

بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی، مهار آنزیم آلفاگلوکوزیداز و فعالیت ضد میکروبی آلوئه‌امودین و آنتراکینون آلوئه‌ورا

مریم غزنوی^۱، مریم مصلحی شاد^۲، فاطمه قمری^۳

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد، مرکز تحقیقات علوم تغذیه و صنایع غذایی، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- نویسنده مسئول: استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد صفادشت، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران. پست الکترونیکی: moslehishad@safaiu.ac.ir

۴- استادیار گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور تهران

تاریخ پذیرش: ۹۷/۶/۴

تاریخ دریافت: ۹۷/۲/۱۱

چکیده

سابقه و هدف: صبر زرد دارویی با نام علمی آلوئه‌ورا از جمله گیاهان دارویی با ارزش دنیا است. هدف از این مطالعه بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی، مهار آنزیم آلفاگلوکوزیداز و خاصیت ضد میکروبی مشتقات آلوئه‌ورا از جمله آلوئه‌امودین و آنتراکینون می‌باشد.

مواد و روش‌ها: فعالیت آنتی‌اکسیدانی آلوئه‌امودین و آنتراکینون با استفاده از روش کاهش رنگ رادیکال ABTS انجام شد. قابلیت ضد میکروبی آلوئه‌امودین و آنتراکینون در برابر سویه‌های باکتریایی (باسیلوس سرئوس، کلبسیلا پنومونیه، کاندیدا آلبیکانس، سودوموناس آئروژینوزا) مورد ارزیابی قرار گرفت. به منظور معین کردن خاصیت مهار آنزیم آلفاگلوکوزیداز از ماده pNPG (p-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside) به عنوان سوسترا استفاده شد. فعالیت آنزیم با سنجش میزان جذب پارا-نیتروفنول تولید شده در محلول معین شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد؛ آلوئه‌امودین و آنتراکینون در غلظت ۰/۰۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر فاقد خاصیت آنتی‌اکسیدانی (مهار رادیکال آزاد) است. نتایج مهار آنزیم آلفاگلوکوزیداز آلوئه‌امودین و آنتراکینون نشان داد با افزایش غلظت نمونه درصد مهارکنندگی آلفاگلوکوزیداز افزایش می‌یابد ($p < 0/05$). درصد مهارکنندگی ۵۰ درصدی آنزیم آلفاگلوکوزیداز آلوئه‌امودین ۰/۱۸ و آنتراکینون ۰/۰۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر است. بنابراین خاصیت مهارکنندگی آنتراکینون از آلوئه‌امودین بیشتر است. در آزمون میکروبی نتایج حاصل از تعیین قطر هاله عدم رشد نشان داد که آلوئه‌امودین روی باسیلوس سرئوس بیشترین و بر سودوموناس آئروژینوزا کمترین تأثیر را داشته است ($p < 0/05$). همچنین نتایج حاصل از تعیین قطر هاله عدم رشد نشان داد که آنتراکینون روی کاندیدا آلبیکانس و کلبسیلا پنومونیه بیشترین و بر سودوموناس آئروژینوزا کمترین تأثیر را داشت ($p < 0/05$). با توجه به نتایج حاصل آنتراکینون خاصیت ضد میکروبی و مهارکنندگی قوی تری در برابر آنزیم آلفاگلوکوزیداز نسبت به آلوئه‌امودین از خود نشان می‌دهد.

نتیجه‌گیری: با توجه به خواص مهار آنزیم آلفاگلوکوزیداز و خواص ضد میکروبی مطلوب این گیاه، استفاده از آن به عنوان یک افزودنی طبیعی در صنایع غذایی توصیه می‌شود.

واژگان کلیدی: آلوئه‌ورا، آلوئه‌امودین، آنتراکینون، خاصیت آنتی‌اکسیدانی، مهار آنزیم آلفاگلوکوزیداز، خاصیت ضد میکروبی

• مقدمه

نخستین بار مصری‌ها این گیاه را برای درمان زخم‌ها، سوختگی‌ها و عفونت‌ها به کار می‌گرفتند. شکارچیان آفریقایی از ژل آن بر بدن خود می‌مالیدند تا عرق نکنند. قرن‌هاست که برگ‌های گیاه آلوئه‌ورا به طور گسترده‌ای در کشورهای مختلف به عنوان دارو مصرف می‌شود اثرات درمانی مختلفی که برای این گیاه عنوان شده غالباً بر اساس سابقه طب سنتی است اما

صبر زرد یا آلوئه‌ورا با ظاهر بوته‌ای انبوه، پایا و همیشه سبز از جمله گیاهان دارویی با ارزش دنیاست، نام این گیاه از زبان عربی به سایر زبان‌ها آمده است. این گیاه بومی آفریقا است که به آن زندق بیابانی یا صحرائی هم می‌گویند و در برخی کشورها با نام‌هایی چون گیاه جاودانگی گیاه دارویی، گیاه ملکه نیز نامیده می‌شود؛ وقتی برگ آن بریده شود، ژلی از داخل گیاه خارج می‌شود که اثر دارویی خارق‌العاده‌ای دارد.

شناخته‌شده‌ی پلی‌فنول‌ها تعلق دارد. این پلی‌فنول به همراه دیگر ترکیبات موجود در آلوئه‌ورا می‌تواند عامل بازدارنده‌ی رشد برخی از باکتری‌های عفونت‌زا گردد. گیاه آلوئه‌ورا باعث تقویت و تعدیل سیستم ایمنی در بیماری‌های ویروسی مثل تبخال، می‌شود و ضد التهاب است. و در تولیدات آرایشی و بهداشتی نیز مورد استفاده قرار می‌گیرد (۳).

با توجه به اثرات درمانی قابل توجه آلوئه‌ورا بررسی اجزای مهم تشکیل دهنده آن از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. بنابراین هدف از این مطالعه بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی، مهار آنزیم آلفاگلوکوزیداز و ضد میکروبی مشتقات آلوئه‌ورا از جمله آلوئه‌امودین و آنتراکینون می‌باشد.

