

مقایسه تأثیر عصاره‌های آبی و الکلی دارچین و زردچوبه بر رشد هلیکوباکتریپیلوری در شرایط آزمایشگاهی

مهندس سیدکریم شفق‌اصیل^۱ - مهندس عزت نوری زاده^۲ - دکتر کریم‌الله قاسمی گرمی^۳ - مهندس نقی مالوفی^۴

^۱ بیوتکنولوژیست، عضو هیئت علمی دانشگاه محقق اردبیلی

^۲ میکروبیولوژیست، عضو هیئت علمی دانشگاه محقق اردبیلی

^۳ میکروب شناس بالینی، عضو هیئت علمی دانشگاه محقق اردبیلی

^۴ کارشناس صنایع غذایی دانشگاه محقق اردبیلی

نویسنده مسؤول: مهندس سید کریم شفق‌اصیل - اردبیل - دانشگاه محقق اردبیلی - صندوق پستی ۱۷۹ - دانشکده فنی

E-mail: shafaghiasl@yahoo.com

وصول: ۸۴/۵/۱۶، اصلاح: ۸۴/۸/۱، پذیرش: ۸۴/۸/۹

چکیده

زمینه و هدف: امروزه مشخص شده است که هلیکوباکتریپیلوری شایع‌ترین علت گاستریت در سراسر جهان است. این ارگانسیم در پیشرفت زخم معده و به ویژه زخم دوازدهه نیز نقش مهمی را ایفا نموده و عامل یکی از رایج‌ترین عفونت‌ها در سراسر دنیا است که حداقل نیمی از جمعیت را در بسیاری از جوامع مبتلا می‌سازد. مقاومت‌های این میکروارگانسیم در برابر داروهای شیمیایی یک مشکل جدی است و نیاز برای یافتن مواد ضد میکروبی ارزان و مؤثر را ایجاد می‌کند. در حال حاضر بنا به دلایل مختلف نظیر غلبه بر مقاومت‌های اکتسابی باکتری‌ها و مصرف نابجای آنتی‌بیوتیک‌ها، تولید فرآورده‌های گیاهی ضد باکتریایی کاملاً ضروری به نظر می‌رسد. بنابراین هدف از این پژوهش بررسی اثر ضد باکتریایی عصاره‌های آبی و الکلی زردچوبه و دارچین را بر روی پنج سویه هلیکوباکتریپیلوری می‌باشد.

مواد و روش‌ها: گیاهانی که بر علیه پنج سویه هلیکوباکتریپیلوری انتخاب شدند، شامل دارچین و زردچوبه بودند که عصاره‌های الکلی و آبی آنها با روش انتشار در آگار بر روی پنج سویه هلیکوباکتریپیلوری‌های جدا شده از بیماران مراجعه‌کننده به بخش آندوسکوپی بیمارستان شریعی تهران مورد بررسی قرار گرفت، نمونه‌های بیوپسی از بیماران مبتلا به زخم معده و اثنی‌عشر، گاستریت و سرطان معده جدا شده بود. نمونه‌ها در داخل ترانسپورت به آزمایشگاه جهت بررسی و مطالعات بعدی منتقل شدند.

یافته‌ها: از بین عصاره‌های آبی و الکلی حاصل از گیاهان مورد مطالعه از نظر خاصیت ضد باکتریایی، عصاره‌های زردچوبه بیشترین اثر ضد میکروبی را از خود نشان دادند. بطوری که قطر هاله عدم رشد در عصاره‌های آبی ۲۲ میلی‌متر و در عصاره الکلی ۱۸ میلی‌متر بود. در صورتی که قطر هاله عدم رشد برای گیاه دارچین در عصاره آبی ۱۷ میلی‌متر و در عصاره الکلی ۱۲ میلی‌متر بود.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که گیاهان مورد آزمایش دارای خاصیت ضد باکتریایی می‌باشند که در این میان، خاصیت ضد باکتریایی عصاره آبی زردچوبه بر روی هلیکوباکتریپیلوری قابل توجه می‌باشد. بنابراین توصیه می‌گردد با استخراج مواد مؤثره این گیاهان، تحقیقات بیشتری در این زمینه انجام شود. (مجله دانشکده علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی سبزوار، دوره ۱۲/ شماره ۳/ ۲۱-۱۷).

واژه‌های کلیدی: دارچین؛ زردچوبه؛ ضد باکتریایی؛ هلیکوباکتریپیلوری.

