Original Article

Antibacterial Activity of Rumex cyprius Seeds Against Escherichia coli and Staphylococcus aureus

Farinaz Pouremadi[1], Maryam Mohammadi Sichani[1], Majid Tavakoli[2]*

[1]*Department of Microbiology, Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran.*

[2]*Agricultural & Natural Resources Research Center of Lorestan, Khorramabad, Iran.*

[*]***Corresponding Author:*** **Maryam Mohammadi Sichani,** Department of Microbiology, Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran.

Email: mohamadi_m@iaufala.ac.ir

Received:16 Feb, 2016

Accepted: 30 Apr, 2016

Abstract

Background and Objectives**:** The infections caused by *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* resistant strains often originate from hospitals, and their prevalence is increasing worldwide. Therefore, many efforts are being made to find new active plant compounds as alternatives to antibiotics. In this research, the antibacterial effect of methanol and ethanol extracts of *Rumex cyprius* seeds against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* strains.

Methods**:** In this experimental study, methanol and ethanol extracts of *Rumex cyprius* seed, were prepared using Soxhlet apparatus. Antibacterial activity of the extracts were evaluated by well diffusion method, and minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC), were determined using microdilution method. Active compounds of the seed, were identified by gas chromatography-mass spectrometry. The data were analyzed using ANOVA and Tukey tests. The level of significance was considered $p<0.05$.

Results**:** In this study, ethanol and methanol extracts of *Rumex cyprius* seed prevented the growth of *S. aureus* and *E. coli*. Inhibition zone diameter of the ethanol extract in concentration of 500mg/ml against *E. coli* and *S. aureus*, was 16.5 and 19mm, respectively. Inhibition zone diameter of the methanol extract in concentration of 500mg/ml against *E. coli* and *S. aureus* was 14 and 16.5mm. MIC and MBC values of ethanol and methanol extracts against *E. coli* and *S. aureus*, were obtained 62.5 and 125mg/ml, respectively. In this study, The highest compound obtained from the seeds was 1,2-Benzenedicarboxylic Acid (24.25%).

Conclusion**:** Ethanol and methanol extracts of *Rumex cyprius* seeds had inhibitory effect against *S. aureus* and *E. coli*. The effect of these extracts on *S. aureus is more* than *E. coli.*

Keywords**:** Plant extracts; Antibacterial activity; *Rumex cyprius*; *Staphylococcus aureus; Escherichia coli.*

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 5:00 IRST on Wednesday February 21st 2018

مجله دانشگاه علوم پزشکی قم
دوره یازدهم، شماره دوم، اردیبهشت ۹۶
صفحه ۵۶ الی ۶۵

مقاله پژوهشی
(Original Article)

فعالیت ضدباکتریایی بذر گیاه *رومکس کیپریوس* بر *اشرشیاکلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس*

فریناز پورعمادی[۱]، مریم محمدی سیچانی[۱*]، مجید توکلی[۲]

چکیده

زمینه و هدف: عفونت‌های سویه‌های *اشرشیاکلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم، در بیشتر موارد منشأ بیمارستانی دارند و شیوع آنها در سراسر جهان در حال افزایش است. از این‌رو تلاش‌های بسیاری جهت یافتن ترکیبات فعال گیاهی جدید برای جایگزینی آنتی‌بیوتیک‌ها انجام می‌شود. در این تحقیق اثر ضدباکتریایی عصاره اتانولی و متانولی بذر *رومکس کیپریوس* بر *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشرشیاکلی* بررسی گردید.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، عصاره متانولی و اتانولی بذر *رومکس کیپریوس* با دستگاه سوکسله تهیه شد. فعالیت ضدمیکروبی عصاره‌ها به روش انتشار چاهک و حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی به شیوه میکرودایلوشن تعیین شد. ترکیبات فعال بذر با گاز کروماتوگرافی - طیف‌سنجی جرمی شناسایی شدند. داده‌ها با استفاده از آزمون‌های واریانس و توکی تجزیه و تحلیل شدند. سطح معنی‌داری، $p<۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: در این مطالعه، عصاره‌های اتانولی و متانولی بذر *رومکس کیپریوس*، مانع رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشرشیاکلی* شد. قطر هاله عدم رشد عصاره اتانولی در غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر بر روی *اشرشیاکلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* به‌ترتیب ۱۶/۵ و ۱۹ میلی‌متر بود. قطر هاله عدم رشد عصاره متانولی در غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر بر روی *اشرشیاکلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* به ترتیب ۱۴ و ۱۶/۵ میلی‌متر بود. مقادیر MIC و MBC عصاره اتانولی و متانولی علیه *اشرشیاکلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* نیز به ترتیب ۶۲/۵ و ۱۲۵ میلی‌گرم برمیلی‌متر به دست آمد. در این تحقیق ۱، ۲ بنزن دی کربوکسیل اسید دی ایزواستیل استر با ۲۴/۲۵٪، بیشترین ترکیب جداشده از بذر بود.

نتیجه‌گیری: عصاره اتانولی و متانولی بذر *Rumex cyprius* بر *اشرشیاکلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس*، اثر مهارکنندگی دارد و تأثیر این عصاره‌ها بر *استافیلوکوکوس اورئوس* بیشتر از *اشرشیاکلی* می‌باشد.

کلید واژه‌ها: عصاره‌های گیاهی؛ فعالیت ضدباکتریایی؛ *رومکس کیپریوس*؛ *استافیلوکوکوس اورئوس*؛ *اشرشیاکلی*.

[۱]گروه میکروب‌شناسی، واحد فلاورجان، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران.

[۲]مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی لرستان، لرستان، ایران.

