه با عصاره‌های دی اتیل اتری، اتانولی و آبی کم‌ترین میزان IC_{50} (۳/۵ میکروگرم بر سی سی) را نشان داد که با نتایج تحقیق حاضر هم‌خوانی ندارد. علت این امر می‌تواند به تفاوت در روش استخراج عصاره مربوط باشد. نتایج این تحقیق نشان داد که در غلظت‌های مساوی عصاره متانولی عملکرد بهتری را در مقایسه با کنترل مثبت(BHT) از خود نشان داد. گیاهان دارای اثرات ضدمیکروبی بامکانیسم‌های مختلف وحتی متفاوت از آنتی‌بیوتیک‌ها

1.HPLC
2.*P.glabra*
3.*P.parvifolia*
4.Trolex

رشد باکتری را مهارمی‌کنند این امرلزوم تحقیقات جامع‌تردرحیطه گیاهان دارویی را گوشزد نموده و افزایش روزافزون مقالات انتشار یافته درزمینه خصوصیات ضدمیکروبی گیاهان را توجیه می‌کند (Srivastava et al., 2014). بر اساس نتایج ضد میکروبی در این تحقیق باکتری *لیستریا منوسیتوژنز* بالاترین حساسیت وعصاره متانولی بهترین عملکرد در برابر عصاره‌های مورد مطالعه از خود بروز داد نشان داد. در طی مطالعه‌ای که تومیچک وهمکاران انجام دادند (۲۰۰۸) مشخص شد که عصاره آبی گونه‌های پوتنتیلا قوی‌ترین فعالیت ضد میکروبی مناسبی را بر روی هلیکوباکترپیلوری دارد (MIC=0.1–0.5 mg/ml). همچنین در یافته‌های این مطالعه مشخص شد که عصاره در محدوده غلظت ۱۰۰-۱۲/۵ mg/ml از رشد باکتری‌های گرم مثبت ممانعت می‌کند ولی در برابر رشد باکتری‌های گرم منفی ناموفق است (Tomczyk et al., 2008). حساسیت باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی نسبت به بسیاری از مواد ضدمیکروبی به‌طورقابل توجهی با یکدیگر متفاوت است به‌گونه‌ای که باکتری‌های گرم مثبت حساسیت بیشتری از خودشان نشان می‌دهند و مقاومت نسبی ارگانیسم‌های گرم منفی نسبت به بسیاری از مواد ضدمیکروبی احتمالاً به دلیل پیچیدگی طبیعی موانع موجود در پوشش سلولی هست. این پوشش شامل غشاء سیتوپلاسمی یا داخلی، محتوی لیپید-پروتئین و یک لایه نازک پپتید وگلیکان و یک غشاءخارجی شامل لیپو پلی ساکارید است

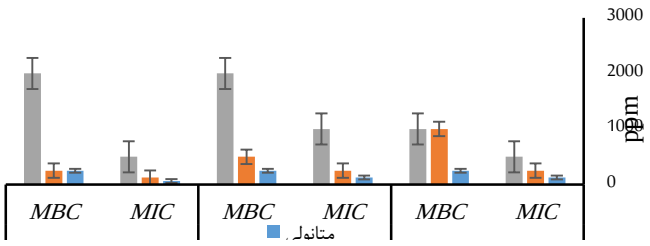
اگرچه باکتری‌های گرم مثبت نیز دارای یک غشاء سیتوپلاسمی و پپتید وگلیکان می‌باشند ولی بقیه پوشش سلولی آن‌ها بیشتر از پلی ساکاریدهای آنیونی و در برخی از موارد از مقدار کمی پروتئین ساخته شده است. غشای خارجی در سلول‌های گرم منفی سدی در مقابل نفوذ مواد ایجاد نموده و موجب می‌شود که قابلیت نفوذپذیری سلول‌های گرم منفی نسبت به بسیاری از انواع مولکول کمتر از سلول‌های گرم مثبت باشد (Hussain, 2010). در تحقیق حاضر مشخص شد که باکتری‌های گرم مثبت *لیستریا مونوسیتوژنز* و *استافیلوکوکوس اورئوس* بیشترین حساسیت و باکتری *اشریشیاکلی* کمترین حساسیت را به عصاره‌های مورد مطالعه از خود نشان داد که این کاملاًبا مطالعه تومیزک و همکاران (۲۰۰۸) مطابقت دارد. در تحقیق دیگری، واتکینس و همکاران (۲۰۱۲) اثرات ضد میکروبی عصاره اتانولی ریشه گیاه *پونتیلا رپتنس*[1] که در طب سنتی انگلستان برای درمان زخم بکار برده می‌شد را بر روی باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* مورد مطالعه قرار دادند و کمترین رقت باکتری‌کشی (MBC) برابر با ۱ میلی گرم بر سی‌سی را بدست آوردند که با نتایج مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد (Watkins et al., 2012). براساس نتایج تحقیق حاضر مشخص شد که روش و حلال‌های مورد استفاده برای استخراج ترکیبات گیاهی می‌تواند بر نتایج اثرات ضد میکروبی و آنتی اکسیدانتی به‌دست‌آمده تأثیرگذار باشند، به طوریکه عصاره متانولی ازنظر قدرت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی بالاترین عملکرد را داشت.