• مواد و روش‌ها

تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی: فعالیت آنتی‌اکسیدانی آلوئه‌امودین و آنتراکینون با استفاده از روش معادل ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ترولوکس TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) تعیین شد. این روش بر مبنای کاهش رنگ رادیکال ABTS (2,2'-azino-bis(3-(ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) انجام می‌شود. رادیکال ABTS با حل کردن در آب و در معرض پتاسیم پرسولفات طی مدت ۱۲ تا ۱۶ ساعت حاصل شد. سپس جذب در طول موج ۷۳۴ نانومتر طی مدت ۵ دقیقه به وسیله دستگاه الیزا ریدر تعیین گردید (۴).

آزمون مهارکنندگی آنزیم آلفاگلوکوزیداز: به منظور تعیین خاصیت مهار آنزیم آلفاگلوکوزیداز از ماده pNPG به عنوان سوبسترا استفاده شد. این ماده توسط آنزیم آلفا گلوکوزیداز، به پارا-نیتروفنول (زرد رنگ) و گلوکز هیدرولیز می‌شود. فعالیت آنزیم با سنجش میزان جذب پارا-نیتروفنول تولید شده در محلول تعیین می‌شود. در صورتی که آلوئه-امودین و آنتراکینون دارای اثر مهارکنندگی آنزیم آلفا گلوکوزیداز باشند جذب پایین‌تری در مقایسه با کنترل (واکنش بدون عصاره) حاصل می‌شود. برای این منظور، مخلوط واکنش حاوی ۱۰ میکرولیتر آلفاگلوکوزیداز (unit/ml ۰/۲۵)، ۱۳۰ میکرولیتر بافر فسفات ۱۰۰ mM (pH=۶/۸) و ۱۰ میکرولیتر از نمونه آزمایش در غلظت‌های مختلف استفاده شد. این مخلوط در میکروپلیت‌های ۹۶ چاهکی تهیه و به مدت ۱۵ دقیقه در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سلسیوس قرار داده شد. پس از خارج کردن پلیت از انکوباتور، واکنش آنزیمی با اضافه کردن ۲۰ میکرولیتر از محلول ۵ mM pNGB آغاز شد. محلول واکنش مجدد در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه قرار گرفت. در نهایت با اضافه

مطالعات بالینی نیز در سالهای اخیر روی آن صورت گرفته است (۱).

آلوئه‌ورا گیاهی است متشکل از ۹۶ درصد آب و ۴ درصد ماده خشک که ۷۵ نوع ترکیب در ماده خشک آن شناخته شده‌اند که شامل ویتامین‌ها، نمک‌های غیرآلی، مواد معدنی، آنزیم‌ها، قندها، ترکیبات فنولیک، آنتراکینون، آلوئه‌امودین، لیگنین، آلوئه‌امودین، ساپونین‌ها، استرول‌ها، آمینو اسیدها، سالیسیلیک‌اسید، کلسیم‌اکسالات، باربالوئین، سولفات‌ها، تانن‌ها و استروئیدها است. ترکیباتی که در ژل آلوئه‌ورا یافت شده‌اند؛ از جمله ترکیبات پلی‌ساکاریدی هستند که قادر به کاهش و ترمیم التهاب هستند. این ترکیبات همچنین دارای خاصیت ضد میکروبی نیز هستند. آنتی‌اکسیدان‌هایی در قالب ویتامین-های A، E، آمینواسیدها و اسیدهای چرب ضروری نیز در آن یافت می‌شوند. کلسیم و آلوئین نیز در آلوئه‌ورا موجود هستند، آلوئین ملینی بسیار قوی است. ویتامین‌های موجود در آلوئه-ورا A، B₁، B₂، B₆، B₁₂، C، E و فولیک‌اسید و نیاسین می‌باشد بدن انسان نمی‌تواند بعضی از این ویتامین‌ها را ذخیره نماید. بنابراین بهترین راه تامین ویتامین‌های فوق نوشیدن میزان مناسبی از آلوئه‌ورا می‌باشد. مواد معدنی که در آلوئه‌ورا یافت می‌شود و شامل کلسیم، سدیم، آهن، پتاسیم، کروم، منگنز، مس و روی می‌باشد که همگی برای سلامتی بسیار حیاتی می‌باشند. آنزیم‌هایی نظیر آمیلاز و لیپاز که برای کاهش چربی و قندخون مفیدند، در این گیاه موجود است. از قندهای موجود در این گیاه منو و پلی‌ساکاریدها نظیر گلوکوز و مانوز را می‌توان نام برد (۲).

پژوهش‌ها نشان دادند که آلوئه‌ورا قند خون را در انسان کاهش می‌دهد. از آنجا که آلوئه‌ورا قادر است آنزیم‌های موجود در پانکراس را فعال نماید می‌تواند در افرادی که دچار دیابت و هایپرگلیسمی هستند به تعادل و تنظیم قند خون کمک نماید. مصرف آلوئه‌ورا از آنجا که دارای خواص ضد میکروبی می‌باشد برای درمان عفونت‌های میکروبی، مجاری معده و روده مؤثر خواهد بود. همچنین به علت وجود درصد بالای قند در این ژل خاصیت اسمزی بالا می‌رود و از رشد باکتری‌ها جلوگیری می‌شود. برخی از تحقیقات حاکی از آن است که ماده آنتراکینون موجود در ژل آلوئه‌ورا خاصیت ضد سرطانی دارد همچنین اشخاص مبتلا به سرطان که مشغول شیمی درمانی هستند می‌توانند با مصرف این گیاه تهوع و سایر مشکلات مربوط به این درمان را بکاهند. آنتی‌اکسیدان‌ها برای حفظ سلامت از اهمیت ویژه‌ای برخوردارند. ژل آلوئه‌ورا حاوی آنتی‌اکسیدان‌های قویست که به خانواده‌ی بزرگ و

