مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
دوره ۲۳، شماره ۱۱، بهمن ۱۳۹۴
صفحه: ۱۰۶۲-۱۰۴۹

Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences
Vol. 23, No.11, Feb 2016
Pages: 1049-1062

بررسی بیوانفورماتیکی و آزمایشگاهی خاصیت ضدباکتریایی عصاره متانولی گیاه جاشیر(Prangos ferulacea) بر فرم منفرد و بیوفیلمی استرپتوکوکوس موتانس

مختار نصرتی[۱]، ماندانا بهبهانی*[۲]

چکیده

مقدمه: بررسی اثر بخشی ترکیبات گیاهی در زمینه بیماری‌های دهان و دندان از اهمیت بالایی برخوردار است. هدف از این پژوهش بررسی بیوانفورماتیکی و آزمایشگاهی خواص ضدباکتریایی عصاره متانولی Prangos ferulacea بر فرم منفرد و بیوفیلمی استرپتوکوکوس موتانس است.

روش بررسی: در این پژوهش تجربی پس از جمع‌آوری و تعیین گونه گیاه، نمونه‌های گیاهی خشک و سپس آسیاب شدند و عصاره متانولی آنها با استفاده از روش غوطه‌وری تهیه شد. به منظور بررسی خواص ضدباکتریایی و قابلیت ضدبیوفیلمی عصاره‌ها به ترتیب روش انتشار دیسک و آزمون میکروتیتر مورد استفاده قرار گرفت. جهت بررسی بیوانفورماتیکی نیز از روش داکینگ مولکولی بین آنزیم گلوکوزیل ترانسفراز استرپتوکوکوس موتانس و ۲۰ ترکیب گزارش شده از گیاه مذکور با استفاده از نرم‌افزار iGemdock 2.1 استفاده شد. آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار spss 19 و آزمون‌های آنالیز واریانس و دانکن انجام شد.

نتایج: نتایج نشان داد که عصاره گیاه مذکور به ویژه ریشه آن در غلظت‌های ۲۵۰-۳۰۰۰µg/ml دارای خاصیت ضدباکتری بالایی بر فرم منفرد باکتری مورد مطالعه بوده، موجب مهار تشکیل فرم بیوفیلمی می‌شود، اما توان تخریب بیوفیلم باکتری را ندارد. حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت‌کشندگی عصاره‌ها به ترتیب در محدوده ۲۵۰-۱۰۰۰ µg/ml و ۲۵۰-۳۰۰۰ µg/ml تعیین گردید. بررسی بیوانفورماتیکی نیز نشان داد که ترکیبات مورد بررسی به طور موثری قابلیت مهار گلوکوزیل ترانسفراز را داشته که در این بین قابلیت مهار آلفا پینن، پسورالن ولیمونن از سایر ترکیب‌ها بیشتر بود.

نتیجه‌گیری: نتایج حاصل از این پژوهش نشان که عصاره متانولی P.ferulacea دارای اثرات ضدباکتریایی قابل توجهی بر فرم منفرد استرپتوکوکوس موتانس بوده اما بر بیوفیلم‌های تشکیل شده این باکتری تاثیر چندانی ندارد.

واژه‌های کلیدی: استرپتوکوکوس موتانس، بیوفیلم ،گیاه جاشیر، گلوکوزیل ترانسفراز، خواص ضدباکتریایی

۱- کارشناس ارشد، گروه بیوتکنولوژی میکروبی، دانشگاه اصفهان
۲- دانشیار، گروه بیوتکنولوژی، دانشگاه اصفهان
*(نویسنده مسئول)؛ تلفن: ۰۳۱-۳۷۹۳۴۳۲۷، پست الکترونیکی: ma_behbahani@yahoo.com

تاریخ دریافت ۱۳۹۴/۳/۲۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۹/۲۶

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-07-10]

مقدمه

امروزه بیماری‌های دهان و دندان به ویژه پوسیدگی دندان از جمله معضلات مهم پیشروی بهداشت عمومی در کشورهای مختلف است. اگرچه پوسیدگی دندان عارضه‌ای چند عاملی است اما بیوفیلم‌های استرپتوکوکوس موتانس عامل اصلی آن بوده و سبب ایجاد ظاهر حفره‌دار دندان‌های پوسیده می‌شود(۱). استرپتوکوکوس موتانس باکتری گرم مثبت، دارای کپسول، تولیدکننده اسید، پلیمر خارج سلولی گلوکان و یکی از کوکسی‌های میکروفلور دهان می‌باشد. اگرچه اثر بخشی برخی ترکیبات آنتی‌بیوتیکی از جمله پنی‌سیلین و اریترومایسین بر جلوگیری از رشد و ایجاد پوسیدگی توسط این باکتری درشرایط آزمایشگاهی و حیوانات مدل به اثبات تائید شده است اما به علت احتمال ایجاد واکنش‌های زدیاد، حساسیت شدید، مقرون به‌صرفه نبودن و احتمال از بین رفتن باکتری‌های مفید دیگر و برهم‌خوردن تعادل میکروفلور طبیعی دهان امکان استفاده از آنها برای انسان وجود ندارد(۲،۳). لذا پژوهش‌های زیادی برای شناسایی و معرفی ترکیبات مختلف با اثرات ضدباکتریایی بر استرپتوکوکوس موتانس انجام شده است که عمده‌ترین اهداف آنها دست‌یابی به ترکیبات مهارکننده رشد باکتری، ممانعت‌کننده از ایجاد بیوفیلم و یا تخریب بیوفیلم ایجاد شده توسط این باکتری می‌باشد که در این بین ترکیبات طبیعی به ویژه ترکیبات گیاهی به علت منشا طبیعی، ارزان و در دسترس بودن از جایگاه ویژه‌ای برخوردارند(۴).

Prangos ferulacea با نام فارسی جاشیر گیاهی دارویی از خانواده چتریان است که اثرات متعدد دارویی آن شامل خواص ضدسرطانی، ضدویروسی، ضدباکتریایی، ضداکسیدانی و ضدالتهابی در بررسی‌های مختلف به اثبات رسیده است. در طب سنتی از جاشیر در تسکین درد دندان و نیز سفیدکردن دندان‌ها استفاده شده و به واسطه دارا بودن طیف وسیعی از متابولیت‌های گیاهی طی سال‌های اخیر پژوهش‌های زیادی جهت بررسی خواص درمانی و معرفی ترکیبات دارویی جدید از این گیاه انجام شده است(۵،۶).

اگرچه تاکنون ترکیبات گیاهی زیادی با درجات اثربخشی مختلف و مکانیسم‌های ضدباکتریایی متنوع بر فرم منفرد استرپتوکوکوس موتانس معرفی شده، اما هدف بسیاری از پژوهش‌های انجام گرفته در حوزه شناسایی و معرفی ترکیبات موثر در کاهش و یا ممانعت از ایجاد پوسیدگی دندان دستیابی به ترکیباتی است که به طور موثری می‌توانند آنزیم گلوکوزیل ترانسفراز(گلوکان سوکراز) این باکتری را مهار نمایند، تا بدین وسیله از ایجاد ساختارهای بیوفیلمی و به دنبال آن از ایجاد و پیشرفت پوسیدگی و تخریب دندان جلوگیری کنند(۷).

گلوکوزیل ترانسفرازآنزیم کلیدی در کلونیزاسیون استرپتوکوکوس موتانس بر سطح دندان به واسطه تولید پلیمر خارج سلولی گلوکان ازواحدهای مونومری سوکروز می‌باشد. سه نوع مختلف این آنزیم شامل Glucosyltransferases B,C,D به وسیله استرپتوکوکوس موتانس تولید می‌شود که مسئول تولید انواع مختلف محلول و غیرمحلول پلیمر گلوکان می‌باشند(۸).

