

بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی، 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 آنتی اکسیدانی، مهار آنزیم آلفاگلوکوزیداز و خاصیت ضد میکروبی مشتقات آلوئهورا از جمله آلوئهامودین و آنتراکینون می باشد.

مواد و روش ها: فعالیت آنتی اکسیدانی آلوئهامودین و آنتراکینون با استفاده از روش کاهش رنگ رادیکال ABTS انجام شد. قابلیت ضد میکروبی آلوئهامودین و آنتراکینون در برابر سویه های 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 سوپسترا استفاده شد. فعالیت آنزیم با سنجش میزان جذب پرا-نیتروفنول تولید شده در محلول معین شد.

یافته ها: نتایج نشان داد؛ آلوئهامودین و آنتراکینون در غلظت ۰/۰۵ میلی گرم بر میلی لیتر فاقد خاصیت آنتی اکسیدانی (مهار رادیکال آزاد) است. نتایج مهار آنزیم آلفاگلوکوزیداز آلوئهامودین و آنتراکینون نشان داد با افزایش غلظت نمونه درصد مهار کنندگی آلفاگلوکوزیداز افزایش می یابد ($p < 0/05$). درصد مهار کنندگی ۵۰ درصدی آنزیم آلفاگلوکوزیداز آلوئهامودین ۰/۱۸ و آنتراکینون ۰/۰۵ میلی گرم بر میلی لیتر است. بنابراین خاصیت مهار کنندگی آنتراکینون از آلوئهامودین بیشتر است. در آزمون میکروبی نتایج حاصل از تعیین قطر هاله عدم رشد نشان داد که آلوئه-امودین 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 مهار کنندگی قوی تری در برابر آنزیم آلفاگلوکوزیداز نسبت به آلوئه-امودین از خود نشان می دهد.

نتیجه گیری: 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 می شود.

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

• مقدمه

نخستین بار مصری ها این گیاه را برای درمان زخم ها، سوختگی ها و عفونت ها به کار می گرفتند. شکارچیان آفریقایی از ژل آن بر بدن خود می مالیدند تا عرق نکنند. قرنهای مختلف برگهای گیاه آلوئهورا به طور گسترده ای در کشورهای مختلف به عنوان دارو مصرف می شود اثرات درمانی مختلفی که برای این گیاه عنوان شده غالباً بر اساس سابقه طب سنتی است اما

صبر زرد یا آلوئهورا با ظاهر بوته ای انبوه، پایا و همیشه سبز از جمله گیاهان دارویی با ارزش دنیاست، نام این گیاه از زبان عربی به سایر زبان ها آمده است. این گیاه بومی آفریقا است که به آن زنبق بیابانی یا صحرایی هم می گویند و در برخی کشورها با نام هایی چون گیاه جاودانگی گیاه دارویی، گیاه ملکه نیز نامیده می شود؛ وقتی برگ آن بریده شود، ژلی از داخل گیاه خارج می شود که اثر دارویی خارق العاده ای دارد.

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

آلوه‌ورا 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، آلوه‌امودین، لیگنین، آلوه‌امودین، ساپونین‌ها، استرول‌ها، آمینو اسیدها، سالیسیلیک‌اسید، کلسیم‌اکسالات، باربالوئین، سولفات‌ها، تانن‌ها و استروئیدها است. ترکیباتی که در ژل آلوه‌ورا 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 آلوه‌ورا موجود هستند، آلوئین ملینی بسیار قوی است. ویتامین‌های موجود در آلوه‌ورا 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 آلوه‌ورا می‌باشد. مواد معدنی که در آلوه‌ورا 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 آلوه‌ورا قند خون را در انسان کاهش می‌دهد. از آنجا که آلوه‌ورا 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 آلوه‌ورا 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 آلوه‌ورا 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 آلوه‌ورا حاوی آنتی‌اکسیدان‌های قویست که به خانواده‌ی بزرگ و

شناخته‌شده‌ی پلی‌فنول‌ها تعلق دارد. این پلی‌فنول به همراه دیگر ترکیبات موجود در آلوه‌ورا می‌تواند عامل بازدارنده‌ای رشد برخی از باکتری‌های عفونت‌زا گردد. گیاه آلوه‌ورا 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 آلوه‌ورا 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 آلوه‌ورا از جمله آلوه‌امودین و آنتراکینون می‌باشد.