مقدمه

اسانس‌ها ترکیبات شیمیایی و معطری هستند که در اندام‌های گیاهان دارویی یافت می‌شوند. بسیاری از فرآورده‌های گیاهان دارویی به علت داشتن روغن فرار به طور مستقیم در پزشکی مصرف می‌شوند، ولی در بیشتر موارد روغن فرار از مواد خام جدا شده و به عنوان دارو بکار می‌رود. عصاره گیاهی از نظر اقتصادی نیز نقش بزرگی در داروسازی، صنایع غذایی و بهداشتی دارند. خواص ضد میکروبی عصاره‌های گیاهان دارویی از زمان‌های قدیم شناخته شده است. امروزه استفاده بی‌رویه از مواد نگهدارنده و آنتی‌بیوتیک‌ها در صنایع غذایی و درمان بیماران سبب شده است تا مقاومت دارویی باکتری‌ها به شدت گسترش یابد. از این رو در حال حاضر منابع طبیعی بویژه گیاهان دارویی و خوراکی به عنوان مخازن اکولوژیکی مورد توجه قرار گرفته‌اند (۱). هلیکوباکتریلوری یکی از عوامل ایجادکننده گاستریت و زخم‌های معده و دوازدهه است که درمان کامل آن بسیار مشکل بوده و در بیشتر موارد باید از ترکیب چند آنتی‌بیوتیک استفاده نمود (۲،۳). این نوع درمان بسیار گران است و عوارض جانبی نیز بدنبال دارد و در بیشتر مواقع امکان بروز مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها را نیز دارد (۴،۵).

برای ریشه کن کردن هلیکوباکتریلوری، از رژیم‌های درمانی چند دارویی استفاده می‌شود. موفق نبودن درمان‌ها و عود بیماری در بیماران درمان شده، همراه با مقاومت دارویی روزافزون این باکتری موجب شده است تحقیقات در زمینه یافتن داروهای جدید ادامه یابد (۶). دارچین و زردچوبه در گذشته، هم به عنوان دارو و هم به عنوان غذا مورد استفاده مردم بوده است و به عنوان گیاهان دارویی مؤثر بر میکروارگانیسم‌ها در طول تاریخ شناخته شده اند (۷). با توجه به این مهم هدف از این مطالعه مقایسه اثرات عصاره‌های آبی و الکلی دارچین و زردچوبه بر رشد هلیکوباکتریلوری

می‌باشد. برای این منظور، تأثیر دو گونه از گیاهان افزودنی در مواد غذایی از نظر خاصیت ضدباکتریایی بر علیه پنج سویه هلیکوباکتریلوری مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی تعداد ۵۰ نمونه بیوپسی جدا شده از بیماران مراجعه‌کننده به بخش آندوسکوپی بیمارستان شریعتی تهران مورد بررسی قرار گرفت. این نمونه‌ها از بیماران مبتلا به زخم معده و اثنی عشر، گاستریت و سرطان معده جدا شده بودند. نمونه‌ها در داخل محیط ترانسپورت به آزمایشگاه منتقل شدند و در روی محیط پایه کمپیلوباکتر بلا‌آگار حاوی ۵ درصد خون گوسفند دفیبرینه، وانکومایسین ۱۰ میلی گرم در لیتر، پلی میکسین B ۰/۲۵ میلی گرم در لیتر، تری متوپریم ۵ میلی گرم در لیتر و آمفوتریسین B ۲ میلی گرم در لیتر کست داده شدند. پلیت‌ها در درون جار بی هوازی قرار گرفتند. پس از اضافه کردن آب به Gas pack درب جار محکم بسته شده و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷-۳ روز گرمخانه‌گذاری گردید. تعیین هویت کلونی‌های هلیکوباکتریلوری، توسط رنگ آمیزی گرم و تستهای اوره آز، اکسیداز و کاتالاز انجام شد (۶).

برای تهیه عصاره‌های الکلی، اتری و آبی از پودر آسیاب شده و خشک شده هل، میخک، زنجبیل و زردچوبه استفاده شد. سپس ۱۰ گرم از پودر مورد آزمایش در آب و ۱۰ گرم در اتانول، ریخته شده و محلول‌های حاصله به مدت ۲۴ ساعت، در دمای ۳۲ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شدند. بعد از ۲۴ ساعت، مایع رویی استخراج، فیلتر شده و توسط دستگاه تقطیر در خلاء تغلیظ شد. نمونه‌های تغلیظ شده، روی شیشه ساعت قرار داده شدند و در آن ۴۰ درجه سانتی‌گراد، با تبخیر حلال رسوب خشک شده هر یک از حلالها بدست آمد (۶).