[*]نویسنده مسئول مکاتبات:
مریم محمدی سیچانی، گروه میکروب‌شناسی، واحد فلاورجان، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران؛

آدرس پست الکترونیکی:
mohamadi_m@iaufala.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۴/۱۱/۲۸

تاریخ پذیرش: ۹۵/۲/۱۱

لطفاً به این مقاله به‌صورت زیر استناد نمایید:

Pouremadi F, Mohammadi Sichani M, Tavakoli M. Antibacterial activity of *Rumex cyprius* Seeds against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. Qom Univ Med Sci J 2017;11(2):56-65. [Full Text in Persian]

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 5:00 IRST on Wednesday February 21st 2018

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 5:00 IRST on Wednesday February 21st 2018

مقدمه

مواد فعال موجود در گیاهان باعث مهار رشد میکروارگانیسم‌ها می‌شود و به‌همین علت عصاره‌های گیاهی به‌عنوان عوامل ضدمیکروبی، کاربردهای زیادی دارند (۱). امروزه، به دلیل دسترسی آسان، قیمت نسبتاً ارزان و بروز بیماری‌های عفونی مختلف، مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها چنان فراوان و وسیع انجام می‌گیرد که منجر به شکل‌گیری جمعیت‌های باکتریایی مقاوم و متعاقب آن مشکلات درمانی، بروز عوارض جانبی بر میزبان و ضرر و زیان اقتصادی شده است. همچنین ارگانیسم‌های حساس می‌توانند حتی در طول درمان نیز مقاوم شوند که این امر به‌وسیله القای ساخت آنزیم‌های غیرفعال‌کننده آنتی‌بیوتیکی، موتاسیون در ژن‌های کدکننده پروتئین‌های غشای خارجی و یا از طریق انتقال مقاومت به‌واسطه پلاسمید از سلول مقاوم به سلول حساس صورت می‌گیرد (۲). در حال حاضر، گونه‌های مختلفی از گیاهان به‌صورت عصاره یا اسانس برای درمان عفونت‌های گوارشی باکتریایی مطرح شده‌اند. گیاه *رومکس کیپریوس* با اسم ترشک مواج، از خانواده پلی‌گوناسه می‌باشد. جنس رومکس در ایران بیش از ۲۴ گونه دارد که در نواحی غربی، ارتفاعات البرز، زاگرس و آذربایجان می‌روید. *رومکس کیپریوس* گیاه علفی چندساله، با ساقه ایستاده به ارتفاع ۳۰-۱۵ سانتی‌متر است که به‌وسیله بذر تکثیر می‌شود. برگهای آن به طول ۳۰ سانتی‌متر و در وسط پهن‌تر بوده و حاشیه‌ای موج‌دار یا چین‌دار دارند. این گیاه نواحی مرطوب را ترجیح داده و بیشتر در زمین‌های زراعی، علفزارها، مراتع و حاشیه جاده‌ها به‌صورت گیاهی خودرو می‌روید. زمان گل‌دهی آن از خرداد تا مهرماه است. گلهای *رومکس کیپریوس*، زرد مایل به قرمز است. هر گیاه حدود ۴۰۰۰-۳۰۰۰ بذر تولید می‌کند که برای مدت طولانی در خاک باقی مانده و درصورت مساعدبودن شرایط جوانه می‌زنند (۳). *رومکس کیپریوس* حاوی کربوهیدرات، فیبر، چربی، پروتئین، تیامین، ریبوفلاوین، نیاسین، ویتامین‌های A، B_6 و C، فولات، مواد معدنی (کلسیم، آهن، فسفر، پتاسیم و منگنز، ...)، بتاسیتوسترول، اسید کریزوفانیک، کریزوفانول و امودین است. براساس تحقیقات صورت‌گرفته در سراسر جهان مشخص شده است گونه‌های رومکس دارای اثرات ضدقارچی، ضدباکتریایی و ضدویروسی هستند (۷-۴). تاکنون، هیچ‌گونه مطالعه‌ای در مورد بذر *رومکس کیپریوس* منتشر نشده است. این مطالعه با هدف تعیین تأثیر عصاره‌های اتانلی و متانولی بذر گیاه *Rumex cyprius* بر سویه‌های استاندارد و بالینی *اشرشیاکلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* انجام شد.

روش بررسی

گیاه *رومکس کیپریوس* در اردیبهشت‌ماه سال ۱۳۹۳ از استان لرستان، منطقه اشترانکوه و اطراف دریاچه گهر با عرض جغرافیایی ("۹۸ '۱۸ °۳۳) و طول جغرافیایی ("۱۶ '۱۷ °۴۹) و ارتفاع ۲۳۵۰ متری از سطح دریا جمع‌آوری شد و پس از انتقال به آزمایشگاه، بذر گیاه از سایر قسمت‌های گیاه جدا گردید و در درجه حرارت اتاق و سپس در سایه خشک و آسیاب شد. پودر تهیه‌شده در ظرف تیره در یخچال نگهداری شد. به‌منظور مطالعه خاصیت ضدباکتریایی عصاره‌های اتانولی و متانولی بذر *رومکس کیپریوس*، سویه‌های باکتریایی *اشرشیاکلی* (ATCC:۲۵۹۲۲ ، ATCC:۸۷۳۹) و *استافیلوکوکوس اورئوس* (ATCC:۲۵۹۲۳، ATCC:۶۵۳۸)، به‌صورت لیوفیلیزه از کلکسیون باکتری‌ها و قارچ‌های سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه گردید. همچنین پنج سویه بالینی از هریک از گونه‌های *اشرشیاکلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* از بیمارستان، تهیه و به کمک آزمون‌های تشخیصی مرسوم و رنگ‌آمیزی، تأیید شد.

عصاره اتانولی و متانولی بذر *رومکس کیپریوس* به روش سوکسله تهیه گردید. ۳۰ گرم از بذر پودرشده در ۱۰۰ میلی‌لیتر حلال به مدت ۶ ساعت عصاره‌گیری شد. عصاره حاصل بر روی روتاری خشک گردید و سپس از عصاره اتانولی و متانولی، غلظت‌های ۵۰۰، ۲۵۰، ۱۲۵، ۶۲/۵، ۳۱/۲۵، ۱۵/۶، ۷/۸، ۳/۹، ۱/۹۵، ۰/۹۸ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر تهیه شد.