یکی از راهکارهای پیش‌بینی اثر بخشی ترکیبات مختلف در مهار آنزیم ذکر شده و شناسایی محل اثر این ترکیبات و نیز به منظور شناسایی ساز و کارهای افزایش میزان تاثیر ترکیبات مهارکننده استفاده از ابزارهای مختلف بیوانفورماتیکی است. یکی از مهمترین ابزارهای بیوانفورماتیکی دراین خصوص و نیز در طراحی دارو و شناسایی محل اثر ترکیبات مختلف داکینگ مولکولی است. در این روش بیوانفورماتیکی برهمکنش مجازی بین ترکیبات دارویی و مولکول‌های هدف بررسی شده و میانکنش‌های موثر و نیز قدرت میانکنش‌های محتمل مشخص می‌شود. بنابراین این تکنیک می‌تواند به عنوان روشی مکمل در بررسی اثر بخشی ترکیبات دارویی مختلف مورد استفاده قرار گیرد(۹).

هدف از پژوهش حاضر بررسی آزمایشگاهی و بیوانفورماتیکی (داکینگ مولکولی) خواص ضدباکتریایی عصاره متانولی گیاه دارویی P.ferulacea بر فرم منفرد و بیوفیلمی استرپتوکوکوس موتانس بود.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-07-10]

روش بررسی

بخش آزمایشگاهی

جمع‌آوری نمونه‌ها، تعیین گونه و تهیه عصاره متانولی:

نمونه‌های گیاهی مورد نظر در اردیبهشت و خرداد ۱۳۹۳ طی سه مرحله قبل از گل‌دهی، گل‌دهی و تولید بذر از شمال سنندج جمع‌آوری و در مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی کردستان مورد تایید قرار گرفت. سپس بخش‌های مختلف گیاه جاشیر جدا شده و در سایه خشک گردید.نمونه‌های خشک شده سپس آسیاب شده و ۵۰ گرم از پودر حاصل از هر بخش به طور جداگانه در ۱۵۰ میلی‌لیتر متانول ۹۶ درصد حل شده و به مدت ۷۲ ساعت بر روی شیکر با دور(rpm) ۱۶۰ قرار گرفتند. پس از مدت مذکور عصاره‌های حاصل به وسیله کاغذ صافی، صاف شده و جهت تغلیظ به روتاری ۴۵ درجه منتقل شدند و در نهایت پس از تغلیظ عصاره‌ها به وسیله فریز درایر خشک شدند. در نهایت عصاره‌های خشک شده به ظروف پلاستیکی استریل منتقل و در دمای ۴ درجه نگهداری شدند. به منظور تهیه غلظت‌های مختلف از عصاره‌های حاصل میزان ۰/۰۱ گرم از عصاره‌ها در ۱۰۰۰ میکرولیتر دی متیل سولفوکساید(Dimethyl Sulfoxide) حل شده و پس از سترون‌سازی با عبور از فیلترهای ۰/۴۵ میکرونی به وسیله ی بافر فسفات استریل(PBS) به غلظت‌های ۳۰۰۰، ۲۵۰۰، ۲۰۰۰، ۱۵۰۰، ۱۰۰۰، ۷۵۰، ۵۰۰، ۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر رقیق شدند(۱۰).

سویه مورد مطالعه و آزمون‌های ضد باکتریایی بر فرم منفرد استرپتوکوکوس موتانس:

سویه باکتریایی مورد مطالعه در این پژوهش استرپتوکوکوس موتانس(PTCC 1683) بود. آمپول لیوفیلیزه سویه مذکور پس از باز شدن در شرایط استریل زیر لامینار فلو به محیط مایع(Brain-heart infusion(BHI منتقل و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه قرار داده شد. سپس از محیط مایع کشت چمنی بر روی محیط BHI آگار تهیه شده و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه قرارداده شد. تا از کشت ذکر شده به عنوان منبع باکتری مورد آزمون استفاده گردد(۱۱).

جهت بررسی خواص ضدباکتریایی از روش انتشار دیسک استفاده شد. به این منظور از باکتری مورد نظر چند کلنی به محیط BHI مایع منتقل کرده و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه قرار داده شد. پس از مدت مذکور با استفاده از روش رقیق‌سازی و تعیین کدورت از سویه مذکور سوسپانسیونی معادل ۰/۵ مک فارلند($1/5\times10^8$ CFU/ml) تهیه نموده و به وسیله سواپ استریل بر سطح BHI آگار پخش شد. سپس به دیسک‌های کاغذی استریل میزان ۲۰ میکرولیتر از عصاره‌های حاصل از بخش‌های مختلف گیاه جاشیر در غلظت‌های ذکر شده اضافه گردید و هر کدام از دیسک‌های مورد نظر بر سطح محیط کشت داده شده قرار گرفته و در نهایت به مدت ۲۴ ساعت به انکوباتور ۳۷ درجه منتقل شدند.

در این پژوهش از آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد اریترومایسین و پنی‌سیلین، به عنوان کنترل مثبت و از DMSO به عنوان کنترل منفی استفاده شد. در نهایت پس از طی مدت گرماگذاری ذکر شده هاله عدم رشد ناشی از عصاره‌های گیاهی به وسیله کولیس اندازه‌گیری شد. در این مطالعه هر کدام از غلظت‌ها برای تمامی باکتری‌های های مورد مطالعه در ۳ تکرار انجام شده و میانگین و انحراف معیار نیز محاسبه گردید. جهت تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی(MIC) از روش ریز رقیق‌سازی در میکروپلیت استفاده شد. به این منظور در هر کدام از چاهک‌های میکروپلیت ۹۶ خانه‌ای ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت BHI ریخته سپس به هر کدام از چاهک‌ها ۵۰ میکرولیتر از عصاره بخش‌های مختلف جاشیر با غلظت‌های ۳۰۰۰-۳۱/۲ اضافه نموده و در نهایت به تمامی چاهک‌ها ۵۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی معادل ۰/۵ مک فارلند اضافه شد. همچنین برای کنترل مثبت میزان ۵۰ میکرولیتر از محلول‌های آنتی‌بیوتیکی ذکر شده در محدوده غلظتی ۳۲۰۰-۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر و برای کنترل منفی ۵۰ میکرولیتر از DMSO ۵۰ درصد به همراه ۵۰ میکرولیتر سوسپانسیون باکتریایی به چاهک‌های کنترل اضافه شد(۱۱).

پس از ۲۴ ساعت گرماگذاری میکروپلیت در دمای ۳۷ درجه جذب تمای چاهک‌ها به وسیله الایزا خوان در ۶۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شده و اولین چاهک‌هایی که حاوی عصاره گیاهی بوده و جذبی در ۶۲۰ نانومتر نداشتند به عنوان MIC

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-07-10]

در نظر گرفته شد. به منظور تعیین حداقل غلظت‌کشندگی(MBC) نیز ۵۰ میکرولیتر از چاهک‌هایی که در آنها رشد باکتری صورت نگرفته به محیط مولر هینتون آگار منتقل و پس از پخش بوسیله سواپ استریل پلیت‌هایی که حاوی کمترین غلظت از عصاره‌ها بوده و در آن رشدی مشاهده نشد به عنوان MBC در نظر گرفته شد.

