

اثر بخشی عصاره هیدرو الکی گیاه برهان بر باسیل های گرم منفی روده ای و باسیل های گرم مثبت هوازی

دکتر سید مجتبی موسویان^{1*}، دکتر امیر سیاهپوش²، عفت عباسی³، دکتر حیدر داریایی⁴

- 1- دانشیار، دکترای میکروبی شناسی، گروه میکروبی شناسی، مرکز تحقیقات بیماری های عفونی و گرمسیری، دانشگاه جندی شاپور، اهواز، ایران
- 2- استادیار، دکترای داروسازی، دانشکده داروسازی، دانشگاه جندی شاپور، اهواز، ایران
- 3- دانشجوی دکترای میکروبی شناسی و باکتری شناسی، دانشگاه جندی شاپور، اهواز، ایران
- 4- دکترای داروسازی، اهواز، ایران

تاریخ دریافت 88/6/28، تاریخ پذیرش 88/8/13

چکیده

زمینه و هدف: گیاه برهان در درمان اسهال ساده و اسهال خونی مورد استفاده قرار می گیرد. در این تحقیق اثر بخشی عصاره هیدروالکی این گیاه بر باسیل های گرم منفی روده ای و باسیل های گرم مثبت هوازی تعیین گردید.

مواد و روش ها: در این تحقیق تجربی - آزمایشگاهی میوه، گل و برگ گیاه برهان با روش خیسندن در حلال الکل مورد عصاره گیری تام قرار گرفتند. سپس با حلال اتیل استات، ترکیبات پلی فنلی آن جدا گردید. پس از تغلیظ عصاره های مختلف با روش های دیسک دیفیوژن و نیز رقت در لوله، حداقل غلظت مهار کنندگی ماده ضد میکروبی و حداقل غلظت کشندگی ماده ضد میکروبی آنها بر باکتری های اشریشیاکلی، شیگلا دیسانتریه، پروتئوس میرابیلیس، سالمونلا تیفی و باسیلوس های آنتراسیس و سرئوس مورد سنجش قرار گرفتند. سپس تاثیر هر کدام از عصاره ها با هم و نیز با چند آنتی بیوتیک مختلف، با روش آنالیز واریانس مقایسه گردیدند.

یافته ها: عصاره های مختلف گیاه مذکور فقط بر شیگلا دیسانتریه، باسیلوس آنتراسیس و سرئوس نتایج مؤثر و نزدیک به هم داشته اند. با این حال تاثیر عصاره تام میوه بهتر از عصاره گل، برگ و فلاونوئیدی میوه بود. نتایج حداقل غلظت مهار کنندگی ماده ضد میکروبی و حداقل غلظت کشندگی ماده ضد میکروبی بر روی سه باکتری نامبرده، به ترتیب 0/125 و 0/25 گرم در میلی لیتر بود در حالی که اثرات ترکیبات پلی فنلی میوه این گیاه با عصاره هیدروالکی آن شبیه بود.

نتیجه گیری: با شناسایی ترکیبات مختلف گیاه برهان و با دستیابی به فرمولاسیون جدیدی از این ترکیبات، امکان استفاده از آن برای درمان بیماری های التهابی، آسم و افزایش سطح ایمنی بیماران فراهم خواهد شد.

واژگان کلیدی: گیاه برهان، باسیلوس ها، فلاونوئید ها، عصاره هیدروالکی، شیگلا

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

Email: moosavian_m@yahoo.com

مقدمه

نیز برای درمان آسم استفاده می گردد (4، 5، 9). بعضی از ترکیبات این گیاه دارای اثرات ضد باروری، ضد هورمونی و ضد توموری می باشند که در پزشکی اهمیت ویژه ای دارند (9).

همچنین عصاره پوست گیاه برهان دارای اثرات ضد میکروبی بر میکروارگانیسم های هوازی می باشد. مکانیسم اثر آن به علت نشت ماده سیتوپلاسمی از پیکر میکروپها به بیرون می باشد (9، 10). بعضی از بررسی ها نیز نشان داده اند که ترکیبات فلاونوئیدی موجود در این گیاه دارای اثرات ضد باکتریال بر تعداد زیادی از باکتری های پاتوژن بوده است (7، 9).