جدول ۱. مقایسه میانگین قطر هاله عدم رشد (میلی‌متر) ناشی از آلوده امودین و آنتراکینون روی کاندیدا/آلبیکانس، باسیلوس سرئوس، سودوموناس آئروژینوزا و کلبسیلا پنومونیه

نوع میکروارگانیسم	آلوده امودین	آنتراکینون
کاندیدا/آلبیکانس	۱/۳۳ ± ۰/۱۶ ^{baB}	۱/۸۳ ± ۰/۱۶ ^{aA}
باسیلوس سرئوس	۱/۸۳ ± ۰/۱۶ ^{aA}	۱/۵ ± ۰/۰ ^{baB}
سودوموناس آئروژینوزا	۱/۱۶ ± ۰/۱۶ ^{baA}	۱/۱۶ ± ۰/۱۶ ^{baA}
کلبسیلا پنومونیه	۱/۳۳ ± ۰/۱۶ ^{baB}	۱/۸۳ ± ۰/۱۶ ^{aA}

در هر ستون، (میانگین ± انحراف معیار) که دارای حروف کوچک مشترک و در هر ردیف، (میانگین ± انحراف معیار) که دارای حروف بزرگ مشترک هستند؛ در سطح ۰/۰۵ اختلاف معنی‌دار ندارند.

نتایج حاصل از تعیین قطر هاله عدم رشد نشان می‌دهد که آلوده‌امودین علیه باسیلوس سرئوس بیشترین اثر و علیه سودوموناس آئروژینوزا کمترین تأثیر را داشته است ($p < 0/05$). آنتراکینون بر کاندیدا/آلبیکانس و کلبسیلا پنومونیه بیشترین خاصیت ضد میکروبی و بر سودوموناس آئروژینوزا کمترین تأثیر را داشته است ($p < 0/05$).

بر اساس نتایج ارائه شده در جدول ۱ بین خاصیت ضد میکروبی آلوده‌امودین و آنتراکینون بر سودوموناس آئروژینوزا اختلاف معنی‌داری وجود ندارند ($p \geq 0/05$). در حالی که بین خاصیت ضد میکروبی دو ترکیب علیه باسیلوس سرئوس، کاندیدا/آلبیکانس و کلبسیلا پنومونیه اختلاف معنی‌داری دارند ($p < 0/05$).

نتایج تعیین درصد مهارکنندگی آلفاگلوکوزیداز: در این پژوهش قدرت مهارکنندگی آلوده‌امودین و آنتراکینون از مشتقات گیاه آلوده‌ورا روی آنزیم آلفاگلوکوزیداز مورد بررسی قرار گرفت. جدول ۲ روند تأثیر غلظت آلوده‌امودین بر درصد مهارکنندگی آلفاگلوکوزیداز را مورد بررسی قرار می‌دهد. جدول ۲ نشان می‌دهد بین غلظت‌های مختلف از آلوده‌امودین اختلاف معنی‌دار وجود دارد ($p < 0/05$).

جدول ۲. تأثیر غلظت‌های مختلف آلوده‌امودین بر درصد مهارکنندگی آلفاگلوکوزیداز

غلظت نمونه	آلوده امودین (واحد میلی گرم بر میلی لیتر)
۰/۵	۵۷/۸۰ ± ۰/۶۸ ^a
۰/۲۵	۵۲/۲۱ ± ۱/۲۳ ^b
۰/۱۲۵	۵۸/۷۰ ± ۳/۱۴ ^a
۰/۰۳۱۲	۴۱/۷۹ ± ۰/۰۵ ^c
۰/۰۱۵۶	۳۹/۸۰ ± ۰/۰۰ ^c

در هر ستون، (میانگین‌هایی ± انحراف معیار) که دارای حروف کوچک مشترک هستند، در سطح ۰/۰۵ اختلاف معنی‌دار ندارند.

نمودن ۸۰ میکرولیتر محلول سدیم کرینات M ۰/۲ واکنش متوقف شد. سپس جذب محیط در طول موج ۴۰۵ نانومتر توسط دستگاه الیزا ریدر خوانده شد. از مخلوط واکنش بدون عصاره گیاهی به عنوان کنترل و مخلوط واکنش بدون آنزیم آلفاگلوکوزیداز به عنوان بلانک استفاده شد. این آزمایش برای هر یک از غلظت‌ها در ۳ تکرار انجام شد. درصد مهار آنزیم آلفاگلوکوزیداز توسط نمونه‌ها به کمک فرمول زیر محاسبه شد (۵).

$100 \times \text{جذب کنترل} / \text{جذب نمونه} - \text{جذب کنترل}$: درصد مهارکنندگی

بررسی فعالیت ضد میکروبی: قابلیت ضد میکروبی آلوده‌امودین و آنتراکینون در برابر سویه‌های باکتریایی باسیلوس سرئوس، کلبسیلا پنومونیه، کاندیدا/آلبیکانس، سودوموناس آئروژینوزا مورد ارزیابی قرار گرفت. سویه‌های باکتریایی از کلکسیون میکروبی سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه شد. به منظور تعیین قابلیت ضد میکروبی کشت ۲۴ ساعته سویه‌های ذکر شده حدود 10^8 CFU mL⁻¹ از سویه باکتریایی به صورت تک لایه در سطح محیط BHI Agar کشت داده شد. سپس مطابق روش دیسک کاغذی نمونه مورد نظر به محیط کشت منتقل گردید و پس از گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۰ یا ۳۷ درجه سلسیوس (بر مبنای دمای بهینه رشد هر سویه باکتریایی) وجود هاله عدم رشد در سطح محیط کشت ارزیابی شد که این امر بیانگر فعالیت ضد میکروبی در برابر سویه‌های باکتریایی است (۶).