برای انجام تست حساسیت به عصاره آبی زردچوبه

این سوسپانسیون روی محیط مولر هیتون آگار حاوی ۵ درصد خون، تلقیح شد. دیسک بلانک استریل روی پلیت‌ها قرار داده شده و عصاره‌های آبی، اتانولی، و اتری زردچوبه، زنجبیل، میخک و هل در غلظت ۴۰۰ میکروگرم در میلی لیتر به میزان ۱۰ میکرولیتر روی دیسک بلانک تلقیح شد بعد از ۲ روز گرمخانه گذاری پلیت‌ها از لحاظ وجود هاله عدم رشد بررسی شدند (۶).

یافته‌ها

از ۵۰ نمونه بیوپسی جمع آوری شده، ۳۵ نمونه از لحاظ خواص بیوشیمیایی بررسی شدند. همه نمونه‌های حاصله از لحاظ اکسیداز، کاتالاز و اوره آز مثبت بودند. همچنین به سفالوتین حساس و به نالیدیکسیک اسید مقاوم بودند. بررسی باکتری در لام‌های مستقیم و پاتولوژی انجام شد. در ۷۵ درصد لام‌های مستقیم و در ۹۰ درصد لام‌های پاتولوژی هلیکوباکتریلوری مشاهده گردید. دامنه MIC عصاره زردچوبه و دارچین برای سویه‌های مختلف به ترتیب ۲۰۰ - ۳۵۰ و ۲۵۰ - ۳۵۰ میکروگرم در میلی لیتر تعیین گردید. از بین عصاره‌های آبی حاصل از گیاهان مورد مطالعه از نظر اثر ضد باکتریایی، عصاره زردچوبه بیشترین اثر ضد هلیکوباکتریلوری را داشت (بیشترین قطر هاله عدم رشد ۲۲ میلی متر) و بعد از آن دارچین قرار داشتند. در میان عصاره‌های الکلی نیز، عصاره زردچوبه با بیشترین قطر هاله عدم رشد (۱۸ میلی متر) اثر بخش بوده و پس از آن دارچین دارای فعالیت ضد باکتریایی بود. در جدول ۱،

و دارچین از روش Agar Dilution استفاده شد به این طریق که ۵ نمونه هلیکوباکتریلوری (۲ نمونه جدا شده از زخم، ۲ نمونه جدا شده از گاستریت، ۱ نمونه جدا شده از سرطان معده)، برای بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره‌های گیاهی مورد استفاده قرار گرفت. عصاره‌های آبی دارچین و زردچوبه، در داخل بروسلا آگار حاوی ۵ درصد خون، در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰، ۳۰۰، ۳۵۰، ۴۰۰ میکروگرم در میلی لیتر ریخته شد. سپس از باکتری‌هایی که در بروسلا برات به مقدار $10^8 \times 3$ باکتری در میلی لیتر تهیه شد. ۵ میکرولیتر از هر سوسپانسیون باکتریایی روی بروسلا آگار حاوی عصاره‌های گیاهی ریخته شده و پلیت‌ها در درون جار بی هوازی قرار گرفتند. پس از اضافه کردن آب به Gas pack درب جار بسته شده و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و ۵ درصد دی اکسید کربن گرمخانه گذاری گردید. بعد از ۵ روز کمترین غلظت عصاره‌های گیاهی را که رشد قابل رؤیت را پس از مدت کافی گرمخانه گذاری باز می‌داشت، به عنوان MIC (Minimum Inhibitory Concentration) در نظر گرفته شد (۶).