هدف این بررسی نیز تعیین اثر عصاره هیدروالکلی اجزاء هوایی این گیاه بر چند باسیل گرم منفی خانواده انتروباکتریاسه و نیز بعضی باسیل های گرم مثبت بود. انتخاب این باکتری ها نیز به خاطر نقش ویژه ای است که در ایجاد اسهال و یا اختلالات معدی-روده ای کودکان یا بزرگسالان ایفا می نمایند.

مواد و روش ها

در این تحقیق تجربی - آزمایشگاهی باکتری های باسیلوس سرئوس (*Bacillus cereus*-PTCC1247)، سالمونلا تیفی (*Salmonella typhi* - PTCC1639)، شیکلا دیسانتری (*Shigella dysenteriae*-PTCC1188) و اشریشیا کلی (*Escherchia coli*-PTCC1399) از مرکز کلکسیون میکروبی در سازمان پژوهش های علمی-صنعتی ایران تهیه گردید ولی دو باکتری باسیلوس آنتراسیس (*Bacillus anthracis*) و پروتئوس میرابیلیس (*Proteus mirabilis*) از نمونه های بالینی جدا شدند. در نهایت با انجام تست های تشخیصی استاندارد نظیر: SIM (Triple Suger Iron Agar)، TSI (Lysine Iron)، (Sulfide indole motility)، AgarLIA، مالونیت و اوره باسیل های گرم منفی و با انجام تست های حساسیت به پنی سیلین، حرکت، همولیز در محیط بلادآگار و شکل کلنی ها، باسیل های گرم مثبت مجدداً مورد آزمایش قرار گرفتند (11).

طی سالیان متمادی داروهای طبیعی، خصوصاً گیاهان دارویی اساس و حتی در برخی موارد تنها طریق درمان محسوب می شدند. در عین حال مواد اولیه موجود در این گیاهان در صنعت داروسازی و یا به عنوان گیاهانی با خاصیت ضد عفونی کننده مورد استفاده قرار می گرفتند (1، 2).

گیاه برهان با نام علمی *Albizia lebbbeck* درختی است زیبا، زینتی، بدون خار و به ارتفاع 20-5 متر که ساقه و شاخه هایی با پوست سبز روشن دارد. شاخه های گسترده آن وضع چتر مانند به درخت می دهد. گل های سفید، صورتی و یا سرخ رنگ آن به تعداد فراوان بر روی شاخه ها ظاهر می شود. میوه ای نیم باریک و نازک، مسطح و محتوی دانه های بیضی دراز به رنگ قهوه ای روشن دارد. در مناطق نیمه گرم آسیا و آفریقا می روید و پرورش می یابد. این گیاه غالباً در نواحی جنوب ایران مانند بوشهر، بلوچستان، آبادان، خرمشهر، اهواز و بندر عباس رویش دارد (3).

ترکیبات شیمیایی برهان شامل صمغ (Gum)، چند ساپونین (Saponin) و تانن (Tannin) می باشند. مخلوطی از چند ساپونین که از دانه های گیاه گرفته می شود دارای اسید اولئانویک (Oleanoic acid)، اسید آلینوسیتیک (Alinocytic) و اسید اکتینوسیتیک (Echinocystic Acid) است. دانه های داخل غلاف دارای اسید آلینی ژنیک (Albigenic Acid) است که ایزومر اسید اکتینوسیتیک می باشد (4). هم چنین ترکیبات فلاونوئیدی (Flavonoid) (5، 6) اسید آمینه غیر پروتئینی آلبی زین (Aibizzine) دارد (7، 8).