تجزیه و تحلیل آماری: جهت یافتن رابطه منطقی بین متغیرها و تجزیه و تحلیل داده‌ها از جدول تجزیه و تحلیل آنالیز واریانس (ANOVA) استفاده شد و در صورت معنی‌دار بودن داده‌ها آزمون مقایسه میانگین Duncan به کار رفت. به این منظور از نرم افزار آماری SPSS استفاده شد. تمام آزمایشات در سه تکرار صورت گرفت و نتایج به صورت (میانگین داده‌ها ± SE) با سطح اطمینان ۰/۰۵، گزارش شد.

• یافته‌ها

نتایج تعیین خاصیت ضد میکروبی: در این پژوهش اثر ضد میکروبی آلوده‌امودین و آنتراکینون از مشتقات گیاه آلوده‌ورا بر کاندیدا/آلبیکانس، باسیلوس سرئوس، سودوموناس آئروژینوزا و کلبسیلا پنومونیه با مقایسه قطر هاله عدم رشد میکروبی در جدول ۱ نشان داده شده است.

از ترکیبات فنولیک می‌باشند. فنول از ترکیبات ساده آلی بوده که از اتصال یک گروه هیدروکسیل و یک حلقه‌ی بنزنی تشکیل می‌شود. فنول با فرمول (C_6H_5OH) با نام‌های هیدروکسی بنزن نیز شناخته می‌شود. در سال ۲۰۱۴ پژوهشگران تحقیقات گسترده، به ویژه روی خصوصیات بیوشیمیایی آلوئه‌ورا انجام دادند. خواص درمانی عصاره آلوئه‌ورا از جمله خواص آنتی‌اکسیدانی مشخص شد (۷). بر اساس تحقیقات محققان در سال ۲۰۰۰ آلوئه‌ورا حاوی مقادیر قابل توجهی از آنتی‌اکسیدان‌ها از جمله توکوفرول، کاروتنوئیدها، آسکوربیک‌اسید، فلاونوئیدها، تانن می‌باشد که وجود این آنتی-اکسیدان‌ها یک ویژگی مهم از داروهای گیاهی مورد استفاده در درمان بیماری‌های مختلف است. اثرات ضد درد و ضد التهاب نشان داده شده است. ژل آلوئه‌ورا در بافت منجر به کاهش سطح گلوکز در خون موش‌های صحرایی دیابتی می‌شود. آلوئه‌ورا در جلوگیری از تشکیل رادیکال‌های آزاد مؤثر است (۸). در سال ۱۳۹۱ محمدی و همکاران بیان کردند. آلوئه‌ورا سرشار از آنتی‌اکسیدان‌هایی است که افزایش دهنده طبیعی سیستم ایمنی هستند و به مبارزه با رادیکال‌های آزاد در بدن کمک می‌کنند. رادیکال‌های آزاد ترکیبات ناپایداری هستند که برای سلامت مضر بوده و در روند پیری نقش دارند. نوشیدن آب آلوئه‌ورا به طور منظم، منبع مداومی از آنتی‌اکسیدان‌ها را برای بدن فراهم می‌کند که می‌تواند سیستم ایمنی بدن را بهبود بخشیده و تقویت کند (۹).

اما در پژوهش حاضر و بر اساس نتایج آزمون آنتی‌اکسیدانی، قابلیت مهار رادیکال‌های آزاد در آلوئه‌امودین و آنتراکینون مشاهده نشد که این بدان معنا نیست که گیاه آلوئه‌ورا فاقد خواص آنتی‌اکسیدانی است بلکه این دو مشتق آلوئه‌ورا فاقد این خاصیت تا حد اکثر غلظت ۰/۰۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر هستند. نتایج حاصل در این پژوهش با نتایج مطالعه Vargas و همکاران در سال ۲۰۰۴ که به خاصیت مهار گونه‌های اکسیژن فعال به‌وسیله آلوئه‌امودین اشاره کردند؛ متفاوت بود. علت آن می‌تواند ناشی از تفاوت در روش تعیین خاصیت آنتی‌اکسیدانی در این دو پژوهش باشد (۱۰).

درصد مهارکنندگی آلفاگلوکوزیداز: بر اساس نتایج جدول ۳ آلوئه‌امودین در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر با درصد مهارکنندگی ۵۷/۸۰ دارای بیشترین خاصیت مهارکنندگی آنزیم آلفاگلوکوزیداز می‌باشد. جدول ۳ نشان می‌دهد؛ آنتراکینون در غلظت ۰/۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر با درصد مهارکنندگی ۸۷/۴۴ دارای بیشترین خاصیت مهارکنندگی آنزیم آلفاگلوکوزیداز می‌باشد. نتایج این دو نمودار نشان‌دهنده

جدول ۳ روند تغییرات غلظت آنتراکینون بر درصد مهارکنندگی آلفاگلوکوزیداز را مورد بررسی قرار می‌دهد. این جدول نشان می‌دهد بین غلظت‌های مختلف از آنتراکینون اختلاف معنی‌دار وجود دارد ($p < 0.05$).

جدول ۳. روند تغییرات غلظت آنتراکینون بر درصد مهارکنندگی آلفاگلوکوزیداز

غلظت نمونه	آنتراکینون (واحد میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)
۰/۱	۸۷/۴۴±۶/۷۲ ^a
۰/۰۵	۵۶/۴۰±۵/۰۷ ^b
۰/۰۲۵	۲۵/۴۴±۲/۳۸ ^c
۰/۰۱۲۵	۱۸/۵۱±۲/۷۳ ^c
۰/۰۰۶۲۵	۱۶/۰۲±۲/۹۴ ^c
۰/۰۰۳۱۲۵	۲۲/۴۵±۰/۶۵ ^c

در هر ستون، (میانگین‌هایی ± انحراف معیار) که دارای حروف کوچک مشترک هستند، در سطح ۰/۰۵ اختلاف معنی‌دار ندارند.