1.*P. reptans*

جدول ۴- اندازه‌گیری قدرت ضد میکروبی عصاره‌های مختلف گیاه بروش انتشار چاهک (p<۰/۰۵)

عصاره	غلظت (mg/ml)	قطر میانگین هاله عدم رشد(برحسب میلی‌متر) میانگین±انحراف معیار		
		استافیلوکوس اورئوس	*اشریشیا کلی*	*لیستریا منوسایتوژنز*
متانولی	۱	aA*۱۵/۱±۳۳/۱۵	aA۱۶/۰±۶۶/۵۰	aA۱۷/۰±۶۶/۵۷
اتانولی	۱	aA۱۳/۱±۶۶/۵۲	bA۱۴/۱±۳۳/۱۵	aA۱۵/۱±۶۶/۵۲
اتیل استات	۱	bA۴/۰±۳۳/۵۷	cB۲/۰±۶۶/۵۷	bC۶/۱±۶۶/۵۲

*در هر ستون حروف کوچک و در هر ردیف حروف بزرگ غیر همسان نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح (p<۰/۰۵) می باشد.



نمودار۲- مقایسه MIC وMBC عصاره‌های مختلف گیاه پنجه برگ راست

نتیجه‌گیری

دریک نتیجه‌گیری کلی می‌توان بیان نمودکه عصاره‌های گیاه پنجه‌برگ راست دارای قابلیت ضد باکتریایی مناسبی درشرایط invitro برروی سویه‌های گرم مثبت مورد مطالعه بود. واضح است که تنها یک روش نمی‌تواند پیش‌بینی جامعی از تأثیر تمام پارامترهای درگیر در خصوصیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی ارائه دهد. بنابراین می‌طلبد که با روش دیگر نیز این بخش از مطالعه حاضر انجام گردد تا تفاوت‌های احتمالی بین روش‌های متفاوت آشکارگردد و همچنین در مدل‌های غذایی و Invivo اقدام به بررسی اثر عصاره‌های مختلف گیاه ازنقطه‌نظر قدرت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی شود.

تشکر و قدردانی

محققین لازم می‌دانند از کلیه کارکنان آزمایشگاه بخش تحقیقات فنی و مهندسی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی و سرکار خانم دکتر هاشمی که در انجام این تحقیق صمیمانه همکاری داشتند نهایت سپاسگزاری را داشته باشند.

منابع

۱. خاتم ساز ، محبوبه (۱۳۸۲). فلور ایران جلد شش تیره گل سرخیان. انتشاراتسازمان تحقیقات،آموزش وترویج کشاورزی. صفحه ۳۵۲.

2. Akowuah, G.A., Ismail, Z., Norhayati, I. and Sadikun, A. 2005. The effects of different extraction solvents of varying polarities on polyphenols of Orthosiphon stamineus and evaluation of the free radical-scavenging activity. Food Chem. 93:311–317.

3. Amal, A. Mohamed., Ashraf A. Khalil. and Hossam E. S. El-Beltagi. 2010. Antioxidant and antimicrobial properties of kaff Maryam (*Anastatica hierochuntica*) and doum palm (*Hyphaene thebaica*).Grasas Y Aceites. 61: 67–75.

4. Atanasov, A.G., Waltenberger, B., Pferschy-Wenzig, E.-M., Linder, T., Wawrosch, C., Uhrin, P. and Stuppner, H. 2015. Discovery and resupply of pharmacologically active

plant-derived natural products: A review. Biotechnol Adv. 33: 1582–1614.