جهت بررسی حساسیت سویه‌های مختلف هلیکوباکتریلوری به عصاره‌های آبی، الکلی زردچوبه و دارچین از روش Disk Diffusion استفاده شد. در این روش، از باکتری‌های رشد کرده در روی پلیت‌های حاوی کمپیلوباکتر بلا د آگار حاوی ۵ درصد خون گوسفند دفیبرینه، سوسپانسیون در سرم فیزیولوژیک به تعداد 10^8 $\times 3$ باکتری در میلی لیتر تهیه شد. سپس ۵۰ میکرولیتر از

جدول ۱: اثر ضد باکتریایی عصاره‌های آبی و الکلی گیاهان مورد مطالعه بر روی پنج سویه هلیکوباکتریلوری جدا شده از بیماران

نوع عصاره	هاله‌های عدم رشد بر حسب میلی متر در سویه‌های پنج گانه و گروه شاهد					
	سویه ۱	سویه ۲	سویه ۳	سویه ۴	سویه ۵	میانگین
عصاره آبی زردچوبه	۲۰	۱۶	۲۲	۱۴	۱۸	۱۸
عصاره آبی دارچین	۱۴	۱۶	۱۵	۱۳	۱۷	۱۵
عصاره الکلی زردچوبه	۱۵	۱۲	۱۸	۱۴	۱۶	۱۵
عصاره الکلی دارچین	۹	۱۱	۸	۱۲	۱۰	۱۰

نتایج حاصل از اثر عصاره های مختلف گیاهی بر سویه‌های پنج‌گانه ارائه شده است.

بحث

با توجه به بررسی های انجام شده می توان چنین نتیجه گرفت که برای مهار هلیکوباکتریپیلوری، می توان از عصاره های آبی و الکلی زردچوبه و دارچین استفاده کرد. هنوز مدرکی دال بر این که آنتی بیوتیکی بتواند بر هلیکوباکتر پیلوری کاملاً مؤثر باشد، گزارش نشده است (۱،۸). ساکاریا و همکارانش نیز در یک بررسی، فعالیت ضد باکتریایی روغن زردچوبه را بر روی باسیلوس سرئوس، باسیلوس کوآکولانس، باسیلوس سابتیلیس، استافیلوکوکوس اورئوس، اشیشیاکلی و سودوموناس آئروجینوزا بررسی کردند. آن ها پس از جداسازی پیگمان زرد رنگ، زردچوبه از اولئورزین زردچوبه، مایع باقیمانده را که تقریباً ۴۰ درصد روغن بود، برای بررسی اثرات ضد میکروبی استفاده کردند. بررسی های بیشتر وجود دو ترکیب کورلون و تورمرون را به همراه ترکیبات اکسیژن دار دیگر، در این اجزاء مشخص کرد. نتایج بررسی های ما نیز نشان داد که بیشترین فعالیت ضد هلیکوباکتریپیلوری مربوط به عصاره آبی زردچوبه بود که یک افزودنی مهم به مواد غذایی، به ویژه در کشورهای آسیایی جنوب شرقی محسوب می شود و بعد از آن عصاره های دارچین قرار داشتند (۹). با توجه به یافته های این تحقیق، مطالعه

اثر افزودنی ها در رژیم غذایی بیماران مبتلا به عفونت هلیکوباکتریپیلوری حائز اهمیت است. همچنین ارزیابی دوام بقای هلیکوباکتریپیلوری در مواد غذایی حاوی غلظت های مختلف زردچوبه بسیار مهم می باشد.

تاباک و همکارانش نیز دریافتند که عصاره آبی آویشن و عصاره الکلی دارچین دارای اثر ضد هلیکوباکتریپیلوری می باشد. آن ها همچنین مشخص کردند که اثر ضد هلیکوباکتر پیلوری آویشن بیشتر از دارچین می باشد به دلیل این که عصاره این گیاه از فعالیت اوره آز و همچنین رشد باکتری جلوگیری می کند (۱۰). هیل و همکارانش نیز اثر ضد هلیکوباکتر پیلوری پودر سیر و روغن سیر را طی تحقیقات خود مشخص کردند (۱۱).

بنابراین استفاده از داروهای گیاهی برای درمان بیماری ایجاد شده توسط این باکتری می تواند امید بخش باشد. از آنجایی که هدف از اجرای این پژوهش، یافتن بهترین گونه گیاهی با حداکثر خواص ضد باکتریایی بود که بتواند در تهیه و تولید داروهای گیاهی مورد استفاده قرار گیرد، زردچوبه بالاترین تأثیر در روند بازدارندگی رشد هلیکوباکتریپیلوری، مناسب تر از دارچین می باشد. این گیاهان جهت بررسی های بیشتر و جداسازی مواد موثر معرفی می شوند تا کلید راهگشایی جهت درمان بیماری های عفونی باشند.