از پوست این گیاه برای درمان ناراحتی های پوستی، خارش، رفع التهاب، مداوای باد سرخ (Erysipelase) و رفع ترشح زیاد و غیر طبیعی عرق استفاده می شود. در هند و چین از پوست ساقه ها و دانه های آن برای رفع اسهال خونی، اسهال ساده و معالجه بواسیر استفاده می شود. علاوه بر این از گل های آن به عنوان نرم کننده و باز کننده دمل و جراحات و برای معالجه جوش ها و

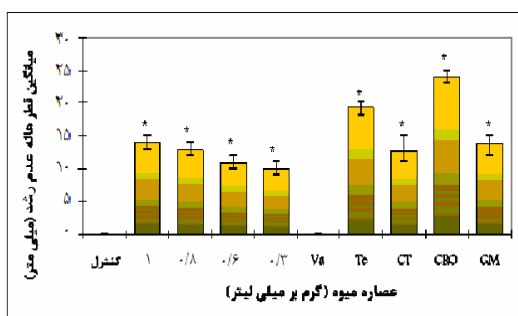
باکتری، پلیت‌ها به مدت 24 ساعت در دمای 37 درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. در پایان دوره انکوباسیون هاله عدم رشد اطراف هر دیسک با خط کش میلی‌متری به دقت اندازه‌گیری شد (14). این کار برای هر رقت و هر باکتری به طور جداگانه، حداقل 5 بار انجام پذیرفت. در این بررسی از دیسک‌های کاغذی استریل فاقد هر گونه ماده ضد میکروبی، به عنوان کنترل استفاده گردید. پس از تعیین دانسیته هر کدام از عصاره‌ها و نیز تعیین وزن میانگین هر دیسک کاغذی، مقدار وزن هر کدام از عصاره‌های میوه، گل، برگ و نیز عصاره فلاونوئیدی میوه به ترتیب 18، 19، 35 و 43 میلی‌گرم به ازای هر دیسک بود.

برای مقایسه عصاره‌های مختلف گیاه برهان، با استفاده از روش‌های آماری توصیفی و آزمون‌های آماری (آنالیز واریانس) و سطح معنی‌دار بودن ($p < 0/05$) غلظت‌های مختلف تعیین گردید، روش دوم رقت لوله‌ای (Tube Dilution Method) بود. با استفاده از روش رقت لوله‌ای، حداقل غلظت مهار کنندگی ماده ضد میکروبی (Minimal Inhibitory Concentration - MIC) و حداقل غلظت کشندگی ماده ضد میکروبی (Minimal Bacteriocidal Concentration - MBC) تعیین می‌گردید. در این روش از محیط کشت آبگوشتی مولر هیتون (شرکت Merck آلمان) استفاده شد. ابتدا از ماده ضد میکروبی رقت‌های سریالی حاوی 1، 0/5، 0/25، 0/125 و 0/0625 گرم در هر میلی‌لیتر محیط را تهیه نموده و سپس به هر کدام از این لوله‌ها، 10 میکرو لیتر سوسپانسیون میکروبی معادل 0/5 مک فارلند (11) افزوده شد. این لوله در دمای 37 درجه سانتی‌گراد به مدت 18 ساعت انکوبه شدند. آخرین لوله‌ای که فاقد کدورت بود به عنوان MIC در نظر گرفته شد (15)، ولی برای سنجش MBC، کشت مجددی از لوله‌های MIC و یک رقت پایین‌تر و بالاتر از آن بر روی محیط جامد مولر هیتون آگار صورت گرفت. بعد از 24-18 ساعت انکوبه کردن پلیت‌ها در 37 درجه سانتی‌گراد، آخرین لوله‌ای که هیچ‌گونه رشدی از باکتری بر روی پلیت مربوطه نداشت، به عنوان MBC در نظر گرفته شد (15).

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

با حل کردن مقدار یک گرم از هر عصاره (میوه، برگ، گل و فلاونوئید) در یک میلی‌لیتر اتانول، ابتدا غلظت 100 درصد و سپس با حل کردن مقادیر مختلف، غلظت‌های 1، 30، 60 و 80 درصد آن عصاره به صورت وزنی - حجمی تهیه گردید.