• مواد و روش‌ها

تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی: فعالیت آنتی‌اکسیدانی آلوه‌امودین 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 الایزا 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 آلوه‌امودین 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

جدول ۱. مقایسه میانگین قطر هاله عدم رشد (میلی متر) 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 معنی دار ندارند.

نتایج حاصل از تعیین قطر هاله عدم رشد نشان می دهد که آلوده امودین 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 آلوده امودین و آنتراکینون بر سودوموناس آئروژینوزا اختلاف معنی داری وجود ندارند ($p \geq 0/05$). در حالی که بین خاصیت ضد میکروبی دو ترکیب علیه باسیلوس سرئوس، کاندیدا/آلبیکانس و کلبسیلا پنومونیه اختلاف معنی داری دارند ($p < 0/05$).

نتایج تعیین درصد مهار کنندگی آلفاگلوکوزیداز: در این پژوهش قدرت مهار کنندگی آلوده امودین و آنتراکینون از مشتقات گیاه آلوده را روی آنزیم آلفاگلوکوزیداز مورد بررسی قرار گرفت. جدول ۲ روند تأثیر غلظت آلوده امودین بر درصد مهار کنندگی آلفاگلوکوزیداز را مورد بررسی قرار می دهد. جدول ۲ نشان می دهد بین غلظت های مختلف از آلوده امودین اختلاف معنی دار وجود دارد ($p < 0/05$).

جدول ۲. تأثیر غلظت های مختلف آلوده امودین بر درصد مهار کنندگی 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، (میانگین های ± انحراف معیار) که دارای حروف کوچک مشترک هستند، در سطح ۰/۰۵ اختلاف معنی دار ندارند.

نمودن ۸۰ میکرو لیتر محلول سدیم کرینات $M 0/2$ 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 غلظت ها در ۳ تکرار انجام شد. درصد مهار آنزیم آلفاگلوکوزیداز توسط نمونه ها به کمک فرمول زیر محاسبه شد (۵).

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

بررسی فعالیت ضد میکروبی: قابلیت ضد میکروبی آلوده امودین و آنتراکینون در برابر سویه های باکتریایی باسیلوس سرئوس، کلبسیلا پنومونیه، کاندیدا/آلبیکانس، سودوموناس آئروژینوزا مورد ارزیابی قرار گرفت. سویه های باکتریایی از کلکسیون میکروبی سازمان پژوهش های علمی و صنعتی ایران تهیه شد. به منظور تعیین قابلیت ضد میکروبی کشت ۲۴ ساعته سویه های 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 گرمخانه گذاری 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 سویه های باکتریایی است (۶).

تجزیه و تحلیل آماری: جهت یافتن رابطه منطقی بین متغیرها و تجزیه و تحلیل داده ها از جدول تجزیه و تحلیل آنالیز واریانس (ANOVA) استفاده شد و در صورت معنی دار بودن داده ها 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 داده ها $\pm SE$) با سطح اطمینان ۰/۰۵، گزارش شد.

• یافته ها

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

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 میلی گرم بر میلی لیتر)
۰/۱	$87/44 \pm 6/72^a$
۰/۰۵	$56/40 \pm 5/07^b$
۰/۰۲۵	$25/44 \pm 2/38^c$
۰/۰۱۲۵	$18/51 \pm 2/73^c$
۰/۰۰۶۲۵	$16/02 \pm 2/94^c$
۰/۰۰۳۱۲۵	$22/45 \pm 0/65^c$

در هر ستون، (میانگین‌هایی $\pm$ 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 میلی گرم بر میلی لیتر است. بنابراین خاصیت مهارکنندگی آنتراکینون از آلوئه‌امودین بیشتر است.