از کشت ۲۴ ساعته سوسپانسیون هریک از سویه‌های باکتری‌ها در محیط کشت مولر هینتون آگار، کدورتی معادل ۰/۵ مک‌فارلند معادل $۱/۵\times۱۰^{۸}$ باکتری در هر میلی‌لیتر به دست آمد. برای اطمینان، جذب سوسپانسیون میکروبی با دستگاه اسپکتوفوتومتر در طول موج ۶۳۰ نانومتر در محدوده ۰/۱-۰/۰۸ تنظیم گردید. سپس این غلظت، ۰/۱ رقیق شد تا غلظتی معادل $۱/۵\times۱۰^{۷}$ باکتری

به دست آید. در این تحقیق اثر ضدباکتریایی عصاره‌ها به روش انتشار چاهک مورد ارزیابی قرار گرفت. سوسپانسیون باکتری بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار به‌صورت یکنواخت کشت داده شد. سپس در هر پلیت ۶ چاهک به قطر ۶ میلی‌متر ایجاد گردید. در هر چاهک ۱۰۰ میکرولیتر از هر غلظت عصاره ریخته شد. از محلول DMSO 20% به‌عنوان کنترل منفی و از دیسک آنتی‌بیوتیک سفتازوکسیم به‌عنوان شاهد مثبت استفاده گردید. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه قرار گرفتند، سپس قطر هاله عدم رشد برحسب میلی‌متر اندازه‌گیری شد. هر سری از آزمایشها برای هر عصاره و هریک از ایزوله‌های مورد بررسی ۳ بار تکرار شد و میانگین قطر هاله عدم رشد محاسبه گردید (۸).

برای تعیین MIC و MBC به روش میکروتیترپلیت؛ ۱۰۰ میکرولیتر از هر غلظت از عصاره به داخل چاهک ستون ۱۰-۱ میکروپلیت‌های ۹۶ خانه‌ای استریل و ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی با غلظت $۱/۵\times۱۰^{۷}$ باکتری، به هر چاهک اضافه شد. به ستون شماره ۱۱ به‌عنوان کنترل منفی، ۲۰۰ میکرولیتر محیط مولر هینتون براث و به ستون شماره ۱۲ به‌عنوان کنترل مثبت، ۱۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون میکروبی و ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت مولر هینتون براث اضافه گردید. پس از تلقیح، جذب نوری چاهک‌ها به‌وسیله دستگاه ELISA rider در طول موج ۴۵۰ نانومتر قرائت گردید. میکروپلیت در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد قرار داده شد. پس از ۲۴ ساعت، مجدداً جذب نوری چاهک‌ها به‌وسیله دستگاه ELISA rider در طول موج ۴۵۰ نانومتر قرائت گردید. هر سری آزمایش، ۳ بار انجام و میانگین نتایج محاسبه شد. (آخرین چاهک شفاف، نشان‌دهنده کمترین غلظتی از عصاره است که مانع از رشد باکتری شده و به‌عنوان MIC در نظر گرفته می‌شود.) برای تعیین MBC، ۲۰ میکرولیتر از سه خانه شفاف ماقبل خانه MIC بر روی محیط کشت‌های مولر هینتون آگار کشت داده شد. پس از ۲۴ ساعت، کمترین غلظت از عصاره که باکتری در آن رشد نکرده بود به‌عنوان حداقل غلظت کشندگی (MBC) گزارش گردید (۹،۱۰).

به‌منظور تعیین ترکیبات تشکیل‌دهنده بذر *رومکس کیپریوس*، از دستگاه GC - MS شامل ردیاب جرمی Aglient 5975 C با منبع یونیزاسیون الکترونی کوپل‌شده با دستگاه کروماتوگرافی گازی Aglient 7890، از ستون HP-5MS (با طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت فیلم ۰/۲۵ میکرومتر) استفاده شد. دمای محل تزریق دستگاه کروماتوگرافی گازی روی ۲۸۰ درجه سانتیگراد، دمای منبع یونیزاسیون ردیاب جرمی روی ۱۵۰ درجه سانتیگراد، دمای آنالایزر (کوادروپل) روی ۲۳۰ درجه سانتیگراد و دمای واسط بین GC، MS روی ۲۸۰ درجه سانتیگراد تنظیم گردید. شناسایی ترکیبات تشکیل‌دهنده عصاره با استفاده از شاخص‌های بازداری کواتس، بررسی طیف‌های جرمی ترکیبات و مقایسه آنها با طیف‌های جرمی استاندارد موجود در کتابخانه‌های کامپیوتری و مراجع معتبر صورت گرفت.

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۱۷ و آزمون‌های واریانس و توکی (جهت بررسی وجود اختلاف معنی‌دار در نتایج به‌دست‌آمده) تجزیه و تحلیل شدند. سطح معنی‌داری، $p<۰/۰۵$ درنظر گرفته شد.

یافته‌ها

حساسیت ایزوله‌های بالینی و استاندارد *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشرشیاکلی* نسبت به عصاره اتانولی و متانولی بذر گیاه *رومکس کیپریوس* به روش انتشار چاهک مورد بررسی قرار گرفت که نتایج مربوطه در جدول شماره ۱ و ۲ ارائه شده است.

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 5:00 IRST on Wednesday February 21st 2018

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 5:00 IRST on Wednesday February 21st 2018

جدول شماره ۱: میانگین قطر هاله عدم رشد غلظت‌های گوناگون عصاره اتانولی و متانولی بر روی سویه‌های مختلف *اشرشیاکلی* (برحسب میلی‌متر)