جدول ۴ به مقایسه میان آلوئه‌امودین و آنتراکینون در مورد خاصیت مهارکنندگی آلفاگلوکوزیداز می‌پردازد. آلوئه‌امودین و آنتراکینون دارای اختلاف معنی‌داری در مورد خاصیت مهارکنندگی آلفاگلوکوزیداز هستند ($p < 0.05$). درصد مهارکنندگی ۵۰ درصدی آنزیم آلفاگلوکوزیداز آلوئه‌امودین ۰/۱۸ و آنتراکینون ۰/۰۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر است. بنابراین خاصیت مهارکنندگی آنتراکینون از آلوئه‌امودین بیشتر است.

جدول ۴. مقایسه خاصیت مهارکنندگی ۵۰ درصدی آلفاگلوکوزیداز آلوئه‌امودین و آنتراکینون

ترکیب	IC50
آلوئه‌امودین (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)	۰/۱۸±۰/۰۰۹ ^b
آنتراکینون (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)	۰/۰۵±۰/۰۰۳ ^a

در هر ستون، (میانگین‌هایی ± انحراف معیار) که دارای حروف کوچک مشترک هستند، در سطح ۰/۰۵ اختلاف معنی‌دار ندارند.

• بحث

فعالیت آنتی‌اکسیدانی: حدود ۷۵ نوع ترکیب در آلوئه‌ورا یافت شده است؛ یکی از این ترکیبات پلی‌ساکاریدها هستند که قادر به کاهش و ترمیم التهاب هستند. آنتی‌اکسیدان‌هایی شامل ترکیبات فنلی، ویتامین‌های آ، ب، ث، ای نیز در این ترکیبات یافت می‌شوند (۲). آنتی‌اکسیدان‌ها با رادیکال‌های آزاد (مولکول‌های انفعالی مسوول پیری و آسیب‌های سلولی) مبارزه می‌کنند، آنها را خنثی می‌کنند و از سلول‌های آنها در برابر تشدید بیماری‌هایی مانند سرطان جلوگیری می‌کنند. آلوئه‌امودین و آنتراکینون از مشتقات آلوئه‌ورا می‌باشند. این دو

میلی‌گرم بر میلی‌لیتر دارای خاصیت مهارکنندگی کمتری نسبت به آنتراکینون با IC_{50} ۰/۰۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر می‌باشد.

آنزیم‌های آلفاگلوکوزیداز و آلفاآمیلاز دو آنزیم مهم در مجاری گوارشی انسان هستند که پلی‌ساکاریدهای موجود در غذا را هیدرولیز و تبدیل به قندهای ساده قابل جذب به بدن می‌کنند. مهار این دو آنزیم نقش مهمی در کاهش جذب قند غذایی موجود در مجاری گوارشی انسان دارد. دلیل مهار این دو آنزیم توسط ژل گیاه صبرزرد هنوز مشخص نیست. ولی گزارش شده است که ترکیباتی که دارای خواص آنتی-اکسیدانی هستند با مهار رادیکال آزاد اکسیژن موجب مهار آنزیم آلفاگلوکوزیداز می‌شوند. خواص آنتی‌اکسیدانی از ژل برگ گیاه صبرزرد در چند گزارش منتشر شده است. در دو گزارش تجویز ژل برگ گیاه صبرزرد به موش‌های دیابتی موجب بهبود در سطح گلوکز خون شده است و محققان مدعی هستند که ژل برگ گیاه صبرزرد با مهار استرس اکسیداسیون باعث این اثرات شده است (۷، ۲). در این پژوهش مشخص شد؛ آلوئه‌امودین و آنتراکینون از مشتقات آلوئه‌ورا دارای خاصیت مهارکنندگی آلفا گلوکوزیداز و در نتیجه کاهش قندخون هستند.

آزمون‌های میکروبی: در سال‌های اخیر تحقیقات بر روی ترکیبات دارای خواص ضد میکروبی به ویژه از منابع طبیعی از رشد فزاینده‌ای برخوردار بوده است و علاقه روز افزونی نسبت به جست و جوی این منابع جهت دستیابی به ترکیبات ضد میکروبی مؤثر و سالم در میان محققین وجود داشته است (۵). طبق نتایج حاصل از تعیین قطر هاله عدم رشد حاصل از این مطالعه، آلوئه‌امودین بر روی *باسیلوس سرئوس* بیشترین و روی *سودوموناس آئروژینوزا* کمترین تأثیر را داشته است ($p < 0/05$). نتایج این تحقیق مشخص نمود حساسیت باکتری گرم مثبت به آلوئه‌امودین بیش از باکتری‌های گرم منفی می‌باشد که گمان می‌رود این پدیده به علت تحمل ذاتی باکتری‌های گرم منفی یا ساختار ویژه دیواره سلولی در باکتری‌های گرم منفی و استحکام این دیواره نسبت به باکتری‌های گرم مثبت و همچنین تفاوت عملکرد ترکیبات مؤثره گیاهی، باشد. اثرات ضد میکروبی گیاهان که غنی از ترکیبات فنولی به خصوص فلاونوئیدها هستند بستگی به محل و تعداد گروه‌های هیدروکسیل روی حلقه فنولی (همانند هیدروکربن‌های ترپن‌ها) دارد که با اثر روی غشاء سلولی میکروارگانیسم‌ها سبب افزایش نفوذپذیری و تورم سلولی می‌شود. همچنین با اثر بر روی آنزیم‌های تنفسی، واکنش با

آن است که آنتراکینون نسبت به آلوئه‌امودین قابلیت مهارکنندگی بیشتری در برابر آنزیم آلفاگلوکوزیداز را دارد. زیرا در غلظت کمتر مقدار بیشتری آنزیم را مهار کرده است.