جدول ۴. مقایسه خاصیت مهارکنندگی ۵۰ درصدی آلفاگلوکوزیداز آلوئه

امودین و آنتراکینون	
ترکیب	IC50
آلوئه‌امودین (میلی گرم بر میلی لیتر)	$0/18 \pm 0/009^b$
آنتراکینون (میلی گرم بر میلی لیتر)	$0/05 \pm 0/003^a$

در هر ستون، (میانگین‌هایی $\pm$ 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 پلی ساکاریدها 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

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 آنتی اکسیدان‌ها را برای بدن فراهم می‌کند که می‌توانند سیستم ایمنی بدن را بهبود بخشیده و تقویت کنند (۹).

اما در پژوهش حاضر و بر اساس نتایج آزمون آنتی اکسیدانی، 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 حداکثر غلظت ۰/۰۵ میلی گرم بر میلی لیتر 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 میلی گرم بر میلی لیتر با درصد مهارکنندگی ۵۷/۸۰ دارای بیشترین خاصیت مهارکنندگی آنزیم آلفاگلوکوزیداز می‌باشد. جدول ۳ نشان می‌دهد؛ آنتراکینون در غلظت ۰/۱ میلی گرم بر میلی لیتر با درصد مهارکنندگی ۸۷/۴۴ دارای بیشترین خاصیت مهارکنندگی آنزیم آلفاگلوکوزیداز می‌باشد. نتایج این دو نمودار نشان‌دهنده

میلی گرم بر میلی لیتر دارای خاصیت مهارکنندگی کمتری نسبت به آنتراکینون با IC_{50} ۰/۰۵ میلی گرم بر میلی لیتر می باشد.

آنزیم های آلفاگلوکوزیداز و آلفا آمیلاز دو آنزیم مهم در مجاری گوارشی انسان هستند که پلی ساکاریدهای موجود در غذا را هیدرولیز و تبدیل به قندهای ساده قابل جذب به بدن می کنند. 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 صبرزد هنوز مشخص نیست. ولی گزارش شده است که ترکیباتی که دارای خواص آنتی-اکسیدانی هستند با مهار رادیکال آزاد اکسیژن موجب مهار آنزیم آلفاگلوکوزیداز می شوند. خواص آنتی اکسیدانی از ژل برگ گیاه صبرزد در چند گزارش منتشر شده است. در دو گزارش تجویز ژل برگ گیاه صبرزد به موش های دیابتی موجب بهبود در سطح گلوکز خون شده است و محققان مدعی هستند که ژل برگ گیاه صبرزد 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.

آزمون های میکروبی: در سال های اخیر تحقیقات بر روی ترکیبات دارای خواص ضد میکروبی به ویژه از منابع طبیعی از رشد فزاینده ای 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 باکتری های گرم منفی می باشد که گمان می رود این پدیده به علت تحمل ذاتی باکتری های گرم منفی یا ساختار ویژه دیواره سلولی در باکتری های گرم منفی و استحکام این دیواره نسبت به باکتری های 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 گروه های هیدروکسیل روی حلقه فنولی (همانند هیدروکربن های ترپن ها) دارد که با اثر روی غشاء سلولی میکروارگانیسم ها سبب افزایش نفوذپذیری و تورم سلولی می شود. همچنین با اثر بر روی آنزیم های 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.