5. Bazylko, A., Piwowarski, J. Filipek, A., Bonarewicz, J. Tomczyk, M. 2013. In vitro antioxidant and anti-inflammatory activities of extracts from Potentilla recta and its main ellagitannin, agrimoniin. J. Ethnopharmacol.149:222–227.
6. Buhner, S.H. 2012. Herbal Antibiotics: Natural Alternatives for Treating Drug-Resistant Bacteria. Storey Publishing, North Adams, MA.USA
7. Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential application in foods-a review. Int J Food Microb; 94: 223–53.
8. Chambers, H.F. 2006. Ceftobiprole: in-vivo profile of a bactericidal cephalosporin. Clin. Microbiol. Infect. l2:17–22
9. Chandra, M. 2013. Antimicrobial Activity of Medicinal Plants againstHuman Pathogenic Bacteria. IJBBR. 4: 653–658.
10. Cimanga, K., K. Kambu, L. Tona, S. Apers, T. De Bruyne, N. Hermans, J. Totté, L. Pieters and A. Vlietinck. 2002. Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo. J. Ethnopharmacol. 79: 213–220.
11. Corcoran, O., Watkins,F. Pendrey, F. and Sanchez-medina, A. 2012. Antimicrobial assays of three native British plants used in Anglo-Saxon medicine for wound healing formulations in 10th century England J. Ethnopharmacol. 144: 408–415.
12. Daneshmandi, S., N. Soleimani, A. A. Pourfathollah and M. Sattari. 2010. "Evaluation of the drug synergistic and antibacterial effects of *cuminum cyminum* essential oil. Arak Med. Univ. J. 13: 75–82.
13. Ehsani, A. Zare, P. and Mahmoudi, R. 1390. Phytochemical, antibacterial and antioxidant properties of *Cuminum Cyminum L*. essential oil. Int. Food Res. J. 22: 311 – 321.
14. Gami, B. and Kothari, I. L .2011. Antioxidant& Antimicrobial activity of in vivo and in vitro growth plants of *Phyllanthus niruri L*. 2011.Int. J. Pharm. Biol. Sci. 2: 78–89.
15. Guillén, A. Rico, E. and Castroviejo, S. 2005. Reproductive biology of the Iberian species of *Potentilla L*. (Rosaceae). Anales del Jardín Botánico de Madrid. 62: 9-21.
16. Kedare, S. B. and R. Singh. 2011. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. J. Food Sci. Technol. 48: 412–422.
17. Kudi, A., J. Umoh, L. Eduvie and J. Gefu .1999. Screening of some Nigerian medicinal plants for antibacterial activity. J. Ethnopharmacol. 67: 225–228.
18. Li, Q., Hui, J., Shang, D.,Wu, L., Ma, X. 2003. Investigation of the chemical constituents of the roots of *Potentilla anserina L*. in Tibet. Chin. Pharm. J. 55:179–184.
19. Li, Y., C. Guo, J. Yang, J. Wei, J. Xu. and S. Cheng. 2006. Evaluation of antioxidant properties of pomegranate peel extract in comparison with pomegranate pulp extract. Food Chem. 96: 254–260.
20. Lund, K. and Rimpler, H. 1985. Tormentillwurzel. Isolierung eines Ellagitannins und pharmakologisches Screening. Deutsche Apotheker Zeitung 125: 105–108.
21. Mahmoudi, R. and Nosratpour, S. 2013.*Teucrium polium L*. essential oil: phytochemiacl component and antioxidant propertiesInt. Food Res. J. 20: 1697–1701.
22. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance Standards for antimicrobial susceptibility testing. 8th Informational Supplement. M100 S12. National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2002. Villanova, Pa.
23. Newton, S. M., C. Lau, S. S. Gurcha, G. S. Besra and C. W. Wright. 2002. "The evaluation of forty-three plant species for in vitro antimycobacterial activities; isolation of active constituents from Psoralea corylifolia and Sanguinaria canadensis. J.

Ethnopharmacol. 79: 57–67.