پژوهش‌های پیشین نیز نشان داده‌اند که آلوئه‌ورا قند خون را در انسان کاهش می‌دهد. از آنجا که آلوئه‌ورا قادر است آنزیم‌های موجود در پانکراس را فعال نماید می‌تواند در افرادی که دچار دیابت و هیپوگلیسمی هستند به تعادل و تنظیم قند خون کمک نماید. در سال ۱۳۹۲ فلاح حسینی و همکاران اثر عصاره‌های قطبی و غیرقطبی ژل برگ گیاه صبرزرد بر فعالیت آنزیم‌های آلفاآمیلاز و آلفاگلوکوزیداز را بررسی کردند. آنزیم‌های آلفاآمیلاز و آلفاگلوکوزیداز در مجاری گوارشی نقش مهمی در فرآیند تبدیل پلی‌ساکاریدها به گلوکز ایفا می‌کنند. مهار فعالیت این دو آنزیم یکی از روشهای پیشگیری از افزایش گلوکز خون بعد از غذا، در بیماران دیابتی می‌باشد. از پودر ژل برگ صبرزرد توسط حلال‌های هگزان، کلروفرم، اتیل استات و متانول اجزای مختلف تهیه شد. اثر بازدارندگی عصاره‌های به دست آمده بر فعالیت آنزیم‌های آلفاآمیلاز و آلفاگلوکوزیداز بررسی شد. در این پژوهش، غلظتی از هر عصاره که برای مهار ۵۰ درصد از فعالیت آنزیم‌ها مورد نیاز است به دست آمد و با مقدار مورد نیاز از آکربوز، به عنوان کنترل مثبت مقایسه شد. نتایج این تحقیق نشان داد که درصد مهارکنندگی عصاره متانولی تام ژل گیاه صبرزرد بر فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز در مقایسه با دیگر عصاره‌ها به صورت معنی‌داری بیشتر، ولی در مقایسه با آکربوز کمتر بود. درصد مهاری عصاره متانولی و اتیل استاتی و متانولی بر فعالیت آنزیم آلفا گلوکوزیداز در مقایسه با دیگر فراکسیون‌ها و همچنین در مقایسه با آکربوز به صورت معنی‌داری بیشتر بود. در نتیجه عصاره تام متانولی ژل برگ گیاه صبر زرد اثر مهاری قوی‌تری روی آنزیم‌های آلفا آمیلاز و آلفا گلوکوزیداز در مقایسه با عصاره‌های هگزانی، کلروفرمی، اتیل استاتی داشت (۵).

IC_{50} آلوئه‌امودین و آنتراکینون از مشتقات آلوئه‌ورا، با رسم نمودار درصد بازدارندگی بر حسب غلظت نمونه، به دست آمد. IC_{50} برای آلوئه‌امودین برابر $0/118 \pm 0/009$ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و برای آنتراکینون برابر $0/05 \pm 0/002$ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر می‌باشد. به عبارت دیگر $0/118$ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر غلظتی است که در آن آلوئه‌امودین می‌تواند موجب مهار ۵۰ درصد از فعالیت آنزیم آلفاگلوکوزیداز شود و نیز $0/05$ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر غلظتی است که در آن آنتراکینون می‌تواند ۵۰ درصد از فعالیت آنزیم آلفاگلوکوزیداز را مهار کند. نتایج نشان دهنده آن است که آلوئه‌امودین با IC_{50} ۰/۱۱۸

(۱۴). در سال ۱۳۹۳ رجبی و همکاران خواص ضد میکروبی آلوه‌ورا بر باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی را مورد بررسی قرار دادند. عصاره‌ی گیاه به روش خیساندن تهیه و در غلظت‌های مختلف در محیط کشت مولر هینتون آگار تهیه و با انتشار دیسک آزمایش شد. MIC و MBC نیز به روش رقت متوالی تعیین گردید. نتایج نشان داد عصاره‌ی آلوه‌ورا دارای اثر بازدارندگی بر روی سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوک می‌باشد (۱۵). در سال ۱۳۹۳ محبی و همکاران اثر ضد میکروبی آلوه‌ورا را مورد بررسی قرار دادند. هدف از این پژوهش تعیین اثر ضد میکروبی آلوه‌ورا بر باکتری‌های استرپتوکوکوس پیوژنز PTCC ۱۴۴۷، کلبسیلا پنومونیه PTCC ۱۰۵۳، استافیلوکوکوس اورئوس PTCC ۱۳۳۷ و اشرشیاکلی ۱۳۳۰ PTCC بود. برای این منظور از آزمون انتشار دیسک به روش کربی - بوئر برای ارزیابی فعالیت ضد میکروبی استفاده گردید. نتایج آزمون نشان داد آلوه‌ورا در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌های رایج درمانی در شرایط آزمایشگاهی اثر بازدارندگی بیشتری روی برخی سویه‌های مورد مطالعه داشت (۱۶).

نتایج حاصل از تعیین قطر هاله عدم رشد در مورد آنتراکینون نشان می‌دهد که این ترکیب روی کاندیدا آلبیکانس و کلبسیلا پنومونیه بیشترین و روی سودوموناس آئروژینوزا کمترین تأثیر را داشته است ($p < 0/05$). بنابراین خواص ضد میکروبی آنتراکینون روی مخمر (کاندیدا آلبیکانس) بیشتر از باکتری (سودوموناس آئروژینوزا) بوده، که دلیل آن تفاوت در ساختار دیواره سلولی این میکروارگانیسم‌ها می‌باشد اما از آنجایی که این ترکیب بر کلبسیلا پنومونیه نیز اثر ضد میکروبی مشابه با مخمر دارد، به نظر می‌رسد؛ این خاصیت ضد میکروبی علاوه بر اثر بر دیواره سلولی ناشی از تداخل این ترکیب با آنزیم‌ها و نحوه عملکرد سلول میکروبی باشد. کاندیدا آلبیکانس یک قارچ و مخمر دو دیپلوئیدی است و معمولاً عامل ایجاد عفونت‌های برفک دهان و واژینیت قارچی است. کاندیدا آلبیکانس بصورت همزیست روی پوست و در دهان، دستگاه گوارش و دستگاه تناسلی می‌روید. طبق مطالعات انجام شده، شش مکانیسم تجزیه غشاء سیتوپلاسمی، برهم کنش با پروتئین‌های غشا، اختلال در غشا خارجی باکتری‌های گرم منفی با آزادسازی لیپوپلی‌ساکاریدها، بی‌ثباتی نیروی محرکه پروتئینی با نشستن یون‌ها، انعقاد محتوای سلولی و مهار سنتز آنزیم‌ها سبب بروز خاصیت ضد باکتری عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی می‌شود (۱۷).