نمونه	نوع عصاره	غلظت (میلی‌گرم برمیلی‌لیتر) ۵۰۰	۲۵۰	۱۲۵	۶۲/۵	شاهد مثبت (سفتازوکسیم)
اشرشیاکلی (ATCC: ۲۵۹۲۲)	اتانولی	۱۸/۵۰±۰/۵۰	۱۶/۵۰±۰/۵۰	۱۲/۵۰±۰/۵۰	۹/۰۰±۰/۵۰	۵۰/۰۰±۱/۰۰
	متانولی	۱۵/۰۰±۰/۵۰	۱۲/۰۰±۰/۵۰	۱۱/۰۰±۰/۵۰	–	۵۰/۰۰±۱/۰۰
اشرشیاکلی (ATCC: ۸۷۳۹)	اتانولی	۱۷/۵۰±۰/۵۰	۱۵/۵۰±۰/۵۰	۱۱/۵۰±۰/۵۰	۸/۰۰±۰/۵۰	۵۰/۰۰±۱/۰۰
	متانولی	۱۴/۰۰±۰/۵۰	۱۱/۰۰±۰/۵۰	۱۰/۰۰±۰/۵۰	–	۵۰/۰۰±۱/۰۰
اشرشیاکلی بالینی ایزوله ۱	اتانولی	۱۴/۵۰±۰/۵۰	۱۲/۵۰±۰/۵۰	۸/۵۰±۰/۵۰	–	۳۰/۰۰±۱/۰۰
	متانولی	۱۱/۸۰±۰/۲۸	۱۰/۸۰±۰/۲۸	–	–	۳۰/۰۰±۱/۰۰
اشرشیاکلی بالینی ایزوله ۲	اتانولی	۱۶/۵۰±۰/۵۰	۱۴/۸۰±۰/۷۶	۱۱/۱۰± ۰/۲۸	۸/۰۰±۰/۵۰	۲۹/۰۰±۱/۰۰
	متانولی	۱۵/۰۰±۰/۵۰	۱۲/۰۰±۰/۵۰	۱۰/۸۰±۰/۲۸	–	۲۹/۰۰±۱/۰۰
اشرشیاکلی بالینی ایزوله ۳	اتانولی	۱۴/۸۰±۰/۲۸	۱۳/۰۰±۰/۵۰	۱۱/۰۰±۰/۵۰	۷/۵۰±۰/۵۰	۳۰/۰۰±۱/۰۰
	متانولی	۱۵/۰۰±۰/۵۰	۱۲/۰۰±۰/۵۰	۱۱/۰۰±۰/۵۰	–	۳۰/۰۰±۱/۰۰
اشرشیاکلی بالینی ایزوله ٤	اتانولی	۱۶/۱۰±۰/۲۸	۱۴/۵۰±۰/۵۶	۱۰/۳۰±۰/۵۷	۷/۸۰±۰/۲۸	۲۷/۶۶±۰/۵۷
	متانولی	۱۴/۸۰±۰/۲۸	۱۲/۰۰±۰/۵۰	۱۰/۸۰±۰/۲۸	–	۲۷/۶۶±۰/۵۷
اشرشیاکلی بالینی ایزوله ۵	اتانولی	۱۷/۵۰±۰/۵۰	۱۵/۵۰±۰/۵۰	۱۱/۵۰±۰/۵۰	۸/۰۰±۰/۵۰	۳۰/۰۰±۱/۰۰
	متانولی	۱۳/۶۰±۰/۲۸	۱۲/۱۰±۰/۲۸	۹/۸۰±۰/۲۸	–	۳۰/۰۰±۱/۰۰

طبق آزمون آنالیز واریانس دوطرفه، میانگین قطر هاله عدم رشد با افزایش غلظت عصاره‌ها، رابطه مستقیم داشت ($p<۰/۰۰۱$). به عبارت دیگر؛ با افزایش غلظت عصاره‌های بذر *رومکس کیپریوس*، فعالیت ضدمیکروبی آن علیه *اشرشیاکلی* استاندارد و بالینی افزایش می‌یابد. در غلظت‌های کمتر از ۶۲/۵ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر، هیچ‌گونه اثر ضدباکتریایی از عصاره اتانولی مشاهده نشد. عصاره متانولی نیز در غلظت‌های کمتر از ۱۲۵ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر فعالیتی نداشت. براساس آزمون مقایسه‌های زوجی توکی؛ بین غلظت‌های ۵۰۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر و غلظت‌های ۵۰۰ با ۱۲۵ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر، اختلاف معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$)، اما بین غلظت‌های ۱۲۵ و ۲۵۰ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر ($p<۰/۰۵$)، تفاوت معنی‌داری وجود نداشت.

همچنین طبق آزمون مقایسه‌های زوجی توکی؛ میانگین ایزوله‌های بالینی *اشرشیاکلی* ۱، ۲، ۳، ۴ و ۵ در غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر با شاهد مثبت، تفاوت معنی‌داری داشت ($p<۰/۰۵$) و از شاهد مثبت کمتر بود. اختلاف شاهد مثبت نیز با غلظت‌های ۲۵۰ و ۱۲۵ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر ($p<۰/۰۵$) معنی‌دار شد. با توجه به آزمون توکی، به‌طورکلی بین غلظت‌های ۵۰۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر ($p>۰/۰۵$)، تفاوت معنی‌داری وجود نداشت، اما بین غلظت‌های ۵۰۰ با ۱۲۵ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر، اختلاف معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$). بین غلظت‌های ۱۲۵ و ۲۵۰ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر ($p<۰/۰۵$) نیز تفاوت معنی‌داری وجود داشت.

جدول شماره ۲: میانگین قطر هاله عدم رشد حاصل از تأثیر غلظت‌های گوناگون عصاره اتانولی و متانولی بر روی سویه‌های مختلف *استافیلوکوکوس اورئوس* (برحسب میلی‌متر)