آزمون بررسی مهار تشکیل فرم بیوفیلمی استرپتوکوکوس موتانس:

جهت بررسی قابلیت مهار تشکیل فرم بیوفیلمی استرپتوکوکوس موتانس بوسیله عصاره‌های گیاهی از روش ریز رقیق‌سازی در میکروپلیت و رنگ‌آمیزی با استفاده از کریستال ویولت استفاده شد. بدین منظور به هر کدام از چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه ۳۰ میکرولیتر از محیط کشت BHI استریل حاوی ۱ درصد گلوکز افزوده سپس به هر کدام از چاهک‌های مذکور ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی استرپتوکوکوس موتانس حاوی CFU/ml ۱/۵×۱۰۵ و ۵۰ میکرولیتر از عصاره متانولی حاصل از بخش‌های مختلف گیاه جاشیر در غلظت‌های مختلف ذکر شده اضافه شد. سپس میکروپلیت حاوی سوسپانسیون باکتری، عصاره‌های گیاهی و محیط کشت به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و ۵ درصد co_2 گرماگذاری شد. پس از مدت مذکور جهت خارج ساختن سلول‌های منفرد و باقی‌ماندن فرم بیوفیلمی باکتری تمامی چاهک‌ها با استفاده از بافر فسفات شسته شده و جهت تثبیت بیوفیلم‌های ایجاد شده ۲۰ میکرولیتر متانول ۹۶ درصد به هر کدام از چاهک‌ها افزوده و پس از ۱۵ دقیقه مجدداً چاهک‌ها بوسیله بافر فسفات شسته شد(۱۲).

برای محاسبه کمی میزان قابلیت عصاره‌های گیاهی در مهار ایجاد فرم بیوفیمی استرپتوکوکوس موتانس ۱۵۰ میکرولیتر از محلول ۱درصد کریستال ویوله به چاهک‌ها افزوده و میکروپلیت به مدت ۲۰ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شد. بعد از شستن رنگ اضافی به وسیله آب دوبار تقطیر استریل شده چاهک‌ها خشک شده و درنهایت پس از افزودن ۱۶۰ میکرولیتر استیک اسید گلاسیال به هر کدام از چاهک‌ها جذب نوری آنها در طول موج ۵۹۵ نانومتر اندازه‌گیری و میزان قابلیت مهار از طریق فرمول زیر محاسبه گردید.

فرمول۱ : درصد مهار=۱۰۰× $\frac{(C-B)-(T-E)}{(C-B)}$

در فرمول مذکور C میانگین جذب کنترل منفی، B میانگین جذب چاهک‌های کنترل محیط، T میانگین جذب نوری چاهک‌های مورد آزمون و E میانگین جذب چاهک شاهد عصاره همان غلظت می‌باشند(۱۳).

آزمون بررسی تخریب فرم بیوفیلمی استرپتوکوکوس موتانس:

جهت بررسی قابلیت تخریب فرم بیوفیلمی استرپتوکوکوس موتانس بوسیه عصاره‌های گیاهی تاثیر این عصاره‌ها بر بیوفیلم‌های تشکیل شده این باکتری مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور ۱۰۰ میکرولیتر از کشت ۲۴ ساعته باکتری در محیط TSB با کدورتی معادل ۱ مک فارلند به چاهک‌های مورد آزمون و نیز کنترل وارد نموده و میکروپلیت به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و ۵ درصد CO_2 گرماگذاری شد. پس از مدت مذکور جهت حذف سلول‌های آزاد چاهک‌ها را دوبار با بافر فسفات شسته و پس از افزودن ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره بخش‌های مختلف گیاه جاشیر در غلظت‌های ۳۰۰۰-۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر گرماگذاری به مدت ۲۴ ساعت ادامه یافت. پس از اتمام گرماگذاری درصد تخریب بیوفیلم‌های تشکیل شده با روش رنگ‌آمیزی کریستال ویوله و با استفاده از فرمول ذکر شده تعیین گردید(۱۳).

بخش بیوانفورماتیکی

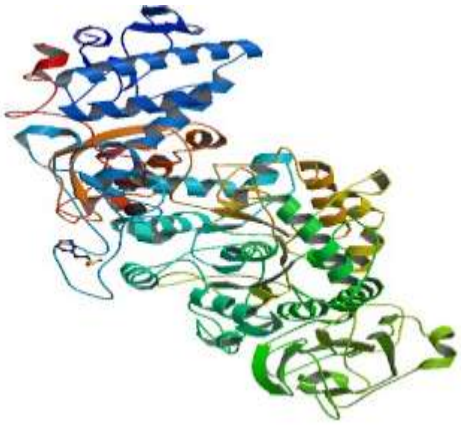
دریافت و بهینه‌سازی ساختار سه بعدی آنزیم گلوکوزیل ترانسفراز و ترکیبات گیاهی:

به منظور بررسی بیوانفورماتیکی قابلیت ضدباکتریایی گیاه جاشیر ساختار سه‌بعدی مربوط به آنزیم گلوکوزیل ترانسفراز و ۲۰ ترکیب غالب موجود در گیاه جاشیر(جدول۱) که در مطالعات فیتوشیمیایی قبلی گزارش شده بود(۶) به ترتیب از پایگاه داده‌های پروتئین(PDB) به آدرس www.pdb.org باکد دسترسی 3-AIE (شکل ۱) و پایگاه داده‌های ترکیبات شیمیایی و دارویی pubchem به آدرس pubchem.ncbi.nlm.nih.gov دریافت شد.

به منظور تبدیل فایل مربوط به ساختار سه‌بعدی ترکیبات شیمیایی از فرمت SDF و MOL به pdb، جداسازی لیگاند از

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-07-10]

ساختار آنزیم، افزودن هیدوژن‌های قطبی به منظور بررسی احتمال شکل‌گیری پیوندهای هیدروژنی، وضعیت قرارگیری لیگاندها در جایگاه فعال و بار سطحی به ساختارهای دریافت شده از نرم‌افزار python viewer 1.5 استفاده شد.



شکل ۱: ساختمان سه‌بعدی آنزیم گلوکوزیل ترانسفراز- استرپتوکوکوس موتانس

جدول۱: ترکیبات غالب موجود در گیاه جاشیر(۶)

ردیف	نام ترکیب	شماره دسترسی	وزن مولکولی (گرم بر مول)	فرمول مولکولی	ظرفیت پذیرش پیوند هیدروژنی	ظرفیت‌دهندگی پیوند هیدروژنی
۱	آلفا پینن	۶۶۵۴	۱۳۶/۲۳	$C_{10}H_{16}$	۰	۰
۲	بتا پینن	۱۴۸۹۶	۱۳۶/۲۳	$C_{10}H_{16}$	۰	۰
۳	لیمونن	۲۲۳۱۱	۱۳۶/۲۳	$C_{10}H_{16}$	۰	۰
۴	بتا اوسیمن	۵۲۸۱۵۵۳	۱۳۶/۲۳	$C_{10}H_{16}$	۰	۰
۵	ای-انتول	۶۳۷۵۶۳	۱۴۸/۲۰	$C_{10}H_{12}O$	۱	۰
۶	پینوکارون	۱۲۱۷۱۹	۱۵۰/۲۱	$C_{10}H_{14}O$	۱	۰
۷	پی-سیمن	۷۴۶۳	۱۳۴/۲۱	$C_{10}H_{14}$	۰	۰
۸	میرسن	۳۱۲۵۳	۱۳۶/۲۳	$C_{10}H_{16}$	۰	۰
۹	اوستول	۱۰۲۲۸	۲۴۴/۲۸	$C_{15}H_{16}O3$	۳	۰
۱۰	پسورالن	۶۱۹۹	۱۸۶/۱۶	$C_{11}H_6O_3$	۳	۰
۱۱	ایزوامپراتورین	۶۸۰۸۱	۲۷۰/۲۷	$C_{16}H_{14}O_4$	۴	۰
۱۲	اکسی پسدانین	۶۲۵۳۸۳	۲۸۶/۲۷	$C_{16}H_{14}O_5$	۵	۰
۱۳	ترپینولن	۱۱۴۶۳	۱۳۶/۲۳	$C_{10}H_{16}$	۰	۰
۱۴	آلفا-فلاندرن	۷۴۶۰	۱۳۶/۲۳	$C_{10}H_{16}$	۰	۰
۱۵	میستالدهید	۱۰۲۵۴	۱۴۸/۲۰	$C_{10}H_{12}O$	۱	۰
۱۶	کامفن	۶۶۱۶	۱۳۶/۲۳	$C_{10}H_{16}$	۰	۰
۱۷	آلفا-هیومولن	۱۲۴۴۵۰۳۴	۲۲۰/۳۵	$C_{15}H_{24}O$	۱	۱
۱۸	کریستانتنیل استات	۶۴۳۱۳۰۱	۱۹۴/۲۷	$C_{12}H_{18}O_2$	۲	۰
۱۹	۳-ان-بوتیل فتالدهید	۶۱۳۶۱	۱۹۰/۲۳	$C_{12}H_{14}O_2$	۲	۰
۲۰	دلتا-۳-کارن	۲۶۰۴۹	۱۳۶/۲۳	$C_{10}H_{16}$	۰	۰