در این تحقیق از دو روش استفاده شد. روش اول انتشار از طریق دیسک کاغذی (Disk diffusion method) بود. در این روش طبق روش متداول کربی - بوئر (Kirby - Bauer)، جهت تعیین حساسیت میکروارگانسیم‌ها نسبت به مواد ضد میکروبی عمل گردید. ابتدا سوسپانسیون میکروبی معادل 0/5 مک فارلند بر اساس روش استاندارد تهیه شد (11). سپس با استفاده از یک سوآب استریل اشباع شده از سوسپانسیون میکروبی، کشت سفده‌ای فشرده‌ای در تمام سطح پلیت مولر هیتون آگار (شرکت Merck آلمان) ایجاد گردید. با قرار دادن دیسک‌های (شرکت پادتن طب) اشباع شده از ماده ضد میکروبی و نیز بعضی از دیسک‌های آنتی بیوتیکی نظیر وانکومايسين، تتراسیکلین، سفنی زوکسیم، سفتریاکسون و جنتامایسین، به منظور مقایسه با عصاره ضد میکروبی مورد آزمایش بر سطح محیط کشت

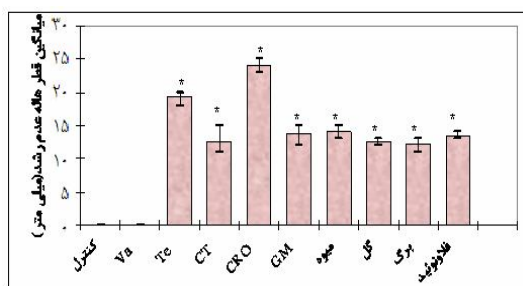


نمودار 1. میانگین قطر هاله‌های ایجاد شده علیه باکتری شیگلادیسانتیره توسط عصاره تام میوه گیاه برهان، در مقایسه با آنتی بیوتیک‌های مختلف (میانگین 5 بار آزمایش) به روش دیسک دیفیوژن. *اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل (دیسک کاغذی استریل فاقد هر ماده ضد میکروبی).

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

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

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



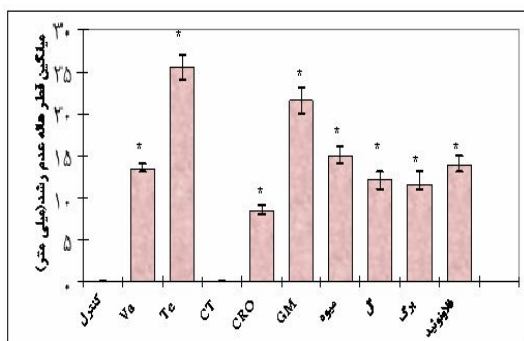
نمودار 2. میانگین قطر هاله‌های ایجاد شده علیه باکتری شیگلادیسانتیره توسط عصاره 100 درصد میوه، گل، برگ و فلاونوئیدی میوه گیاه برهان در مقایسه با آنتی بیوتیک‌های مختلف (میانگین 5 بار آزمایش) به روش دیسک دیفیوژن نشان داده شده است.

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

تعیین MIC با روش E-test برای شناسایی MIC عصاره فلاونوئیدی استفاده گردید. ابتدا یک سوسپانسیون میکروبی مطابق با 0/5 مک فارلند تهیه نموده و بر روی سطح محیط مولر هینتون آگار به طور یکنواخت پخش گردید. ماده ضد میکروبی را در غلظت‌های سریالی (مانند قبل) تهیه کرده و در شرایط آسپتیک به دیسک‌های کاغذی استریل (شرکت پادتن طب) منتقل شدند. سپس دیسک‌ها به ترتیب غلظت از بالا به پایین، به صورت خطی و پشت سرهم بر روی محیط جامد قرار گرفتند. بعد از انکوباسیون پلته‌ها در دمای 37 درجه سانتی‌گراد، به مدت 16-18 ساعت، هاله بیضوی شکل ممانعت از رشد باکتری در اطراف نوار دیسک‌ها ایجاد گردید. محل قطع هاله ممانعت از رشد با دیسک‌ها، به عنوان MIC در نظر گرفته شد (16).