محصولات طبیعی مانند عصاره‌های گیاهی، به صورت ترکیبات خالص و یا به عنوان عصاره استاندارد شده، با توجه

گروه‌های سولفیدریل یا واکنش‌های غیر اختصاصی با پروتئین‌های میکروبی ایجاد تغییرات در شیب اسیدیته (pH) و پتانسیل الکتریکی سبب تخریب در سیستم انرژی میکروارگانیسم‌ها می‌شود (۱۱).

نتایج حاصل از این پژوهش با نتایج مطالعات پیشین مطابقت دارد به گونه‌ای که در سال ۱۳۹۵ شاملو و همکاران بر اثر ضد میکروبی عصاره‌های آبی و اتانولی آلوه‌ورا روی باکتری‌های شاخص بیماری‌زا استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیاکلی، لیستریا مونوسی‌توزنز به روش انتشار دیسک در آگار و برات میکرودیولوشن مطالعه کردند. نتایج نشان داد باکتری‌های گرم مثبت نسبت به عصاره اتانولی آلوه‌ورا حساس‌تر از باکتری‌های گرم منفی می‌باشند. عصاره اتانولی آلوه‌ورا حداکثر فعالیت ضد باکتریایی را در مقابل باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و لیستریا مونوسی‌توزنز از خود نشان داد که حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره اتانولی در غلظت ۰/۱۳۲ روی استافیلوکوکوس اورئوس و غلظت ۰/۶۲۵ میلی-گرم بر میلی‌لیتر روی لیستریا مونوسی‌توزنز بود. حداکثر قطر هاله مهارکننده توسط عصاره اتانولی آلوه‌ورا روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس به قطر ۱۲ میلی‌متر و پس از آن روی لیستریا مونوسی‌توزنز با قطر ۸ میلی‌متر مشاهده شد، گمان می‌رود ترکیبات ضد باکتریایی مانند آنتراکینون و دهیدروکسی آنتراکینون به همراه ساپونین بیشترین نقش را در فعالیت ضد باکتریایی عصاره اتانولی آلوه‌ورا داشته باشند (۱۲). در سال ۲۰۱۳ نیز محققان فعالیت ضد میکروبی صبر زرد (آلوه‌ورا) را بررسی کردند. سویه‌های باکتریایی مورد استفاده در این پژوهش اشرشیاکلی، باسیلوس سوبتیلیس، سالمونلا تیفی، سودوموناس، کلبسیلا پنومونیه، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس بود. ژل آلوه‌ورا در حلال‌های مختلف آلی از جمله اتانول، متانول و آب مقطر تهیه شد. سپس با استفاده از روش انتشار در آگار فعالیت ضد باکتری ارزیابی شد. عصاره آلوه‌ورا از متانول حداکثر فعالیت ضد باکتری در مقایسه با دیگر عصاره حلال را نشان داد (۱۳). ترکیبات فنولی علاوه بر دیگر ترکیبات موجود در آلوه‌ورا می‌تواند عامل بازدارنده‌ای در رشد برخی از باکتری‌های خاص که موجب عفونت در بدن انسان است، گردد. مصرف خوراکی مداوم آلوه‌ورا از آنجا که دارای خواص ضد میکروبی می‌باشد برای درمان عفونت‌های میکروبی، مجاری معده و روده، ممانعت از تولید سم و فساد محصولات غذایی مؤثر خواهد بود. میکروارگانیسم‌ها همیشه با گیاهان برداشت شده، دام‌های کشتار شده و مواد اولیه خام صنایع غذایی همراه هستند

رادیکال آزاد، اثر ضد دیابتی و ضد میکروبی ژل برگ آلوئه‌ورا را در برابر سویه‌های باکتریایی *باسیلوس سرئوس*، *کلبسیلا پنومونیه*، *کاندیدا البیکانس* و *سودوموناس ائروژینوزا* مورد بررسی قرار گیرد. بررسی‌ها نشان می‌دهد آلوئه‌امودین و آنتراکینون ترکیباتی مناسب با اثرات ضد میکروبی در محصولات غذایی، دارویی و بهداشتی می‌باشند. همچنین ترکیباتی مناسب برای مهار آنزیم آلفاگلوکوزیداز می‌باشند که می‌توانند جایگزینی مناسب به جای داروهای دارای عوارض جانبی مورد استفاده در درمان دیابت باشند.

به تنوع شیمیایی‌شان فرصت‌های نامحدود برای کنترل رشد میکروبی و فساد اکسیداتیو ارائه می‌دهند. همانطور که روند بهداشت و درمان به سمت پیشگیری از بیماری حرکت می‌کند. فروش این محصولات بیشتر خواهد بود و مصرف‌کنندگان غذاهای با خواص دارویی بیشتر را به دلیل سالم بودنشان انتخاب خواهند کرد (۱۸).

با توجه به اینکه اثر ضد میکروبی، ضد دیابتی و آنتی-اکسیدانی برخی از انواع گیاهان سنتی در تحقیقات پیشین مورد توجه قرار گرفته است، بر آن شدیم تا قابلیت مهار