انجام داکینگ مولکولی:

جهت بررسی بیوانفورماتیکی خاصیت ضداسترپتوکوکوس موتانس عصاره متانولی گیاه جاشیر به ویژه جهت بررسی قابلیت مهار تشکیل فرم بیوفیلمی این باکتری داکینگ مولکولی بین ترکیبات غالب این گیاه و آنزیم گلوکوزیل ترانسفراز با استفاده از نرم‌افزار تخصصی

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-07-10]

iGemdock 2.1(محصول شرکت BIOXGEM تایوان) در سال ۲۰۰۶ انجام شد. در این بررسی داکینگ مولکولی در دفعات برهمکنش ۷۰، تعداد تکرار ۳ و ناحیه برهمکنش ۲۰۰ آنگسترومی با روش داکینگ استاندارد و قابلیت بررسی برهمکنش‌های هیدروژنی، واندروالسی و الکتریکی با حد آستانه ۴- کیلو ژول بر مول انجام شد. به منظور مقایسه کارایی ترکیبات گیاهی مورد بررسی در مهار گلوکوزیل ترانسفراز برهمکنش بین پنی‌سیلین واریترومایسین با آنزیم مذکور به عنوان کنترل مثبت در نظر گرفته شد. آنالیز آماری داده‌های محاسبه شده و بررسی معنی‌داری آنهابا استفاده از نرم‌افزار spss19 و آزمون‌های آنالیز واریانس و دانکن در سطح معنی‌داری p=۰/۰۵ انجام شد.

نتایج

نتایج مربوط به خواص ضدباکتریایی عصاره متانولی بخش‌های مختلف گیاه جاشیر بر فرم منفرد استرپتوکوکوس موتانس، MIC و MBC آنها در جدول ۲ نشان داده شده است. نتایج به دست آمده نشان داد که تمامی عصاره‌های مورد بررسی در غلظت‌های بالاتر از ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر دارای اثرات ضدباکتریایی قابل توجهی می‌باشند. اما در این بین عصاره مربوط به ریشه و گل جاشیر در غلظت ۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر نیز دارای اثرات ضدباکتریایی بودند.

بررسی مقایسه‌ای قابلیت ضدباکتریایی عصاره بخش‌های مختلف نیز نشان داد که عصاره ریشه و بذر به ترتیب دارای بیشترین و کمترین میزان خاصیت ضدباکتریایی بودند. نتایج مربوط به MIC و MBC عصاره‌ها نیز نشان داد که حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره‌ها در طیف ۳۰۰۰-۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر قرار داشته و عصاره ریشه با ۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر کمترین و بذر با ۳۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بیشترین MIC را داشتند.

از لحاظ حداقل غلظت کشندگی نیز این شاخص برای عصاره‌های مورد بررسی در محدوده ۵۰۰ تا بالاتر از ۳۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر تعیین گردید. به طوری که ریشه با ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر کمترین میزان را داشت در حالی که این شاخص برای بذر که کمترین قابلیت ضدباکتریایی را داشت بالاتر از ۳۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر تعیین گردید.

جدول۲: نتایج مربوط به خاصیت ضدباکتریایی عصاره بخش‌های مختلف گیاه جاشیر بر فرم منفرد استرپتوکوکوس موتانس
(میانگین هاله عدم رشد± انحراف معیار(میلی‌متر))

منشا عصاره‌ها	غلظت‌های مورد بررسی ۲۵۰	۵۰۰	۷۵۰	۱۰۰۰	۱۵۰۰	۲۰۰۰	۲۵۰۰	۳۰۰۰	MIC	MBC
گل	۵±۰/۱۱	۶±۰/۲۰	۷±۰/۳۲	۹±۰/۲۰	۱۰±۰/۱۰	۱۱±۰/۴۰	۱۲±۰/۲۰	۱۳±۰/۱۰	۲۵۰	۵۰۰
برگ	۰	۰	۶±۰/۲۵	۷±۰/۱۲	۸±۰/۳۰	۹±۰/۲۵	۱۰±۰/۳۰	۱۱±۰/۲۵	۷۵۰	۱۵۰۰
ساقه	۰	۰	۰	۵±۰/۱۸	۶±۰/۲۶	۷±۰/۱۰	۸±۰/۴۵	۹±۰/۳۰	۱۰۰۰	۲۰۰۰
ریشه	۶±۰/۱۰	۷±۰/۱۵	۸±۰/۳۵	۹±۰/۱۵	۱۰±۰/۱۸	۱۱±۰/۱۰	۱۲±۰/۱۵	۱۴±۰/۲۰	۲۵۰>	۲۵۰
بذر	۰	۰	۰	۰	۵±۰/۱۶	۶±۰/۲۰	۷±۰/۴۰	۸±۰/۴۵	۱۵۰۰	۳۰۰۰<
پنی سیلین					۲۱±۰/۲۰				۱۲۵	۲۵۰
اریترومایسین					۱۹±۰/۱۰				۲۵۰	۵۰۰
DMSO					۳±۰/۲				۳۰۰۰<	۳۰۰۰<

نتایج مربوط به خواص ضدباکتریایی عصاره‌ها بر فرم بیوفیلمی استرپتوکوکوس موتانس:

نتایج مربوط به قابلیت مهار تشکیل فرم بیوفیلمی استرپتوکوکوس موتانس توسط عصاره متانولی بخش‌های مختلف گیاه جاشیر(جدول۳) نشان داد که قابلیت مهار تشکیل فرم بیوفیلمی با غلظت عصاره‌ها ارتباط مستقیمی دارد به طوری که بیشترین میزان مهار ۷۴ درصد و در حضور غلظت ۳۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر ریشه گیاه جاشیر بود.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-07-10]

بررسی مقایسه‌ای نشان داد که بیشترین و کمترین میزان مهار مربوط به ریشه و بذر جاشیر به ترتیب با ۷۴ و ۸ درصد بود. نتایج مربوط به قابلیت تخریب بیوفیلم‌های تشکیل‌شده نیز نشان داد که هیچکدام از عصاره‌ها در غلظت‌های مورد بررسی توان تخریب بیوفیلم‌های تشکیل شده را نداشته به طوری که فقط عصاره ریشه در غلظت ۳۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر ۵ درصد از بیوفیلم‌ها را تخریب نموده بود.