نمونه	نوع عصاره	غلظت (میلی‌گرم برمیلی‌لیتر) ۵۰۰	۲۵۰	۱۲۵	۶۲/۵	۳۱/۲۵	شاهد مثبت سفتازوکسیم
استافیلوکوکوس اورئوس (ATCC: ۲۵۹۲۳)	اتانولی	۲۲/۰۰±۰/۵۰	۲۰/۰۰±۰/۵۰	۱۶/۰۰±۰/۵۰	۱۲/۰۰±۰/۵۰	۹/۰۰±۰/۵۰	۲۸/۰۰±۱/۰۰
	متانولی	۱۶/۰۰±۰/۵۰	۱۴/۰۰±۰/۵۰	۱۲/۰۰±۰/۵۰	۱۱/۱۰±۰/۲۸	۹/۰۰±۰/۵۰	۲۸/۰۰±۱/۰۰
استافیلوکوکوس اورئوس (ATTC:۶۵۳۸)	اتانولی	۱۹/۵۰±۰/۵۰	۱۷/۵۰± ۰/۵۰	۱۳/۰۵±۰/۵۰	۱۰/۵۰±۰/۵۰	۸/۰۰±۰/۵۰	۲۸/۰۰±۱/۰۰
	متانولی	۱۷/۵۰±۰/۵۰	۱۵/۰۰±۰/۵۰	۱۳/۰۰±۰/۵۰	۱۱/۰۰±۰/۵۰	۱۰/۱۰±۰/۲۸	۲۸/۰۰±۱/۰۰
استافیلوکوکوس اورئوس بالینی ایزوله ۱	اتانولی	۱۸/۵۰±۰/۵۰	۱۶/۵۰±۰/۵۰	۱۳/۰۰±۱	۹/۸۰±۰/۷۶	۷/۵±۰/۵۰	۲۶/۰۰±۱/۰۰
	متانولی	۱۶/۰۰±۰/۵۰	۱۴/۹۰±۰/۴۰	۱۳/۰۰±۰/۵۰	۱۱/۱۰±۰/۲۸	–	۲۶/۰۰±۱/۰۰
استافیلوکوکوس اورئوس بالینی ایزوله ۲	اتانولی	۱۹/۵۰±۰/۵۰	۱۷/۵۰±۰/۵۰	۱۳/۵۰±۰/۵۰	۱۰/۵۰±۰/۵۰	۸/۰۰±۰/۵۰	۲۷/۰۰±۱/۰۰
	متانولی	۱۶/۰۰±۰/۵۰	۱۴/۰۰±۰/۵۰	۱۲/۰۰±۰/۵۰	۹/۸۰±۰/۲۸	۹/۰۰±۰/۵۰	۲۷/۰۰±۱/۰۰
استافیلوکوکوس اورئوس بالینی ایزوله ۳	اتانولی	۱۷/۵۰±۰/۵۰	۱۵/۱۰±۰/۲۸	۱۲/۱۰±۰/۲۸	۱۰/۵۰±۰/۵۰	۷/۵۰±۰/۵۰	۲۸/۰۰±۱/۰۰
	متانولی	۱۷/۰۰±۰/۵۰	۱۵/۶۰±۰/۷۶	۱۳/۰۰±۰/۵۰	۱۱/۱۰±۰/۲۸	۹/۰۰±۰/۵۰	۲۸/۰۰±۱/۰۰
استافیلوکوکوس اورئوس بالینی ایزوله ٤	اتانولی	۱۶/۵۰±۰/۵۰	۱۴/۰۰±۰/۵۰	۱۰/۸۰±۰/۲۸	۷/۶۰±۰/۵۷	–	۲۵/۰۰±۱/۰۰
	متانولی	۱۵/۱۰±۰/۵۰	۱۳/۰۰±۰/۵۰	۱۱/۰۰±۰/۵۰	–	–	۲۵/۰۰±۱/۰۰
استافیلوکوکوس اورئوس بالینی ایزوله ۵	اتانولی	۱۹/۵۰±۰/۵۰	۱۷/۵۰±۰/۵۰	۱۳/۵۰±۰/۵۰	۱۰/۵۰±۰/۵۰	۸/۰۰±۰/۵۰	۲۷/۰۰±۱/۰۰
	متانولی	۱۷/۰۰±۰/۵۰	۱۵/۰۰±۰/۵۰	۱۴/۰۰±۰/۵۰	۱۱/۱۰±۰/۲۸	۹/۰۰±۰/۵۰	۲۷/۰۰±۱/۰۰

طبق آزمون آنالیز واریانس دوطرفه؛ میانگین قطر هاله عدم رشد با افزایش غلظت عصاره‌ها، رابطه مستقیم داشت ($p<۰/۰۰۱$). به عبارت دیگر، با افزایش غلظت عصاره‌های بذر *رومکس کیپریوس*، فعالیت ضدمیکروبی آن بر علیه باکتری‌های مورد بررسی افزایش می‌یابد. همچنین براساس آزمون مقایسه‌های زوجی توکی؛ میانگین *استافیلوکوکوس اورئوس* بالینی ایزوله ۱، ۲، ۳، ۴ و ۵ در غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر با شاهد مثبت، تفاوت معنی‌داری داشت ($p<۰/۰۵$) و از شاهد مثبت کمتر بود. اختلاف شاهد مثبت نیز با غلظت‌های ۲۵۰، ۱۲۵، ۶۲/۵ و ۳۱/۲۵ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر ($p<۰/۰۵$)، معنی‌دار شد.

به‌طورکلی بین غلظت‌های ۵۰۰ با غلظت‌های ۱۲۵، ۶۲/۵ و ۳۱/۲۵ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر، اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($p<۰/۰۵$)، اما بین غلظت ۵۰۰ با غلظت ۲۵۰ ($p<۰/۰۵$)، تفاوت معنی‌دار نبود. بین غلظت‌های ۲۵۰ با ۶۲/۵ و ۳۱/۲۵ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر ($p<۰/۰۵$)، تفاوت معنی‌داری وجود داشت، اما بین غلظت ۲۵۰ با غلظت ۱۲۵ ($p<۰/۰۵$)، تفاوت معنی‌دار نبود. بین غلظت‌های ۱۲۵ با ۶۲/۵ و ۳۱/۲۵ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر نیز ($p<۰/۰۵$)، تفاوت معنی‌داری وجود داشت. بین غلظت‌های ۶۲/۵ و ۳۱/۲۵ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر ($p<۰/۰۵$)، تفاوت معنی‌دار بود. در جدول شماره ۳ نتایج MIC و MBC عصاره اتانولی و متانولی بذر گیاه *رومکس کیپریوس* ارائه شده است.

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 5:00 IRST on Wednesday February 21st 2018

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 5:00 IRST on Wednesday February 21st 2018

جدول شماره ۳: مقادیر MIC و MBC عصاره اتانولی و متانولی بذر گیاه *رومکس کیپریوس* (میلی‌گرم برمیلی‌لیتر)

باکتری مورد آزمایش	عصاره متانولی		عصاره اتانولی	
	MIC	MBC	MIC	MBC
***اشرشیا کلی* استاندارد**	۶۲/۵	۱۲۵	۳۱/۲۵	۶۲/۵
نمونه اشرشیاکلی بالینی	۶۲/۵	۱۲۵	۳۱/۲۵	۶۲/۵
***استافیلوکوکوس اورئوس* استاندارد**	۶۲/۵	۱۲۵	۳۱/۲۵	۶۲/۵
نمونه *استافیلوکوکوس اورئوس* بالینی	۶۲/۵	۱۲۵	۳۱/۲۵	۶۲/۵

ترکیبات موجود در بذر *رومکس کیپریوس* به روش GC/MS مورد ارزیابی قرار گرفت (جدول شماره ۴).