24. Oroojalian, F., Kasra-Kermanshahi, R., Azizi, M. and Bassami, M.R. 2009. Phytochemical composition of the essential oils from three Apiaceae species and their antibacterial effects on food-borne pathogens.Int. J. Food Microbiol.120): 765–770.
25. Palombo, E. A. and S. J. Semple. 2002. "Antibacterial activity of Australian plant extracts against methicillinresistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and vancomycin resistant enterococci (VRE)." J. Basic Microbiol. 42: 444–448.
26. Pandey A, Kumar K, Damini K. 2012. A comparative analysis of antibacterial properties of different varieties of *Rosa Indica* leaves and petals against various pathogen. IJPRD. 3:39–47.
27. Sivasudha, A., Anath, D. Rameshkumar, A., Aseervathan, S. and Jeyadevi, R. 2013. Chemical constituents, in vitro antioxidant and antimicrobial potentia l of Caryota urens L. Free Radicals and Antioxidants 3: 107–112.
28. Srivastava, J., Chandra, H., Nautiyal. and Kalra, Swinder J. S. 2014. Antimicrobial resistance (AMR) and plant-derived antimicrobials (PDAms) as an alternative drug line to control infections. 3 Biotech 4: 451-460.
29. Suffredini, I.B., Paciencia, M.L.B., Varella, A.D. and Younes R.N. 2006. Antibacterial activity of Brazilian Amazonplant Extracts, The Braz J Infects Dis. 10:400 – 402.
30. Tomczyk, M. and Latte, K.P. *Potentilla*A review of its phytochemical and pharmacological profile. 2009. J. Ethnopharmacol. 122: 18.
31. Tomczyk, M., Leszczyńska, K.andJakoniuk,P. 2008.Antimicrobial activity of Potentilla species. Fitoterapia. 79: 592–594.
32. Wang, Dong-Mei. Wang, Shan-Shan. Pu, Wen-Jun. Li. and Deng-Wu . 2013. Phytochemical profiles, antioxidant and antimicrobial activities of three Potentilla species. BMC Complementary Altern. Med. 13:321.
33. Wang, S., Melnyk, J.P., Tsao, R. and Marcone, M.F. 2011. Review how natural dietary antioxidants in fruits, vegetables and legumes promote vascular health. Food Res. Int. 44: 14–22.
34. Watkins, F., Pendry, B., Sanchez-Medina, A. and Corcoran, O. 2012. Antimicrobial assays of three native British plants used in Anglo-Saxon medicine for wound healing formulations in 10th century England. J Ethnopharmacol. 144: 408–415.
35. Wu, X.H., Ruan, J.L. and Cai, Y.L. 2009. Biochem. Syst. Ecol. 37: 50.
36. Xue, P.F., Luo, G., Zeng, W.Z., Zhao, Y.Y. and Liang, H. 2005. Biochem. Syst. Ecol. 33: 725.

Evaluation of the chemical composition,antimicrobial and antioxidant of *Potentilla recta* extracts

Azad[1] H, Mehdizadeh T *[2]

1.MSc.Student, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University of Urmia, Urmia, Iran.

2. Department of Food Hygiene & quality control, Faculty of veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran.

***Corresponding author:** *t.mehdizadeh@urmia.ac.ir*

Received: 20 April 2017 Accepted: 22 June 2017

Abstract

The importance of medicinal plants, with the intensification of the therapeutic effect, is that in many cases it can also avoid the toxicity and adverse effects of medication. In this study *Potentilla recta*, one of the Iran and Azerbaijan region-native medicinal plants, was studied in terms of chemical composition, antimicrobial and antioxidant effect. After collecting, drying and milling of plants, the methanol, ethanol and ethyl acetate extracts obtained by maceration method. To identify the constituents of the extracts, gas chromatography connected tomass spectrometry was conducted. The DPPH radical scavenging method used to measure the antioxidant potential and the results was reported based on the IC_{50} index. After determine MIC and MBC using broth micro dilution method, agar well diffusion assay conducted to assess the antimicrobial effect of extracts. Data were analyzed by one-way analysis of variance (ANOVA) and means were compared using Duncan test at $P<0.05$ using SPSS software ver.16. The results of the antimicrobial activity showed that the extracts had antimicrobial effect and in this case methanol extract significantly increase *L.monocytogenes* microbial growth inhibition zone area ($p <0.05$). All prepared extracts had the ability to scavenging radical 1, 1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl and the highest antioxidant potency after 30 minutes related to methanol extract. Most chemical compounds in methanol, ethanol and ethylacetate extracts, were respectively: methyllinoleate and ethyllinoleate. This study showed that the methanol extract of *Potentilla recta* has great antibacterial and antioxidant properties and with more research can be used in various applications.

Keywords: Antioxidant, Antibacterial, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Potentilla recta.*