جدول۳: نتایج مربوط به قابلیت مهار فرم بیوفیلمی استرپتوکوکوس موتانس توسط عصاره بخش‌های مختلف گیاه جاشیر
میاتگین میزان مهار تشکیل فرم بیوفیلمی(درصد)± انحراف معیار

منشا عصاره	غلظت‌های مورد بررسی							
	۲۵۰	۵۰۰	۷۵۰	۱۰۰۰	۱۵۰۰	۲۰۰۰	۲۵۰۰	۳۰۰۰
گل	۱۶±۱	۲۳±۰/۷	۲۸±۰/۲	۳۶±۰/۵	۳۸±۰/۹	۴۶±۰/۴	۴۹±۱	۵۳±۰/۵
برگ	۱۲±۰/۹	۱۹±۰/۴	۲۴±۰/۹	۳۳±۰/۴	۳۵±۰/۶	۴۳±۰/۴	۴۶±۰/۶	۵۰±۰/۷
ساقه	۰	۵±۰/۷	۱۱±۰/۱	۱۶±۰/۶	۲۱±۰/۸	۲۷±۰/۳	۳۲±۰/۴	۳۶±۰/۳
ریشه	۱۸±۰/۳	۲۵±۰/۸	۳۱±۰/۳	۳۷±۰/۳	۴۲±۱	۵۷±۱	۶۳±۰/۷	۷۴±۱
بذر	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۶±۰/۳	۸±۰/۷

نتایج داکینگ مولکولی:

نتایج حاصل از داکینگ مولکولی بین ۲۰ ترکیب ذکر شده، اریترومایسین و پنی‌سیلین با گلوکوزیل ترانسفراز (جدول ۴) نشان داد که همه ترکیبات مورد بررسی دارای برهمکنش‌های مناسبی با اسید آمینه‌های جایگاه فعال هستند(شکل ۲). بررسی قدرت برهمکنش ترکیبات مختلف نشان داد که قوی‌ترین برهمکنش‌ها مربوط به آلفاپینن، پسورالن و لیمونن بود.

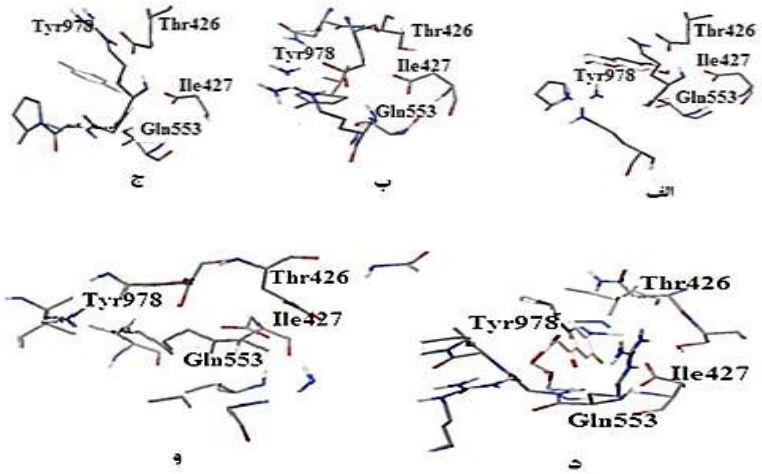
بر اساس گزارش‌های قبلی در خصوص بررسی فیتوشیمی گیاه P.ferulacea ترکیبات مذکور در بخش‌های مختلف گیاه یافت می‌شوند اما تجمع آنها در ریشه گیاه بیشتر است(۶). اسیدآمینه‌های فعال در برهمکنش‌ها نیز Thr426,Ile427,Gln553 و Tyr978 بودند که واجد بیشترین انرژی برهمکنش در بررسی اسیدآمینه‌های فعال در برهمکنش شناخته شدند. بررسی انواع میانکنش‌های صورت گرفته بین ترکیبات مورد بررسی و آنزیم مذکور نیز نشان داد که همه میانکنش‌های ایجاد شده از نوع واندروالسی بوده و پیوندهای هیدروژنی و الکتریکی در این برهمکنش‌ها نقشی ندارند.

مقایسه قدرت میانکنش‌های ایجاد شده با وزن مولکولی ترکیبات مورد بررسی نیز حاکی از رابطه معکوس وزن مولکولی و قدرت میانکنش‌های ایجاد شده بود به طوری که ترکیباتی با وزن مولکولی بالا میانکنش‌های ضعیف‌تری را در مقایسه با ترکیبات کوچکتر ایجاد می‌کردند.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-07-10]

جدول۴: نتایج مربوط به انرژی برهمکنش و اسید آمینه های فعال در داکینگ مولکولی بین آنزیم گلوکوزیل ترانسفراز و ۲۰ ترکیب غالب گیاه جاشیر

	انرژی کل برهمکنش	اسید آمینه های درگیر در واکنش						
		Thr980	Tyr978	Gln553	Asn552	Ile427	Thr426	Asn412
آلفا پینن	-۵۳/۱۲	-۱۰/۳	-۹/۳	-۴/۴	-۴/۳	-۹/۵	-۷/۸	-۴/۶
بتا پینن	-۴۳/۲۳	-۴/۳	-۵/۴	-۶/۳	-۷/۹	-۵/۷	-۵/۳	-۴/۷
لیمونن	-۵۰/۴۴	-۶/۶	-۱۰/۷	-۹/۸	-۶/۱	-۵/۸	-۴/۱	-۴/۳
بتا اوسیمن	-۴۴/۴۰	۰	-۹/۱	-۶/۸	۰	-۷/۸	-۴/۷	۰
ای-انتول	-۴۱/۲۲	۰	۰	-۶/۶	-۴/۱	-۶/۹	-۴/۳	۰
پینوکارون	-۴۲/۳۶	۰	-۷/۵	-۸/۷	۰	-۹/۸	۰	-۴/۷
پی-سیمن	-۴۱/۱۶	-۷/۸	-۹/۷	۰	-۴/۸	-۴/۳	-۴/۴	۰
میرسن	-۳۹/۴۸	۰	-۵/۴	-۷/۹	۰	-۴/۱	-۴/۵	۰
اوستول	-۳۰/۳۰	۰	-۵/۶	-۴/۰	۰	-۴/۳	-۴/۱	۰
پسورالن	-۵۱/۵۷	-۴/۰	-۶/۶	-۴/۵	-۶/۷	-۴/۵	-۵/۵	-۴/۳
ایزوامپراتورین	-۲۹/۳۸	-۵/۲	۰	۰	-۴/۲	-۷/۷	-۴/۳	۰
اکسی پسدانین	-۲۳/۶۸	۰	-۶/۲	-۵/۶	۰	-۴/۱	۰	۰
ترپینولن	-۴۰/۲۰	۰	-۴/۲	-۴/۱	۰	-۶/۷	-۴/۳	-۴/۵
آلفا-فلاندرن	-۳۶/۳۵	۰	-۴/۳	۰	-۶/۶	-۴/۲	-۵/۵	۰
میستالدهید	-۳۴/۱۳	۰	-۷/۷	-۴/۸	۰	-۴/۶	-۴/۱	۰
کامفن	-۳۶/۳۷	-۸/۶	۰	-۴/۱	-۴/۳	-۵/۲	۰	۰
آلفا-هیومولن	-۳۰/۲۵	۰	-۷/۶	۰	۰	-۵/۸	-۴/۲	-۴/۴
کریستانتنیل استات	-۳۳/۲۱	۰	۰	-۴/۱	-۷/۷	-۴/۴	۰	۰
۳-ان-بوتیل فتالدهید	-۳۰/۳۸	-۴/۴	۰	-۵/۶	۰	-۴/۲	-۴/۴	۰
دلتا-۳-کارن	-۳۵/۴۷	۰	-۸/۷	۰	۰	-۴/۸	-۴/۶	-۴/۰
اریترومایسین	-۵۹/۱۴	-۹/۵	-۴/۴	-۵/۶	-۷/۷	-۶/۸	-۴/۵	۰
پنی سیلین	-۶۱/۳۷	-۴/۱	-۱۱/۲	-۴/۵	۰	-۷/۶	-۸/۳	-۴/۵



شکل ۲: نحوه میانکنش ترکیبات مورد بررسی گیاه جاشیر با اسید آمینه‌های جایگاه فعال گلوکوزیل ترانسفراز

(الف ،ب، ج به ترتیب میانکنش آلفا پینن،پسورالن و لیمونن وقسمت د،و مربوط به میانکنش پنی سیلین و اریترومایسین می‌باشند).