یافته‌ها

نتایج به دست آمده از آزمون مقایسه میانگین قطر هاله عدم رشد غلظت‌های مختلف عصاره میوه گیاه برهان بر باکتری شیگلادیسانتیره نشان دهنده آن است که تفاوت معنی‌داری بین میانگین 4 غلظت عصاره میوه وجود دارد ($p < 0/05$)، ولی چنانچه میانگین‌ها به صورت دوتایی با یکدیگر مقایسه شوند، میان دو غلظت 80 و 100 درصد (به ترتیب حاوی 1 و 0/8 گرم در میلی لیتر) و هم‌چنین بین دو غلظت 30 و 60 درصد (به ترتیب حاوی 0/6 و 0/3 گرم در میلی لیتر) از عصاره میوه تفاوت معنی‌داری از نظر آماری وجود ندارد ($p > 0/05$). به بیان دیگر دو غلظت گروه اول (80 و 100) و هم‌چنین دو غلظت گروه دوم (30 و 60)، از نظر اندازه قطر هاله عدم رشد مانند هم عمل می‌کنند. اما میان هر کدام از غلظت‌های گروه اول با هر کدام از غلظت‌های گروه دوم تفاوت معنی‌داری وجود دارد (نمودار 1).



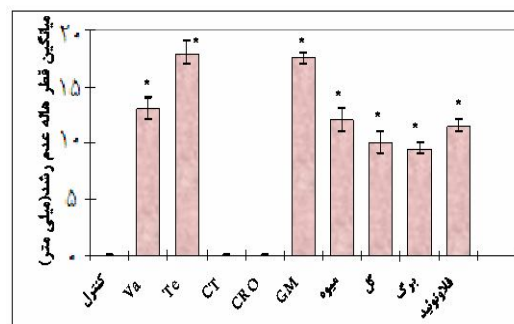
نمودار 4. میانگین قطر هاله‌های ایجاد شده علیه باکتری باسیلوس آنتراسیس توسط عصاره 100 درصد میوه، گل، برگ و فلاونوئیدی میوه گیاه برهان در مقایسه با آنتی بیوتیک‌های مختلف (میانگین 5 بار آزمایش) به روش دیسک دیفیوژن نشان داده شده است. *اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل (دیسک کاغذی استریل فاقد هر ماده ضد میکروبی).

بنابراین در این تحقیق، نتایج حاصل از میانگین 5 بار تکرار عصاره‌های میوه، گل و برگ گیاه برهان با غلظت یک گرم در میلی‌لیتر، بر روی قطر هاله عدم رشد باسیلوس آنتراسیس، سرئوس و شیگلا دیسانتریه یکسان و یا نزدیک به هم بوده است. هم‌چنین MIC محاسبه شده برای هر کدام از این عصاره‌ها، برابر با 0/125 گرم در میلی‌لیتر (لوله حاوی 0/25 درصد) و MBC آنها برابر با رقت قبلی یعنی 0/25 گرم در میلی‌لیتر (لوله حاوی 25 درصد) حاصل گردید. برای عصاره فلاونوئیدی میوه نیز نتایج MIC که از روش E.test به دست آمد برای هر 3 باکتری شیگلا دیسانتریه، باسیلوس آنتراسیس و سرئوس همان 0/125 گرم در میلی‌لیتر بود.

بحث

وجود خواص ضد عفونی‌کنندگی علاوه بر اثرات درمانی از عوامل توجه طب سنتی به گیاهان دارویی در سال‌های اخیر بوده است (2). گیاه برهان از گیاهانی است که در طب سنتی به دلیل خواص درمانی و اثرات ضد میکروبی فراوان مورد توجه زیاد قرار گرفته است. رویش فراوان این گیاه در مناطق جنوبی و شرقی ایران، بویژه در مناطق آب و هوایی گرم ایران (نظیر بندرعباس و خوزستان) و استفاده از اجزاء مختلف آن برای درمان‌های پوستی -

نتایج این بررسی هم‌چنین نشان داد که اثر غلظت‌های 100 درصد (یک گرم در میلی‌لیتر) میوه بر میانگین قطر هاله عدم رشد باسیلوس سرئوس نسبت به گل و برگ تفاوت معنی‌داری داشته ($p < 0/05$) و در واقع هاله عدم رشد بزرگ‌تری ایجاد می‌کند، اما تفاوت معنی‌داری با عصاره 100 درصد فلاونوئید و هم‌چنین آنتی بیوتیک وانکومايسين نشان نمی‌دهد ($p > 0/05$). با این حال عصاره 100 درصد میوه در مقایسه با دو آنتی بیوتیک تتراسایکلین و جنتامایسین ضعیف‌تر عمل کرده و تفاوت معنی‌داری نیز نشان می‌دهد (نمودار 3).