جدول شماره ٤: مهم‌ترین ترکیبات شناسایی‌شده در بذر گیاه *رومکس کیپریوس* به روش GC/MS

ترکیبات شناسایی‌شده	درصد ترکیب	درصد احتمال حضور در بذر گیاه	زمان رهاسازی	اندیس بازداری کواتس
۱ و ۲ -بنزن دی‌کربوکسیلیک اسید	۲۵/۲۴	۸۳	۳۴/۲۸۳	۲۳۲۰
۱ و ٤- سیکلو هگزادین	۱۹/۱	۹۵	۱۳/۲۰۷	-
بنزن	۱۴/۸	۹۷	۱۱/۴۹۳	-
هگزا دکا متیل	۲/۳۸	۸۶	۲۷/۵۴	۱۴۶۷
۱ و ۳ – سیکلو هگزادین	۱/۴۸	۹۴	۱۱/۰۶	-
سیلیکونفت	۱/۴۲	۸۷	۳۳/۷۲۸	۲۳۰۱
اکسیم	۱/۳۶	۶۴	۷/۶۵۷	-
اکتا دکا متیل سیکلونونا سیکلوکسان	۱/۱۴	۹۰	۳۰/۰۰۹	۱۶۲۷
ترا متیل سیکلو دود کامتیل	۱/۰۸	۷۴	۳۲/۶۶۲	۱۹۴۴
سیکلوهگزا سیکلوکسان	۰/۹۳	۸۶	۲۱/۳۱۳	۱۱۲۹
سیکلو تتراسیکلوکسان	۰/۸۴	۸۳	۱۰/۴۷۶	-
فنل	۰/۷۱	۷۴	۲۳/۱۹۳	۱۲۲۰
سیکلو تترا سیکلوکسان	۰/۷	۹۰	۱۰/۴۲۷	-
بیس تری متیل سیلیل ان استیل	۰/۷	۶۴	۳۱/۷۹۶	۱۷۸۳
سیلیکونفت	۰/۵۷	۸۰	۳۴/۸	۲۳۳۷
سیکلوهگزا سیکلوکسان	۰/۴۹	۸۰	۲۱/۱۱۴	۱۱۲۰
تریس ارسان	۰/۴۲	۴۹	۳۷/۶۱۴	-
۲و٥- دی اتیل فنل	۰/۳۲	۷۰	۲۱/۷۹۵	۱۱۵۲
تیمول	۰/۳	۹۹	۲۳/۵۸۷	۱۲۴۱
سیکلوهگزا سیکلوکسان	۰/۲۸	۸۳	۲۱/۲۷۹	۱۱۲۷
اکسیم	۰/۲۶	۶۸	۷/۶۸۱	-
۲ اتوکسی ٤ و ٦ دی کلرو سیمتریازین	۰/۲۶	۵۰	۸/۹۶۷	-

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 5:00 IRST on Wednesday February 21st 2018

بحث

در این پژوهش مشخص گردید عصاره‌های اتانولی و متانولی بذرگیاه *Rumex cyprius* از رشد سویه‌های بالینی و استاندارد *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشرشیاکلی* مورد آزمایش جلوگیری می‌کنند.

همچنین نتایج مطالعه حاضر نشان داد میانگین قطر هاله عدم رشد با افزایش غلظت عصاره، رابطه مستقیم دارد (p<۰/۰۰۱)، همچنین میانگین قطر هاله عدم رشد در باکتری‌های مختلف با هم تفاوت معنی‌داری داشت (p<۰/۰۰۱)؛ بدین معنی که نوع باکتری بر اندازه قطر هاله عدم رشد تأثیر دارد.

El-Bakry در مطالعه خود، با بررسی اثر ضدمیکروبی بخش‌های هوایی *رومکس وزیکاریوس*، قطر هاله عدم رشد عصاره اتانولی *رومکس وزیکاریوس* برای *اشرشیاکلی*، *استرپتوکوکوس پنومونیه* و *استافیلوکوکوس اورئوس* به ترتیب ۵۵، ۵۵ و ۲۶ میلی‌متر به‌دست آورد که تأثیر این عصاره روی *استافیلوکوکوس اورئوس* به مراتب کمتر بود (۱۵/۵۷ میلی‌متر) و روی *کلبسیلا پنومونیه* هیچ اثری نداشت (۱۱). در مطالعه‌ای‌که توسط Nisa و همکاران با عنوان"غربالگری فیتوشیمیایی" انجام شد، اثرضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های مختلف از *رومکس دنتاتوس* بررسی گردید. فعالیت ضدمیکروبی غلظت‌های مختلف (محدوده غلظت عصاره ۵۰۰-۱۵۰ میکروگرم برمیلی‌لیتر) پنج عصاره *رومکس دنتاتوس* در برابر گونه‌های مختلف بالینی *شیگلا فلکسنری*، *کلبسیلا پنومونیه*، *اشرشیاکلی*، *سودوموناس آئروژینوزا*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سالمونلا تیفی موریوم* با روش دیسک دیفیوژن نشان داد عصاره بوتانولی، فعالیت ضدمیکروبی قوی در برابر *کلبسیلا پنومونیه* دارد؛ لیکن عصاره آبی هیچ فعالیتی برعلیه باکتری‌ها نشان نداد (۱۲).

در مطالعه‌ای‌که توسط کوچک با عنوان "ارزیابی مقدماتی بر روی اثرات ضدمیکروبی تعدادی از گیاهان دارویی استان خوزستان" انجام شد، از روش دیسک دیفیوژن برای بررسی خاصیت ضدباکتریایی استفاده گردید که میانگین قطر هاله ممانعت از رشد عصاره اتانولی *رومکس ابتوسیفولیوس* در غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر بر روی *استافیلوکوکوس اورئوس*، ۹ میلی‌متر به دست آمد. گیاه مذکور فاقد اثر مهاری بر روی *اشرشیاکلی*، *سالمونلا تیفی*، *کلبسیلا پنومونیه* و *سودوموناس آئروژینوزا* بود (۱۳).

در مطالعه کیمنش و همکاران با بررسی اثر ضدباکتریایی عصاره اتانولی بخش هوایی گیاه *رومکس کیپریوس*؛ حداقل غلظت مهاری این عصاره برای باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین*، *انتروکوکوس فیکالیس* (NCTC:۸۲۱۳)، *سودوموناس آئروژینوزا* (ATCC:۹۰۲۷)، *سالمونلا انتریکا* (NCTC:۵۷۶۱) و *اشرشیاکلی* (ATCC:۸۷۳۹) به ترتیب برابر با ۳۳، ۱۳۳، ۱۳۳، ۱۳۳ و ۱۳۳ میکروگرم برمیلی‌لیترگزارش شد. در این مطالعه عصاره *رومکس کیپریوس*، بیشترین تأثیر را بر روی باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* داشت که با مطالعه حاضر همسو بود (۱۴).