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-07-10]

بحث

نتایج حاصل از پژوهش حاضر نشان داد که عصاره متانولی حاصل از بخش‌های مختلف گیاه جاشیر به ویژه ریشه این گیاه دارای اثرات ضدباکتری قابل توجهی بر فرم منفرد استرپتوکوکوس موتانس بوده و موجب مهار تشکیل فرم بیوفیلمی این باکتری می‌شوند، اما نمی‌توانند موجب تخریب بیوفیلم‌های تشکیل شده آن شوند.

علیرغم بررسی‌های متعدد صورت گرفته در خصوص اثرات ضدباکتریایی گیاهان دارویی مختلف اما مطالعات انجام شده در خصوص قابلیت ضدباکتریایی ترکیبات طبیعی به ویژه ترکیبات گیاهی بر پاتوژن‌های دهانی خصوصاً استرپتوکوکوس موتانس به نسبت سایر سویه‌های باکتریایی پاتوژن انسانی کمتر مورد بررسی قرار گرفته است.

در همین راستا Prabu و همکاران در بررسی و جستجوی ترکیبات گیاهی موثر بر استرپتوکوکوس موتانس قابلیت بالای یک فلاوونوئید گیاهی به نام Guaijaverin که از گیاه Psidium guajava جداسازی شده بود بر پلاک‌های دندانی حاصل از بیوفیلم‌های این باکتری را تایید نمودند(۱۴). بررسی انجام شده توسط Chavan و همکاران نیز در خصوص اثر بخشی عصاره آبی گیاهان دارویی در کنترل استرپتوکوکوس موتانس نشان داد که عصاره دو گیاه دارویی Syzygium aromaticum و Psidium guajava دارای قابلیت کنترل تشکیل بیوفیلم‌های استرپتوکوکوس موتانس بوده و اثرات ضدباکتریایی بالایی نیز بر فرم منفرد آن دارند(۱۵). در پژوهشی مشابه Fani و همکاران به بررسی تاثیر روغن‌های گیاهی حاصل از Cinnamon Zeylanicum و Eucalyptus Globulus بر استرپتوکوکوس موتانس جداسازی شده از بیماران دچار عفونت دهانی پرداخته و اثرات مطلوب این روغن‌ها را در کنترل رشد این باکتری‌ها تایید نمودند(۱۶). اگرچه بسیاری از پژوهش‌ها اثربخشی مطلوب برخی گیاهان را در کنترل رشد و توسعه بیوفیلم‌های استرپتوکوکوس موتانس نشان داده است(۱۳). اما پژوهش‌های زیادی نیز مقاومت بالای این باکتری برابر ترکیبات گیاهی و دارویی مختلف را نشان داده است(۱). بررسی انجام شده توسط Mirkarimi و همکاران نشان داد که عصاره دانه انگور بر رشد و توسعه استرپتوکوکوس موتانس تاثیری ندارد(۱۷). مطالعه Angaji و همکاران نیز عدم تاثیر عصاره آبی ۴ گیاه دارویی Thymus vulgaris, Melissa officinalis, Rhus corriaria و Magnolia grandiflora را بر باکتری‌های عامل پوسیدگی دندان از جمله استرپتوکوکوس موتانس نشان داد(۱۸). همانطور که اشاره شد تا کنون بررسی‌های مختلفی در خصوص بررسی خواص ضدباکتریایی و ضدبیوفیلمی گیاهان دارویی مختلف صورت گرفته اما پژوهش حاضر اولین بررسی انجام شده در خصوص اثرات ضدباکتریایی و ضد بیوفیلمی یکی از گونه‌های جنس گیاهی جاشیر بر فرم منفرد و بیوفیلمی استرپتوکوکوس موتانس است.

P.ferulacea از جمله گیاهان دارویی پرکاربرد در طب سنتی ایران است که به واسطه دارا بودن اثرات متعدد درمانی و طیف وسیعی از متابولیت‌های ثانویه در پژوهش‌های متعددی مورد بررسی قرار گرفته و خواصی همچون ضدباکتریایی، ضدویروسی، ضداکسیدانی، ضددرد و ضدسرطانی از آن گزارش شده است(۶).

در مطالعه‌ای که در خصوص اثرات ضدباکتریایی انواع مختلف عصاره‌های گیاه جاشیر انجام شده نتایج نشان داده است که عصاره‌های آبی، هگزانی، متانولی و اتانولی این گیاه دارای خاصیت ضدباکتریایی قوی علیه باکتری‌هایی همچون: کلبسیلا پنومونیه، اشریشیا کولای، باسیلوس سرئوس، پروتئوس میرابیلیس و استافیلوکوکوس اورئوس می‌باشد(۱۹). در پژوهشی مشابه که در خصوص خواص ضدباکتریایی اسانس این گیاه صورت گرفته نتایج نشان داده است که اسانس این گیاه دارای خاصیت ضدباکتریایی علیه استافیلوکوک اپیدرمیدیس، استافیلوکوک ساپروفیتکوس، سودوموناس آئروژینوزا و به ویژه استافیلوکوکوس اورئوس می‌باشد(۲۰). بر اساس نتایج حاصل از پژوهش حاضر مشخص شد که قابلیت ضد باکتریایی و مهار بیوفیلمی ریشه این گیاه از سایر بخش‌های گیاه بیشتر است. مطالعات

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-07-10]

فیتوشیمیایی صورت گرفته در خصوص P.ferulacea حاکی از تجمع انواع مختلفی از ترکیبات گیاهی موسوم به کومارین و فورانوکومارین در ریشه گیاه مذکور می‌باشند(۲۱،۲۲). لذا این ترکیبات میتوانند علت قابلیت ضدباکتریایی بالای ریشه این گیاه باشد. تاکنون مطالعات زیادی در خصوص اثرات ضدباکتریایی انواع مختلفی از ترکیبات کومارینی صورت گرفته که قابلیت ضد باکتریایی آنها را تایید نموده است(۲۵-۲۳). بررسی انجام شده توسط Ojala و همکاران در خصوص اثرات ضدباکتریایی ترکیبات کومارینی استخراج شده از گیاهان بومی فنلاند را تایید نموده است(۲۴). در پژوهشی مشابه Basile و همکاران اثرات ضدباکتریایی کومارین‌های استخراج شده از ریشه گیاه Ferulago campestris بر طیف وسیعی از باکتری‌های بیماری‌زا از جمله استافیلوکوکوس اورئوس و سالمونلا تایفی را تایید نمودند(۲۶).

علیرغم خواص متعدد دارویی تایید شده مربوط به کومارین‌ها از جمله خواص ضدباکتریایی، ضدویروسی و ضدسرطانی؛ برخی مطالعات حاکی از اثرات سمی این ترکیبات می‌باشد(۲۷،۲۸). لذا تعیین درجه و نوع سمیت این ترکیبات نیز از اهمیت بالایی برخوردار است. بررسی قبلی ما در خصوص سمیت ژنتیکی عصاره حاصل از بخش‌های مختلف P.ferulacea حاکی از عدم جهش‌زایی این گیاه بود اما بررسی سمیت سلولی و احتمال ایجاد آسیب‌های مزمن نیز جهت اطمینان از ایمنی این گیاه ضروری است(۲۹).