نمودار 3. میانگین قطر هاله‌های ایجاد شده علیه باکتری باسیلوس سرئوس توسط عصاره یک گرم در میلی‌لیتر (100 درصد) میوه، گل، برگ و فلاونوئیدی میوه گیاه برهان در مقایسه با آنتی بیوتیک‌های مختلف (میانگین 5 بار آزمایش) به روش دیسک دیفیوژن نشان داده شده است. *اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل (دیسک کاغذی استریل فاقد هر ماده ضد میکروبی).

این نتایج در مورد باسیلوس آنتراسیس نشان داد که میانگین غلظت یک گرم در میلی‌لیتر عصاره میوه در مقایسه با میانگین‌های عصاره یک گرم در میلی‌لیتر فلاونوئیدی و هم‌چنین آنتی بیوتیک وانکومايسين تفاوت معنی‌داری نداشته است ($p > 0/05$). اما در مقایسه با میانگین دو غلظت عصاره یک گرم در میلی‌لیتر برگ و گل و هم‌چنین آنتی بیوتیک سفتریاکسون تفاوت معنی‌داری نشان داده ($p < 0/05$) و بهتر از آنها عمل می‌کند. مقایسه همین عصاره با دو آنتی بیوتیک تتراسایکلین و جنتامایسین حاکی از تفاوت معنی‌دار بوده و هاله عدم رشد کوچک‌تری ایجاد نمود (نمودار 4).

سرئوس اثر داشته و هاله‌های عدم رشدی با قطرهای به ترتیب 10 و 15 میلی‌متر در مقابل آنها ایجاد می‌نماید. با این حال تاثیر این ترکیبات در مقایسه با آنتی بیوتیک کانامایسین کمتر بوده است.

نتایج حاصل از تحقیق ما نیز در مواردی با نتایج آنها هم‌خوانی داشته است و علاوه بر آن، نتایج تحقیق حاضر نشان داد اثر ضد میکروبی گیاه برهان فقط مربوط به ترکیبات فلاونوئیدی آن نمی‌باشد. کومار و همکاران نیز نشان دادند که ترکیبات فعال جداشده از پوست گیاه برهان دارای فعالیت ضد میکروبی بوده و موجب تراوش مواد سیتوپلاسمی موجود در پیکر میکروارگانیسم می‌گردد (9). بعضی از محققین هندی نیز نشان دادند که این تاثیر ضد میکروبی مربوط به آنتراکینون گلیکوزیدها است (10).

نکته دیگر اینکه در بررسی حاضر، MIC برای عصاره‌های اجزاء مختلف گیاه برهان یکسان بود. به طوری که MIC حاصل برای عصاره‌های هیدروالکلی میوه، برگ و گل و نیز عصاره فلاونوئیدی میوه این گیاه مشابه و برابر با 0/125 گرم در میلی‌لیتر بوده است. در این حالت قطر هاله عدم رشد بر روی محیط مولر هینتون آگار برای باکتری‌های شیکلادیسانتیره و باسیلوس آنتراسیس، در مقابل دیسک‌های اشباع شده از عصاره فلاونوئیدی میوه گیاه، برابر 9 میلی‌متر و برای باسیلوس سرئوس، 8 میلی‌متر به دست آمد. این نتایج نشان داد که هاله‌های بزرگ‌تر، که در مقابل غلظت بالاتر (یعنی 0/25 گرم در میلی‌لیتر) حاصل گردیدند، مربوط به MBC بوده و به عنوان هاله‌های حساس در نظر گرفته شدند.

نتیجه گیری

با توجه به اهمیت گیاه برهان در طب سنتی و موارد استعمال فراوان آن و نقشی که احتمالاً در حفاظت از سلول‌های کبدی دارند (9)، هم‌چنین با در نظر گرفتن نتایج حاصل از این تحقیق، می‌توان از طریق آنالیز ترکیبات ضد باکتری موجود در گیاه و یافتن ماده خالص و موثر آن و نیز بررسی اثرات فارماکولوژیکی ماده خالص شده در شرایط آزمایشگاهی (In vitro) و داخل بدن (In vivo)، مقدمات

جلدی، به خصوص در درمان بیماری‌های التهابی و اسهال‌های ساده و خونی (4، 5، 9) از عوامل موثر برای انتخاب گیاه برهان در این بررسی بوده است.