References

1. Vassili L, Peter M. Helicobacter Pylori and nonmalignant diseases, Helicobacter Pylori 2003; 8(Suppl. 1): 36-43.
2. Dominique L, Richard MP. Pathogenesis of Helicobacter Pylori infection, Helicobacter, 2003; 8(Suppl. 1): 21-30.
3. Nourizadeh E, Dorafshan S. Evaluation and comparison of diagnosis and identification Helicobacter Pylori, The 7th. Iranian congress of microbiology, Semnan University of Medical sciences, 1-3 Feb. 2005, p. 45.
4. Malek JM, Ghazvini K. Invitro Susceptibility of Helicobacter Pylori to Licorice extract, The 7th. Iranian congress of microbiology, Semnan University of Medical sciences 1-3 Feb. 2005, p.194.

5. Nourizadeh E. Survey of anti-bacterial effects of Black pepper on Helicobacter Pylori, The 7th. Iranian congress of microbiology, Semnan University of Medical Sciences 1-3 Feb. 2005, p.196.
6. Nourizadeh E. Anti-bacterial effects of ginger and clove on Helicobacter Pylori, Research Journal of Ardabil University of Medical Sciences, 2002; 1(4); 19-26.
7. Nourizadeh E, Ghasemi K, Latifi S. Anti-bacterial effects of Licorice on Helicobacter Pylori, The 3th National congress of Biotechnology, 9-11. September 2003, Mashad, Iran.
8. Taghipoor ZS, Hengameh Z. Comparison of antimicrobial effect of Licorice decoction and choice antibiotics on growth of Helicobacter Pylori, The 7th. Iranian congress of microbiology, Semnan University of Medical Sciences Feb 1-3, 2005; p. 199.
9. Sakariah KK, Negi PS. Antibacterial activity of Turmeric oil: A by-product from cur cumin manufacture. J Agric Food Chem 1999; 47(10): 4297-300.
10. Tabak M, Armon R, Pofasman I, Neeman I. In vitro inhibition of Helicobacter Pylori by extracts of thyme. J Appl Bacterial 1996; 80(6): 667-72.
11. Hill DJ, Ogara EA, Maslin DJ. Activites of garlic oil, garlic powder, and their diallyl constituents against Helicobacter Pylori, Appl Environ Microbiol, 2000; 66(5): 2269-73.

Comparison of the Effect of Water and Ethanol Extracts of Tumeric and Cinnamon on the In-vitro Growth of Helicobacter Pylori

Shafaghi Asl S.K., MSc

Biotechnologist and Faculty member at the University of Mohaghegh Ardebili

Nourizadeh E., MSc

Microbiologist and faculty member at the University of Mohaghegh Ardebili

Ghasemi Garmi K., MD

Clinical Microbiologist and Faculty member at the University of Mohaghegh Ardebili

Maloofi N.,

BSc. in Food Sciences, University of Mohaghegh Ardebili

Received: 07/08/2005- **Revised:** 23/10/2005- **Accepted:** 30/10/2005

Correspondence

Seyyed Karim Shafaghi Asl,
P.O.Box 179, Faculty of
Technology, University of
Mohaghegh Ardebili, Ardebil, Iran
E-mail: shafaghiasl@yahoo.com

Abstract

Background and purpose: Today it is obvious that helicobacter pylorus is the most common cause of gastritis the world over. However, this organism plays an important part in the development of gastric ulcer and duodenum ulcer in particular. It is the cause of one of the most common infections in the world which involves at least half of the population in most communities. This study is therefore intended to study the antimicrobial effects of water and ethanol extracts of tumeric and cinnamon on five strains of helicobacter pylori.

Methods and Materials: Plants selected to act against five strains of Helicobacter pylori were tumeric and cinnamon, the ethanol and water extracts of which were isolated using the agar diffusion method and examined at Shariatee hospital in Tehran, Iran with gastric and duodenal ulcers, gastritis and gastric cancer. The specimens were transferred to the laboratory on transports.

Results: Among the ethanol and water extracts of the plants, tumeric juices had the highest antibacterial effects; the mean inhibitory growth zone diameter for water and ethanol extracts were 22 and 18mm respectively; while, the same figure for cinnamon were 18 and 12mm respectively.

Conclusion: Cinnamon and tumeric are of antibacterial effects and the antibacterial effect of water extracts of tumeric on helicobacter pylori is remarkable. Therefore, further research is recommended to be conducted on the isolated materials of these herbs. (*Journal of Sabzevar School of Medical Sciences, Volume 12, Number 3, pp. 17-21*).

Key Words: Cinnamon; Tumeric; Antibacterial; Helicobacter Pylori.