Yildirim و همکاران فعالیت ضدمیکروبی عصاره *رومکس کریسپوس* را روی *استافیلوکوکوس اورئوس* (ATCC:۲۵۹۲۳) و *اشرشیاکلی* (ATCC:۲۵۹۲۲) مورد ارزیابی قرار دادند که در نتیجه میانگین قطر هاله ممانعت از رشد در غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر عصاره اتری تهیه‌شده از برگ، بذر و عصاره الکلی از برگ این گیاه بر روی *استافیلوکوکوس اورئوس* به ترتیب برابر ۱۰، ۱۱ و ۸ میلی‌متر به دست آمد. در تحقیق حاضر نیز *استافیلوکوکوس اورئوس* بیشترین حساسیت را نسبت به عصاره از خود نشان داد که با نتایج Yildirim مطابقت داشت. شاید این تفاوت به دلیل بیشتر بودن ترکیبات مؤثره در بذر این گیاه نسبت به سایر بخش‌ها باشد. در مطالعه Yildirim هیچ یک از عصاره‌ها روی *اشرشیاکلی* اثری نداشت (۱۵).

نتایج به‌دست‌آمده در مطالعه حاضر و مطالعه کیمنش نشان داد باکتری‌های گرم مثبت نسبت به عصاره گیاه *رومکس کیپریوس* حساس‌تر از باکتری‌های گرم منفی هستند که این یافته با نتایج تحقیقات پیشین در مورد باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی یکسان است (۱۴). علت حساس‌تربودن باکتری‌های گرم مثبت نسبت به مواد شیمیایی، اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی احتمالاً به اختلاف ساختمان دیوار آنها مربوط می‌باشد. ارتباط بین ساختارهای شیمیایی برخی از اجزای غالب موجود در اسانس‌ها و عصاره‌ها نیز با فعالیت ضدباکتریایی آنها گزارش شده که در این تحقیق نیز این موضوع اثبات گردید.

در این تحقیق ۱،۲ بنزن دی کربوکسیل اسید، دی ایزو استیل استر، ۱، ۴ سیکلوهگزادین، ۱ متیل- ۴ متیل اتیل و بنزن ۱ متیل- ۲ متیل اتیل به ترتیب با ۲۵/۲۴، ۱۹/۱ و ۱۴/۸٪، بیشترین ترکیب جداشده از عصاره بودند. وجـود ترکیبات فنولی در بذر این گیاه با خاصیت ضدباکتریایی این عصاره‌ها مرتبط است (جدول شماره ۴). فلاونوئیدها از طریق جلوگیری از سنتز اسید نوکلئیک، جلوگیری از عملکرد غشای سیتوپلاسمی و متابولیسم انرژی باعث ایجاد خاصیت ضدباکتریایی می‌شوند. همچنین ترکیبات متفاوتی در فلاونوئیدها وجود دارد که بر ترکیبات و ساختارهای مختلفی از باکتری‌ها اثر می‌گذارد، به‌طوری‌که فلاونوئید، سلول‌های باکتریایی را نمی‌کشد؛ بلکه مانع از تجمع باکتری‌ها شده که در نتیجه باعث ایجاد خاصیت ضدباکتریایی می‌شود (۱۶،۱۷). همچنین در تحقیقی مشخص گردید رومکس وزیکولاریوس و *رومکس دنتاتوس* حاوی ترکیبات لیپوفیلی هستند که مانند ترکیبات فعال در سطح عمل می‌کنند (۱۸). بنابراین، به‌نظر می‌رسد اثر ضدباکتریایی عصاره اتانولی و متانولی بذر *رومکس کیپریوس*، مرهون این ترکیبات است (۱۹).

نتایج مطالعه حاضر نشان داد بذر *رومکس کیپریوس* حاوی ترکیباتی است که خاصیت ضدمیکروبی دارند. براساس نتایج، مقدار MIC عصاره اتانولی و متانولی برای هر دو باکتری *اشرشیاکلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* به ترتیب ۳۱/۲۵ و ۶۲/۵ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر به دست آمد. غلظت ضدمیکروبی بالای این عصاره‌ها، احتمالاً به دلیل خام بودن آنها است. بنابراین، پیشنهاد می‌شود ترکیبات مؤثره بذر *رومکس کیپریوس* جداسازی‌شده و ترکیبات ضدباکتریایی این ترکیبات خالص ارزیابی شوند. بدیهی است که در این حالت، حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی ترکیب مؤثره خالص کاهش خواهد داشت. در مطالعه کوچک و همکاران، میانگین قطر هاله ممانعت از رشد عصاره اتانولی *رومکس ابتوسیفولیوس* در غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ بر روی *استافیلوکوکوس اورئوس* به ترتیب برابر ۷، ۷ و ۹ میلی‌متر به دست آمد. نتایج آنالیز یک‌طرفه در این پژوهش و مطالعه حاضر نشان داد با افزایش غلظت عصاره، قطر هاله عدم رشـد به‌طـور معنی‌داری در سطـح $p<۰/۰۵$ افـزایـش می‌یابـد کـه می‌توان تفاوت معنی‌دار میانگین قطر هاله عدم رشد غلظت‌های مختلف را برحسب مقدار ماده مؤثر موجود در عصاره‌ها به آن نسبت داد. گیاه مذکور فاقد اثر مهاری بر روی *اشرشیاکلی*، *سالمونلا تیفی*، *کلبسیلا پنومونیه* و *سودوموناس آئروژینوزا* بود (۱۳).