پژوهش های پیشین نیز نشان داده اند که آلوئهورا قند خون را در انسان کاهش می دهد. از آنجا که آلوئهورا قادر است آنزیم های موجود در پانکراس را فعال نماید می تواند در افرادی که دچار دیابت و هیپوگلیسمی هستند به تعادل و تنظیم قند خون کمک نماید. در سال ۱۳۹۲ فلاح حسینی و همکاران اثر عصاره های قطبی و غیرقطبی ژل برگ گیاه صبرزد بر فعالیت آنزیم های آلفا آمیلاز و آلفاگلوکوزیداز را بررسی کردند. آنزیم های آلفا آمیلاز و آلفاگلوکوزیداز در مجاری گوارشی نقش مهمی در فرآیند تبدیل پلی ساکاریدها به گلوکز ایفا می کنند. مهار فعالیت این دو آنزیم یکی از روشهای پیشگیری از افزایش گلوکز خون بعد از غذا، در بیماران دیابتی می باشد. از پودر ژل برگ صبرزد توسط حلال های هگزان، کلروفرم، اتیل استات و متانول اجزای مختلف تهیه شد. اثر بازدارندگی عصاره های به دست آمده بر فعالیت آنزیم های آلفا آمیلاز و آلفاگلوکوزیداز بررسی شد. در این پژوهش، غلظتی از هر عصاره که برای مهار ۵۰ درصد از فعالیت آنزیم ها مورد نیاز است به دست آمد و با مقدار مورد نیاز از آکاربوز، به عنوان کنترل مثبت مقایسه شد. نتایج این تحقیق نشان داد که درصد مهارکنندگی عصاره متانولی تام ژل گیاه صبرزد بر فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز در مقایسه با دیگر عصاره ها به صورت معنی داری بیشتر، ولی در مقایسه با آکاربوز کمتر بود. درصد مهاری عصاره متانولی و اتیل استاتی و متانولی بر فعالیت آنزیم آلفا گلوکوزیداز در مقایسه با دیگر فراکسیون ها و همچنین در مقایسه با آکاربوز به صورت معنی داری بیشتر بود. در نتیجه عصاره تام متانولی ژل برگ گیاه صبرزد اثر مهاری قوی تری روی آنزیم های آلفا آمیلاز و آلفا گلوکوزیداز در مقایسه با عصاره های 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 $0/18 \pm 0/009$ میلی گرم بر میلی لیتر و برای آنتراکینون برابر $0/05 \pm 0/002$ میلی گرم بر میلی لیتر می باشد. به عبارت دیگر $0/18$ میلی گرم بر میلی لیتر غلظتی است که در آن آلوئهامودین می تواند موجب مهار ۵۰ درصد از فعالیت آنزیم آلفاگلوکوزیداز شود و نیز $0/05$ میلی گرم بر میلی لیتر غلظتی است که در آن آنتراکینون می تواند ۵۰ درصد از فعالیت آنزیم آلفاگلوکوزیداز را مهار کند. نتایج نشان دهنده آن است که آلوئهامودین با IC_{50} ۰/۱۸

(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 شرشیاکلی 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 غشاء، اختلال در غشا خارجی باکتری‌های گرم منفی با آزادسازی لیپولی ساکاریدها، 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، / شرشیاکلی، لیستریا مونوسیژنز به روش انتشار دیسک در آگار و براث 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 مونوسیژنز 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 مونوسیژنز بود. حداکثر قطر هاله مهارکننده توسط عصاره اتانولی آلوه‌ورا روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس به قطر ۱۲ میلی‌متر و پس از آن روی لیستریا مونوسیژنز 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 / شرشیاکلی، 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

1. Abdul Aliyan M. Aloe vera. Hormozgan Province Agricultural Jihad Newsletter. 1389; 41. p. 6. [In persian].
2. Laxmipriya NP, Radha M.H. Evaluation of biological properties and clinical effectiveness of aloe vera: A systematic review. eJTCM. 2015; 5:21-26.
3. Manvitha K, Bidya B. Aloe vera: a wonder plant it is history, cultivation and medicinal uses. J pharmacog phytochem 2014; 2,5: 85-88.
4. 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.
5. 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].
6. Yang L, Weiss TM, Lehrer RI, Huang HW. Crystallization of antimicrobial pores in membranes: magainin and protegrin. Biophys J 2000; 79(4): 2002-2009.
7. 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.
8. 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.
9. 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].
10. 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.
11. Pokorný J. Are Natural Antioxidants Better – and Safer – than Synthetic Antioxidants. Euro J Lipid Sci Technol 2007; 109(6): 629-42.
12. 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].
13. 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.
14. 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.
15. 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].
16. 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].
17. 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.
18. 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, Moslehishad 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: moslehishad@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 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