• References

- Abdul Aliyan M. Aloe vera. Hormozgan Province Agricultural Jihad Newsletter. 1389; 41. p. 6. [In persian].
- Laxmipriya NP, Radha M.H. Evaluation of biological properties and clinical effectiveness of aloe vera: A systematic review. eJTCM. 2015; 5:21-26.
- Manvitha K, Bidya B. Aloe vera: a wonder plant its history, cultivation and medicinal uses. J pharmacog phytochem 2014; 2,5: 85-88.
- Re R, Pellegrin N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radical Bio Med 1999; 26, 1231-1237.
- Fallah Hosseini H, Asghari B, Asgarpanah J, Babaei Zarch A, Ehbali Zarch T. The effect of polar and nonpolar extracts of Aloe vera L. gel on the activity of α -amylase and alpha-glucosidase enzymes in the external environment. J Med Plants 1392; 12 (4), 169-160. [In persian].
- Yang L, Weiss TM, Lehrer RI, Huang HW. Crystallization of antimicrobial pores in membranes: magainin and protegrin. Biophys J 2000; 79(4): 2002-2009.
- Raksha B, Pooja S, Babu S. Bioactive compounds and medicinal properties of aloe vera L.: An update. J plant sci 2014; 2(3):102-107.
- Arosio B, Gagliano N, Fusaro LM.P, Parmeggiani L, Tagliabue j, Caletti P, Castri DD, Moscheni C, Annoni G. Aloe-Emodin quinone pretreatment reduces acute liver injury induced by carbon tetrachloride. Pharmacol Toxicol 2000; 87:229-233.
- Mohammadi H, Mehdiyan Mahfrozzi M, Ashournejad G. Climate feasibility study of Aloe Vera cultivar in Bushehr province. Geographical studies of arid regions. Number nine and ten. 1391; P. 17-1. [In persian].
- Vargas FR, Díaz YH. Carbonell K.M. Antioxidant and Scavenging Activity of Emodin, Aloe-Emodin, and Rhein on Free-Radical and Reactive Oxygen Species. Pharma Biol 2004; 42 (4-5) 342-348.
- Pokorný J. Are Natural Antioxidants Better – and Safer – than Synthetic Antioxidants. Euro J Lipid Sci Technol 2007; 109(6): 629-42.
- Shamloo M, Yavormanesh M. Evaluation of antimicrobial activity of aqueous and ethanolic extracts of aloe vera on pathogenic bacteria (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*). J. Food Sci. Technol 1395; 55(13) 159-149. [In persian].
- Sahu PK, Giri DD, Singh R, Pandey P, Gupta S, Shrivastava AK, Kumar A, Pandey KD. Therapeutic and medicinal uses of aloe vera: a review. Pharmacol. Pharm 2013; 4:599-610.
- Sadrnia M, Arjomandzadegan M. Comparative study on the effects of Aloe vera extract in clinical strains of *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella*, *Staphylococcus epidermidis* and *Escherichia coli* compared to antibiotics of choice. Arak Med University J (AMUJ). 2014; 17(87): 39-46.
- Rajabi M, Habibipour R. Vahaqati Aztepour S. Vahaqati Aztepour, S. Antimicrobial effect of Aloe vera and *Stachys inflata* on gram-positive and gram-negative bacteria in outline conditions. J Med Sci 1393; 8(3) 22-15. [In persian].
- Mohibi M, Alizadeh Behbahani B, Ansari Far E, Noshad M. Antimicrobial effects of aloe vera and chitosan in vitro. J Infec Dis and Trop Med 1393; 67: 21-29. [In persian].
- Al-Fatimi M, Wurster M, Schroder G, Lindequist U. Antioxidant, antimicrobial and cytotoxic activities of selected medicinal plants from Yemen. J Ethnopharmacol 2007; 111: 657-666.
- Negi PS. Plant extracts for the control of bacterial growth: Efficacy, stability and safety issues for food application. Int J Food Microbiol 2012; 156: 7-17.

Evaluation of Antioxidant, Alpha-Glucosidase Enzyme Inhibitory and Antimicrobial Activities of Anthraquinone and Aloe-emodin

Ghaznavi M¹, Moslehisad M^{2*}, Ghamari F³

1. Nutrition and Food Sciences Research Center, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran
2- *Corresponding author: Department of Food Science and Technology, Safadasht Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
Email: moslehisad@safaiau.ac.ir
3- Assistant Prof, Department of science, Payame Noor University, Tehran, Iran

Received 1 May, 2018

Accepted 26 Aug, 2016

Background and Objectives: Aloe-vera is one of the most valuable medicinal plants in the world. The aim of this study was to evaluate the antioxidant, alpha-glucosidase inhibitory and antimicrobial properties of aloe-vera derivatives including aloe-emodin and anthraquinone.

Materials & Methods: Antioxidant activity of aloe-emodin and anthraquinone was determined using ABTS method. Antimicrobial activity of aloe-emodin and anthraquinone was evaluated against *Bacillus cereus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Candida albicans*, and *Pseudomonas aeruginosa*. To determine the inhibition of alpha-glucosidase enzyme, pNPG(*p*-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside) was used as substrate. Enzymatic activity was determined by measuring the absorption of para-nitrophenol produced in the solution.

Results: The results showed that aloe-emodin and anthraquinone do not have an antioxidant effect at 0.05mg/mL concentration. The results of the alpha-glucosidase enzyme inhibitory test for aloe-emodin and anthraquinone aloe vera also showed a positive and significant correlation between the sample's concentration and its alpha-glucosidase inhibitory activity ($p < 0.05$). At concentrations of 0.18 and 0.05mg/mL aloe-emodin and anthraquinone had a 50% inhibitory effect on the alpha-glucosidase enzyme. Therefore, the inhibitory effect of anthraquinone was higher than that of aloe-emodin. In microbial test, the diameter of the non-growth zone indicated that aloe-emodin had the highest effect on *Bacillus cereus* and the least effect on *Pseudomonas aeruginosa* ($p < 0.05$). Also anthraquinone had the highest effect on *Candida albicans* and *Klebsiella pneumoniae* and the least effect on *Pseudomonas aeruginosa* ($p < 0.05$). According to the results of alpha-glucosidase inhibitor test, anthraquinone is a potent inhibitor, and the antimicrobial activity of anthraquinone is higher than that of aloe-emodin.

Conclusion: Considering the favorable antimicrobial and inhibitory properties of alpha-glucosidase, it is recommended to use it as a natural additive in food industry.

Keywords: Aloe vera, Aloe-emodin, Anthraquinone, Antioxidant properties, Alpha-glucosidase inhibitory, Antimicrobial activity