هزینه بالا وقت‌گیر بودن و احتمال خطا در بررسی‌های آزمایشگاهی موجب شده تا ابزارهای بیوانفورماتیکی طی سال‌های اخیر به عنوان ابزارهای مکمل در پژوهش‌های محققان خصوصاً در زمینه طراحی داروهای جدید تلقی شوند(۳۰). یکی از ابزارهای بیوانفورماتیکی پرکاربرد و دقیق در زمینه پیش‌بینی خواص دارویی و نیز طراحی دارو و آنالوگ‌های دارویی داکینگ مولکولی است که با پیش‌بینی انواع برهمکنش‌های محتمل بین ترکیبات مورد بررسی قابلیت میانکنش دو ترکیب را بررسی و تا حد زیادی قابلیت دارویی ترکیبات مورد بررسی را آشکار می‌نماید همچنین با مشخص‌نمودن محل اثر و گروه‌های عاملی درگیر در میانکنش‌ها امکان بهبود ویژگی‌های دارویی یک ترکیب را به محققان می‌دهد(۳۱).

یکی از کاربردهای مهم این تکنیک که در سال‌های اخیر مورد توجه قرار گرفته است بررسی مکانسیم اثر و نیز طراحی ترکیبات جدید با اثرات ضدباکتریایی است. بررسی Alves و همکاران در خصوص معرفی مکانیسم اثر ترکیبات قارچی که اثرات ضدباکتریایی آنها در بررسی‌های آزمایشگاهی تایید شده بود نشان داد که مکانیسم اصلی اثر این ترکیبات ممانعت از سنتز دیواره سلولی با مهار دو آنزیم کلیدی آلانین راسماز و دی- آلانین دی آلانین سنتاز می‌باشد(۳۲). در مطالعه‌ای مشابه Yang و همکاران به بررسی مکانیسم اثر ترکیبات موجود در روغن گیاه دارویی Patchouli که اثر بخشی در کارآزمایی آزمایشگاهی تایید شده بود پرداخته و مشخص نمودند که ترکیبات موجود در این روغن با مهار آنزیم‌های دخیل در سنتز دیواره سلولی اثرات آنتی‌باکتریال خود را بروز می‌دهند(۳۳). Pakpahan و همکاران نیز با انجام داکینگ مولکولی بین چند اسید چرب مختلف و گلوکوزیل ترانسفراز، استرپتوکوکوس موتانس نشان دادند که اسیدهای چربی همچون اولئیک اسید میتوانند مهارکننده‌های خوبی برای این آنزیم تلقی شوند(۳۴). اگرچه ابزارهای بیوانفورماتیکی دارای کارایی بالایی بوده و به طور موثری می‌توانند در پیش‌بینی برهمکنش‌های مولکولی، آنالیز ساختاری بیوملکول‌ها و تعیین مکان فعال ملکول‌ها مورد استفاده قرار بگیرند اما به علت پیچیدگی بالای برهمکنش ملکول‌ها در محیط طبیعی بدن و حتی آزمایشگاه تعمیم نتایج به دست آمده از آنالیزهای بیوانفورماتیکی به صورت کامل نبوده و حتی ممکن است نتیجه به دست آمده برخلاف نتایج حاصل از بررسی‌های درون و برون تنی باشد(۳۵).

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که عصاره متانولی حاصل از بخش‌های مختلف گیاه جاشیر شامل: گل، برگ، ساقه، ریشه و بذر دارای اثرات ضدباکتریایی قابل توجهی بر فرم منفرد استرپتوکوکوس موتانس بوده اما بر فرم بیوفیلمی آن تاثیر قابل ملاحظه‌ای نداشتند. بررسی بیوانفورماتیکی نیز

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-07-10]

نشان دادکه ترکیبات موجود در این گیاه خصوصاً آلفا پینن، لیمونن و پسورالن می‌توانند با مهار آنزیم کلیدی گلوکوزیل ترانسفراز از تشکیل فرم بیوفیلمی استرپتوکوکوس موتانس جلوگیری نمایند.

سپاسگزاری

بدین وسیله از اساتید و مسئولین دانشکده فن‌آوری‌های نوین دانشگاه اصفهان به علت حمایت از این پروژه تشکر و قدردانی می‌شود.

References:

1- Dinesh MD, Uma MS, Anjali VM, Neetushree MS, Shanmugam V. ***Inhibitory properties of aqueous extracts of selected indigenous medicinal plants against dental caries causing streptococcus mutans and streptococcus mitis.*** Afr J Basic Appl Sci 2013; 5(1): 08-11.

2- Kreth J, Merritt J, Qi F. ***Bacterial and host interactions of oral streptococci.*** DNA cell biology 2009; 28(8): 397-403.

3- Daglia M, Tarsi R, Papetti A, Grisoli P, Dacarro C, Pruzzo C, et al. ***Antiadhesive effect of green and roasted coffee on Streptococcus mutans adhesive properties on saliva-coated hydroxyapatite beads.*** J Agricultural Food Chem 2002; 50(5): 1225-29.

4- Xiao J, Zuo Y, Liu Y, Li J, Hao Y, Zhou X. ***Effects of Nidus Vespae extract and chemical fractions on glucosyltransferases,adherence and biofilm formation of Streptococcus mutans.*** Oral Biology 2007; 52(9): 869-75.

5- Hasan S, Danishuddin M, Khan AU. ***Inhibitory effect of zingiber officinale towardsStreptococcus mutansvirulence and caries development: in vitro and in vivo studies.*** BMC Microbiology 2015; 15(1): 1-14.

6- Kafash-Farkhad N, Asadi-Samani M, Khaledifar B. ***A review on secondary metabolites and pharmacological effects of Prangos ferulacea(L.)Lindl.*** J shahrekord Uni Med Sci 2013; 15(3): 98-108.

7- Ferrazzano GF, Amato I, Ingenito A, De Natale A, Pollio A. ***Anti-cariogenic effects of polyphenols from plant stimulant beverages (cocoa, coffee, tea).*** Fitoterapia 2009; 80(5): 255-62.

8- Barrientos S, Rodríguez A. ***Production of glucosyltransferase B and glucans by Streptococcus mutans strains isolated from caries-free individuals.*** Acta odontologica latinoamericana: AOL 2010; 24(3): 258-64.

9- Nosrati M, Behbahani M. ***Molecular Docking Study of HIV-1 Protease with Triterpenoides Compounds from Plants and Mushroom.*** Arak Uni Med Sci J 2015; 18(3): 67-79.

10- Namazi R, Zabihollahi R, Behbahani M, Rezaei A. ***Inhibitory activity of Avicennia marina, a medicinal plant in Persian folk medicine, against HIV and HSV.*** Iranian J pharmaceutical Res: IJPR 2013; 12(2): 435.

11- Nosrati M, Behbahani M. ***Antibacterial Activity of Methanol Extracts from Different Parts of Prangos crossoptera and their Synergistic Effect on Some Antibiotics.*** J Mazandaran Univ Med Sci 2015; 25(129): 92-101.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-07-10]

12- Mohsenipour Z, Hassanshahian M. ***Investigating the effectiveness of centaureacyanus extracts on planktonic growth and biofilm structures of six pathogenic bacteria.*** J Shahid Sadoughi Univ Med Sci 2014; 22(4): 358-70.