نتایج بررسی عصاره هیدروالکلی میوه، گل و برگ این گیاه بر روی باسیل‌های گرم منفی و مثبت حاکی از عدم تأثیر آنها بر سه باکتری اش‌ریشیاکلی، پروتئوس میرابیلیس و سالمونلاتیفی بوده، در حالی که بر سه باکتری دیگر مورد آزمایش، یعنی شیکلادیسانتیره، باسیلوس آنتراسیس و باسیلوس سرئوس نتایج موثر و نزدیک به هم داشته است.

میانگین قطر هاله‌های به دست آمده از روش دیسک دیفیوژن نشان داد که بیشترین اثر مربوط به عصاره اتانولی تام میوه گیاه مذکور بر باسیلوس آنتراسیس و پس از آن بر شیکلادیسانتیره بوده است. در این بررسی، کمترین اثر حاصل، مربوط به اثر عصاره برگ بر باسیلوس سرئوس بود. در واقع باسیلوس سرئوس مقاومت بیشتری نسبت به دو باکتری حساس نام برده در مقابل تمامی عصاره‌ها نشان داد.

نتایج این بررسی هم‌چنین نشان داد که عصاره فلاونوئیدی میوه نیز بر سه باکتری شیکلادیسانتیره، باسیلوس سرئوس و آنتراسیس با غلظت‌های مختلف موثر بوده، اما بر میانگین قطر هاله عدم رشد آنها به طور متفاوتی عمل می‌کند. در این میان عصاره فلاونوئیدی میوه با غلظت یک گرم در میلی‌لیتر (100 درصد) باعث ایجاد هاله عدم رشد بسیار نزدیک یا مشابه با عصاره هیدروالکلی می‌شود.

مطالعات انجام شده توسط محققین بنگلادشی در دانشگاه داکا (Dhaka) نشان داد که ترکیبات فلاونوئیدی موجود در میوه گیاه برهان، نظیر 7-دی متوکسی - فلاون (7-dimethoxy-flavon) و 3 و 5 دی هیدروکسی - 4 (3'-5-dihydroxy-4) خاصیت ضد میکروبی داشته و آنها این اثر را بر روی 19 باکتری مختلف، از طریق دیسک دیفیوژن (با مقادیر 200 میکروگرم در هر دیسک) مورد سنجش قرار دادند (7). آنها نشان دادند که اگرچه ترکیبات فلاونوئیدی میوه گیاه برهان بر سالمونلاتیفی و شیکلادیسانتیره بی‌تأثیر است، ولی بر اش‌ریشیاکلی و باسیلوس

Mohammad A Rashid. Constituents of Albizzia lebeck and antibacterial activity of on isolated flavone derivative. Saudi Pharm J 2003; 11: 52 – 5.

8. Van Eys JE, Mathius IW, Pongsapan P, Johnson WL. Foliage of the tree legumes gliricidia, leucaena, and sesbania as supplement to napier grass diets for growing goats. J Agricul Sci (Cambridge) 1986; 107:227–233

9. Kumar A, Saluja AK, Shah UD, Mayavanshi AV. Pharmacological potential of Albizzia lebeck: A Review. Pharmacognosy Reviews 2007; 1(1):171-4.

10. Chintawar SD, Somani RS, Kasturc SB. Nootropic activity of Albizzia lebeck in mice. J Ethnopharmacol 2002; 81(3): 299-305.

11. Baron EJ, Finegold SM. Bailey & Scott's diagnostic microbiology. 8th ed. St louis: Mosby; 1990.

12. Markham KR. Technique of flavonoid identification. London: Academic Press; 1982.

13. Ghasemi N, Moattar F. Pharmacognosy laboratory procedures. Isfahan: Pharmacy School, Isfahan University of Medical Sciences; 1992.

14. Block JH, Beale JM. Wilson and Gisvold's textbook of organic medicinal and pharmaceutical chemistry. 11th ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins; 2004.