در مطالعه Humeera و همکاران، میانگین قطر هاله ممانعت از رشد عصاره اتانولی *رومکس دنتاتوس* در غلظت‌های ۱۵۰، ۲۵۰ و ۵۰۰ میکروگرم برمیلی‌لیتر بر روی *اشرشیاکلی* به ترتیب برابر ۱۰، ۱۲و ۱۳ میلی‌متر به دست آمد و میانگین قطر هاله ممانعت از رشد عصاره اتانولی در غلظت‌های ۲۵۰ و ۵۰۰ میکروگرم برمیلی‌لیتر بر روی *استافیلوکوکوس اورئوس* به ترتیب برابر ۱۱ و ۱۳ میلی‌متر بود (۲۰). با مقایسه این پژوهش و مطالعه حاضر می‌توان نتیجه گرفت که عصاره *رومکس کریسپوس* اثر ضدباکتریایی بیشتری نسبت به عصاره *رومکس دنتاتوس* دارد. همچنین در مطالعه حاضر، عصاره اتانولی دارای اثر مهاری رشد بر *روی اشرشیاکلی* با هاله ۱۶/۵ میلی‌متر و بر *استافیلوکوکوس اورئوس* با هاله ۱۹ میلی‌متر بود که این نتیجه می‌تواند مربوط به زیستگاه رشد گیاه یا تیپ گیاه باشد که عاملی مهم برای میزان ترکیبات مؤثره گیاه محسوب می‌شود. عدم فعالیت ضدباکتری در برخی از غلظت‌ها به حضور مقادیر کمتری از ترکیبات ضدمیکروبی نسبت داده می‌شود.

نتیجه‌گیری

به‌طورکلی می‌توان نتیجه گرفت اثرات ضدباکتریایی عصاره بذر *رومکس کیپریوس* بر *استافیلوکوکوس اورئوس* نسبت به *اشرشیاکلی* بیشتر است. بررسی غلظت‌های مختلف عصاره بر باکتری‌ها نشان داد با افزایش غلظت عصاره، فعالیت مهاری افزایش می‌یابد. با توجه به اثراتی‌که عصاره اتانولی و متانولی *رومکس کیپریوس* روی باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشرشیاکلی* داشته، می‌توان تحقیقاتی در جهت شناسایی و جداسازی ترکیبات مؤثر و فعال بذر *رومکس کیپریوس* طرح‌ریزی کرد.

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 5:00 IRST on Wednesday February 21st 2018

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 5:00 IRST on Wednesday February 21st 2018

References:

1. Weckesser S, Engel K, Simon-Haarhaus B, Wittmer A, Pelz K, Schempp CM. Screening of plant extracts for antimicrobial activity against bacteria and yeasts with dermatological relevance. Phytomedicine 2007;14(7-8):508-16.
2. Nascimento GGF, Locatelli J, Freitas PC, Silva GL, Oliveira DF, Figueiredo HCP. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. Braz J Micribiol 2000;31(4):247-56.
3. Koc M, Hamzaoglu E. Herniaria caucasica (Caryophyllaceae), Rumex cyprius (Polygonaceae), and Potentilla multifida (Rosaceae); 3 new records for Turkey. Turk J Bot 2014;38(4):819-25.
4. Mohammadi-Sichani M, Sadeghzadeh P, Madani M. Evaluation of antibacterial activity of extract of rumex alveollatus leaf against Staphylococcus aureus and Pseudomonas Aeruginosa. Zahedan J Res Med Sci 2013;15(6):58-61. [Full Text in Persian]
5. Fatima N, Zia M, Rehman R, Rizvi Z, Ahmad S, Mirza B, et al. Biological activities of Rumex dentatus L: Evaluation of methanol and hexane extracts. Afr J Biotech 2009;8(24):6945-51.
6. Hussein G, Miyashiro H, Nakamura N, Hattori M, Kakiuchi N, Shimotohno K. Inhibitory effects of Sudanese medicinal plant extracts on hepatitis C virus (HCV) protease. Phytother Res 2000;14(7):510-6.
7. Gescher K, Hensel A, Hafezi W, Derksen A, Kühn J. Oligomeric proanthocyanidins from Rumex acetosa L. inhibit the attachment of herpes simplex virus type-1 Antiviral Res 2011;89(1):9-18.
8. Bonev B, Hooper J, Parisot J. Principles of assessing bacterial susceptibility to antibiotics using the agar diffusion method. J Antimicrob Chemother 2008;61(6):1295-301.
9. Valgas C, Souza SMD, Smânia EFA, Smânia JrA. Screening methods to determine antibacterial activity of natural products. Braz J Microbiol 2007;38(2):369-80.
10. Wiegand I, Hilpert K,Hancock REW. Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. Nat Protocols 2008;3(2):163-75.
11. El-Bakry A, Mostafa A, Alam EA. Antibacterial and antioxidant activities of seedlings of Rumex vesicarius L. (Polygonaceae) J Med Plants Res 2013;7(29):2158-64.
12. Nisa H, Kamili AN, Bandh SA, Amin SU, Lone BA, Parray JA. Phytochemical screening, antimicrobial and antioxidant efficacy of different extracts of Rumex dentatus L. - A locally used medicinal herb of Kashmir Himalaya. Asian Pac J Trop Dis 2013;3(6):434-40.
13. Koochak H, Seyyednejad SM, Motamedi H. Preliminary study on the antibacterial activity of some medicinal plants of Khuzestan (Iran). Asian Pac J Trop Med 2010;3(3):180-4.
14. Keymanesh K, Hamedi J, Moradi S, Mohammadipanah F, Sardari S. Antibacterial, antifungal and toxicity of rare Iranian plants. Int J Pharmacol 2009;5(1):81-5.
15. Yıldırım A, Mavi A, Kara AA. Determination of antioxidant and antimicrobial activities of Rumex crispus L. Extracts. J Agric Food Chem 2001;49(8):4083-9.
16. Kumar S, Joseph L, George M. Phytochemical analysis of leaf extracts of Rumex nepalensis. Int J Pharm Med Innov 2011;1(1):16-21.
17. Liang HX, Dai HQ, Fu HA, Dong XP, Adebayo AH, Zhang LX, et al. Bioactive compounds from Rumex plants. Phytochem Let 2010;3(4):181-4
18. Abou Elfotoh MA, Shams KA, Anthony KP, Shahat AA, Ibrahim MT, Abdelhady NM, et al. Lipophilic Constituents of Rumex vesicarius L. and Rumex dentatus L. Antioxidants (Basel) 2013;2(3):167-80.
19. Dholwani K, Saluja A, Gupta A, Shah D. A review on plant-derived natural products and their analogs with anti-tumor activity. Indian J Pharmacol 2008;40(2):49-58.
20. Humeera N, Kamili AN, Bandh SA, Amin SU, Lone BA, Gousia N. Antimicrobial and antioxidant activities of alcoholic extracts of Rumex dentatus L. Microb Pathog 2013;57:17-20.