

بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتریایی عصاره‌های متانولی آویشن (*Thymus vulgaris*)، سنا (*Cassia angustifolia*) و شیرین بیان (*Glycyrrhiza glabra*)

نویسندگان: زهرا حجتی بناب^۱ و الهامه نیکخواه^{۲*}

۱- مربی - گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بناب، ایران

۲- دانشجوی دکتری فارماکوگنوزی - مرکز تحقیقات کاربردی دارویی، دانشگاه علوم پزشکی

تبریز، ایران

Email: tu8084@yahoo.com

* نویسنده مسئول: الهامه نیکخواه

چکیده

مقدمه و هدف: «آویشن، شیرین بیان و سنا» کاربردی گسترده در طب سنتی آذربایجان شرقی دارند. ترکیب‌های مؤثر که توسط عصاره متانولی از این گیاهان استخراج می‌شوند، می‌تواند عاملی برای فعالیت‌های زیستی این گیاهان و کاربردهای درمانی آنها باشد. هدف از انجام این مطالعه، ارزیابی فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی عصاره متانولی گیاهان مورد نظر بود.

مواد و روش‌ها: عصاره متانولی گیاهان مورد بررسی به روش خیساندن پودر خشک آنها و سپس تخییر حلال به وسیله روتاری اوپورتور به دست آمد. برای آزمایش آنتی‌اکسیدانی، از روش اتواکسیداسیون پیروگالول استفاده شد؛ سنجش فعالیت‌های ضدباکتریایی نیز توسط روش انتشار دیسک در برابر سه میکروارگانیزم روده‌ای خانواده انتروباکتریاسه انجام یافت. میزان حداقل غلظت بازدارنده رشد باکتری (MIC) و حداقل غلظت کشنده باکتری (MBC) نیز محاسبه شد.

نتایج: میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی آویشن، به دوز وابسته است؛ گیاه سنا نیز به میزان کمی، خاصیت آنتی‌اکسیدانی از خود نشان داد؛ اما فعالیت آنتی‌اکسیدانی خاصی در عصاره شیرین بیان مشاهده نشد؛ در خصوص خواص ضدباکتریایی نیز هر سه باکتری به عصاره متانولی، حساس بوده، قطر مهاری به طور متوسط از ۴ تا ۱۵ میلی‌متر نشان دادند.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج به دست آمده، «آویشن» دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی‌تر و همچنین خواص ضدباکتریایی بیشتری نسبت به دو گیاه دیگر است. در کل، نتایج متفاوت حاصل در خصوص هر گیاه به مواد تأثیرگذار موجود در عصاره متانولی هر گیاه و مقادیر آن بستگی دارد که آن نیز وابسته به عواملی نظیر جنس، خانواده گیاه و روش عصاره‌گیری است.