13- Hassanshahian M, Mohsenipour Z. ***The Antimicrobial Effects of the Alcoholic Extracts of Pomegranate (Punica Granatum) on the Planktonic Forms and Biofilm Structures of Six Pathogenic Bacteria.*** J Babol Uni Med Sci 2015; 17(1): 77-84.

14- Prabu GR, Gnanamani A, Sadulla S. ***Guaijaverin–a plant flavonoid as potential antiplaque agent against Streptococcus mutans.*** J App Microbio 2006; 101(2): 487-95.

15- Chavan NS, Phadtare RD, Chavan TB. ***Effect of aqueous extracts of different medicinal plants on control of Streptococcus mutans.*** Int. J Curr Microbio App Sci 2015; 4(4): 1072-81.

16- Fani MM, Kohanteb J. ***Inhibitory Activity of Cinnamomum Zeylanicum and Eucalyptus Globulus Oils on Streptococcus Mutans, Staphylococcus Aureus, and Candida Species Isolated from Patients with Oral Infections.*** J Dentis Shiraz Uni Med Sci 2011; 11: 14-22.

17- Mirkarimi M, Amin-Marashi SM, Bargrizan M, Abtahi A, Fooladi I, Ali A. ***The Antimicrobial Activity of Grape Seed Extract against Two Important Oral Pathogens.*** Zahedan J Res Med Sci 2013; 15(1): 43-6.

18- Angaji EB, Angaji SM. ***Antimicrobial effects of four medicinal plants on dental plaque.*** J Med Plants Res 2009; 3(3): 132-37.

19- Durmaz H, Sagun E, Tarakci Z, Ozgokce F. ***Antibacterial activities of Allium vineale, Chaerophyllum macropodum and Prangos ferulacea.*** African J Biotechno 2006; 5(19).

20- Massumi MA, Fazeli MR, Alavi SH, Ajani Y. ***Chemical constituents and antibacterial activity of essential oil*** of Prangos ferulacea (L.) Lindl. fruits. Iranian J Pharmaceutical Sci 2007; 3(3): 171-76.

21- Razavi SM. ***Chemical composition and some allelopathic aspects of essential oils of (Prangos ferulacea L.) Lindl at different stages of growth.*** J Agricultural Sci Techno 2011; 28; 14(2): 349-56.

22- Sefidkon F, Khajavi MS, Malackpour B. ***Analysis of the Oil of Prangos ferulacea (L.) Lindl.*** J Essential Oil Res 1998; 10(1): 81-2.

23- Souza SMD, Monache FD, Smânia A. ***Antibacterial activity of coumarins.*** Zeitschrift fuer Naturforschung C 2005; 60(9-10): 693-700.

24- Ojala T, Remes S, Haansuu P, Vuorela H, Hiltunen R, Haahtela K, et al. ***Antimicrobial activity of some coumarin containing herbal plants growing in Finland***. J ethnopharma 2000; 73(1): 299-305.

25- Lee S, Shin DS, Kim JS, Oh KB, Kang SS. ***Antibacterial coumarins fromAngelica gigas roots.*** Archives pharmacal Res 2003; 26(6): 449-52.

26- Basile A, Sorbo S, Spadaro V, Bruno M, Maggio A, Faraone N, et al. ***Antimicrobial and antioxidant activities of coumarins from the roots of Ferulago campestris (Apiaceae)***. Molecules 2009; 14(3): 939-52.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-07-10]

27- Lake BG. ***Coumarin metabolism, toxicity and carcinogenicity: relevance for human risk assessment.*** Food Chemical Toxico 1999; 37(4): 423-53.

28- Budzisz E, Brzezinska E, Krajewska U, Rozalski M. ***Cytotoxic effects, alkylating properties and molecular modelling of coumarin derivatives and their phosphonic analogues***. European J Med chemistry 2003; 38(6): 597-603.

29- Nosrati M, Behbahani M. ***The Evaluation Effect of Methanol Extracts from Prangos Ferulacea and Prangos Acaulis on Human Lymphocytes Proliferation and Their Mutagenicity in Ames Test***. Arak Uni Med Sci J 2015; 18(4): 81-93.

30- Wishart DS. ***Bioinformatics in drug development and assessment.*** Drug Metabol Rev 2005; 37(2): 279-310.

31- Kitchen DB, Decornez H, Furr JR, Bajorath J. ***Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications.*** Nature reviews Drug discovery 2004; 3(11): 935-49.

32- Alves MJ, Froufe HJ, Costa AF, Santos AF, Oliveira LG, Osório SR, et al. ***Docking studies in target proteins involved in antibacterial action mechanisms: Extending the knowledge on standard antibiotics to antimicrobial mushroom compounds.*** Molecules 2014; 19(2): 1672-84.

33- Yang X, Zhang X, Yang SP, Liu WQ. ***Evaluation of the antibacterial activity of patchouli oil.*** Iranian J pharmaceutical Res: IJPR 2013; 12(3): 307-16.

34- Pakpahan A. ***Analyzing Interaction of Glucosyltransferase Inhibitor of Caries from Fatty Acid by Molecular Docking Simulation.*** Biology, Med natural product chemistry 2012: 7-10.

35- Rhee SY. ***Bioinformatics.Current limitations and insights for the future.*** Plant physiology 2005; 138(2): 569-70.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-07-10]

In Vitro and in Silico Evaluation of Antibacterial Effect of Methanolic Extracts of Prangos Ferulacea on Single and Biofilm Structure of Streptococcus Mutans

Nosrati M (MSc)[1], Behbahani M (PhD)*[2]

[1,2] *Department of Biotechnology, Univerity of Isfahan, Isfahan, Iran*

Received: 10 Jun 2015 ***Accepted:*** 17 Dec 2015

Abstract

Introduction: Investigating efficacy of natural products, especially plant materials in dental caries is of great significance. The present study aimed to evaluate in vitro and in silico anti bacterial effects of methanolic extracts of Prangos ferulacea on single and biofilm structure of streptococcus mutans.

Methods: In this experimental study, after collecting the plants and determining their variety, they were air-dried and powdered. Then, the plants were extracted with methanol by the maceration method. In order to determine antibacterial activity as well as antibiofilm activity of the extracts, disk diffusion and micro titer assay were applied respectively. Regarding in silco analysis, the molecular docking was also preformed by iGemdock 2.1 software between Glucosyltransferases and 20 phytochemicals of the mentioned plants. SPSS software was utilized to statistically analyze the study data applying variance and Duncan's multiple range test.

Results: The results of the present study showed that studied extracts specially their roots extract up to250-3000 µg/ml have significant antibacterial effects against the single form of becteria, which lead to inhibition of biofilm structures formation of the tested strain, though it can not damage biofilm structures of the bacteria. In addition, MIC and MBC minimum values were determined in 250-1000 µg/ml and 500-3000 µg/ml spectera respectively. Then, silico analysis confirmed that studied phytochemical compounds, especially α-pinen, Pesoralen and Limonene revealed an appropriate interaction to Glucosyltransferases, which could be regarded as an inhibitor for this enzyme.

Conclusion: According to the results of the current study, P.ferulacea has significant antibacterial effects against single structure of S.mutans. However, it does not produce any significant effects on the biofilms structured from this bacteria.

Keywords: Antibacterial; Biofilm; Glucosyltransferases; Prangos ferulacea; Streptococcus mutans

This paper should be cited as:

Nosrati M, Behbahani M. ***In vitro and in silico evaluation of antibacterial effect of methanolic extracts of prangos ferulacea on single and biofilm structure of streptococcus mutans.*** J Shahid Sadoughi Univ Med Sci 2016; 23(11): 1049-62.

Corresponding author: Tel: +983137934327, Email: ma_behbahani@yahoo.com

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-07-10]