15. Rahman M, Kuhn I, Rahman M, Olsson-Liljequist B, Mollby R. Evaluation of a scanner-assisted Colorimetric MIC method susceptibility testing of gram-negative fermentative bacterial. Appl Environ Microbial 2004; 70(4): 2398-403.

16. Coplu N, Aktepe OC, Uluutku S, Guvener E, Nilay C, Orhan CA, et al. In vitro MIC determination of hemophilus influenzae strain using E-Test. Ankara. Turk J Med Sci 2001; 31: 205-8.

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

تشکر و قدردانی

از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه، مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی و گرمسیری و دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز که با تصویب و تأمین هزینه‌های طرح و امکانات لازم ما را در انجام این پروژه تحقیقاتی یاری رسانیده‌اند، سپاسگزاری می‌نمایم.

منابع

1. Volak J, Stodola J. Pharmaceutical plants, culturing and taking methods and explanation of 256 plant color slides. Translated by: Saed Z. 2nd ed. Tehran: Ghoghnu Pub; 1995.
2. Amin Gh. Traditional pharmaceutical plants of Iran. Vol 1. Tehran: Farhang Edition; 1991.
3. Hans F . Medicinal plants. Translated by: Tavakoli Saberi MR, Sedaghat MR. 5th ed. Tehran: Roozbahan Publication; 2000.
4. Zargari A. Pharmaceutical Plants. Vol 2. Tehran: Tehran University Publication; 1988.
5. Mirheidar H. Plants information. Application in prevention and treatment of diseases. Vol 4 Tehran: Islamic Cultural Publication; 1994.
6. Nair AGR, Krishnakumary P. Flavonoids of Dendrophthone falcata Ettingsh growing on different host plants. Indian J Chem 1989; 29 B (6): 584 – 5.
7. Rizwana BR, Rasheduzzaman C, Abduljabbar CM, Choudhury M, Hasan and

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

Moosavian M^{1*}, Siahpoosh A², Abbasi E³, Darabi Far H⁴

1- Associate Professor, PhD in Microbiology, Microbiology Department, Infectious & Tropical Diseases Research Center, Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran

2- Assistant Professor, PhD of pharmacology, School of Pharmacy, Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran

3- PhD student Medical Microbiology, School of Medicine, Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran

4- Pharm D. School of Pharmacy, Ahvaz Jundishapur University, School of Medical Sciences, Ahvaz, Iran

Received 19 Sep, 2009 Accepted 4 Nov, 2009

Abstract

Background: *Albizia lebbek* is used for the treatment of diarrhea and dysentery. In this study the efficacy of hydro-ethanolic extract of this plant on enteric gram-negative and aerobic gram-positive bacillis was determined.

Materials and Methods: In this experimental-clinical trial, cold maceration method by ethanol was used for extraction of *Albizia lebbek* fruit, seed, flower and leaves. Then its polyphenolic components were separated by ethyl acetate. After concentrating the different extracts through disk diffusion and tube dilution, the effect of minimal inhibitory concentration (MIC) and minimal bacteriocidal concentration (MBC) of their antibacterial component on *shigella dysenteriae*, *proteus mirabilis*, *escherchia coli*, *bacillus cereus* and *bacillus anthracis* were evaluated. Also, the antibacterial effects of *Albizia lebbek* extracts together and in combination with some antibiotics, were compared through variance analysis.

Results: Different extracts of *Albizia lebbek* just had similar and positive effects on *shigella dysenteriae*, *bacillus cereus*, and *bacillus anthracis*. However, the hydro-ethanolic fruit extract was more effective than the falavnoid fruit, flower and leave extracts. MIC and MBC results for antibacterial material on the three aforementioned bacterias were 0.125 and 0.25 gram/ml, respectively while the effects of the polyphenolic components of this plant's fruit were similar to its hydro-ethanolic extracts.

Conclusion: Through the identification of different components of *Albizia lebbek* and the attainment of new formulations of these components, the grounds will be provided for its application on treatment of patients with inflammatory diseases and asthma, and on improvement of their immune system.

Keywords: *Albizia lebbek*, bacillus, flavonoid, hydro-ethanolic extraction, *shigella*

*Corresponding Author:

Email: moosavian_m@yahoo.com

Address: Dept. of Microbiology, School of Medicine, Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.