واژگان کلیدی: آنتی‌اکسیدان، ضدباکتریایی، عصاره متانولی، آویشن، سنا، شیرین بیان

دوماهنامه علمی - پژوهشی
دانشگاه شاهد
سال نوزدهم - شماره ۱۰۰
شهریور ۱۳۹۱

دریافت: ۹۱/۴/۳۰

آخرین اصلاح‌ها: ۹۱/۷/۲۵

پذیرش: ۹۱/۷/۲۶

مقدمه

امروزه به‌طور گسترده از آنتی‌بیوتیک‌ها برای درمان بسیاری از بیماری‌های ایجادشده توسط میکروارگانیسم‌ها استفاده می‌شود؛ با این حال، مسئله مقاومت آنتی‌بیوتیکی، موجب بروز مشکلاتی در درمان این بیماری‌ها شده است. ظهور سویه‌های مقاوم در میان باسیل‌های گرم منفی و کوکسی‌های گرم مثبت، مانند جنس‌های سودوموناس، کلبسیلا، انتروباکتر، استافیلوکوکوس و انتروکوکوس، مشکلاتی را در درمان عفونت‌های ناشی از این باکتری‌ها به وجود آورده است (۱)؛ بنابراین، با توجه به افزایش تعداد سویه‌های باکتریایی مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌های گوناگون، تلاش‌های بسیاری برای جایگزین کردن داروهایی با منابع دیگر از جمله «گیاهان» انجام گرفته است؛ زیرا ترکیب‌های ضد میکروبی به دست آمده از گیاهان با ساختارهایی متفاوت از آنتی‌بیوتیک‌ها، موجب از بین رفتن باکتری‌ها می‌شوند که از نظر بالینی، این مسئله در درمان عفونت‌های ناشی از سویه‌های مقاوم میکروبی حائز اهمیت است؛ از طرفی، آسیب‌های اکسیداتیو به ترکیب‌های سلولی مانند لیپیدها و غشاهای سلولی، توسط رادیکال‌های آزاد و سایر گونه‌های اکسیژن فعال، موجب توسعه تعدادی از بیماری‌های دژنراتیو، مانند بیماری‌های قلبی، سرطان، التهاب، آرتروز، تضعیف سیستم ایمنی، اشکال در عملکرد مغز و آب مروارید می‌شود (۲ تا ۵). رادیکال‌های آزاد، مولکول‌هایی ناپایدار و بسیار واکنش‌پذیر هستند که گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، نظیر «آنیون سوپر اکسید، هیدروکسیل و پراکسید هیدروژن» و گونه‌های فعال نیتروژن (RNS) مانند «نیتریک اکسید و پراکسی نیتريت» را در برمی‌گیرند. رادیکال‌های آزاد، برای پایداری خود به سایر ماکرومولکول‌های بدن نظیر «DNA، پروتئین، آنزیم‌ها و غشاء» حمله می‌کنند که در نهایت به آسیب سلولی و مرگ سلولی منجر می‌شود؛ در مقابل این عوامل، آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیب‌هایی هستند که به مهار بسیاری از واکنش‌های اکسیداسیون که توسط رادیکال‌های آزاد ایجاد می‌شوند کمک کرده، بدین وسیله، آسیب وارد شده به سلول‌ها و بافت‌ها را مهار می‌کنند یا

به تأخیری اندازند و از جمله ساختارهای عملکردی آنها واکنش جمع‌آوری گونه‌های رادیکال آزاد اکسیژن و نیتروژن است (۶).

به‌طور کلی، گیاهان، طیفی وسیع از فعالیت‌های زیستی از جمله فعالیت‌های ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی را نشان می‌دهند؛ بنابراین لازم است که تأثیرهای مختلف گیاهان بررسی شود تا در صورت داشتن آثار مثبت، در مراحل بعدی، مواد تأثیرگذار آنها شناسایی شده، تا حد امکان جایگزین داروهای سنتتیک شوند؛ در کشور ما نیز همانند سایر نقاط، اهمیت تحقیق و مطالعه روی گیاهان دارویی مشخص شده است (۷)؛ از جمله این گیاهان می‌توان به «آویشن، شیرین بیان و سنا» اشاره کرد که در طب سنتی، کاربردی گسترده داشته، گونه‌های مختلف آن، بومی بسیاری از مناطق کشور از جمله آذربایجان شرقی هستند؛ در این کار پژوهشی نیز با عنایت به اینکه در منطقه آذربایجان شرقی، به‌طور سنتی از این سه گیاه به میزان زیادی در درمان بیماری‌های روده‌ای استفاده می‌شود و نیز ترکیب‌های فنولی مختلفی از جمله «تیمول و کارواکرول» در اسانس آویشن، «لیکوایزوفلاون» در شیرین بیان و «گلیکوزیدهای آنتراکینونی» در سنا شناسایی شده‌اند، بر آن شدیم تا خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتریایی عصاره متانولی این سه گیاه را بررسی کنیم.

مواد و روش‌ها

تهیه عصاره‌های گیاهی

عصاره‌های متانولی آویشن، سنا و شیرین بیان به روش خیساندن تهیه شدند؛ به این منظور، ابتدا شرکت آذرپژوهان سبز از منطقه آذربایجان شرقی، گیاهان مورد نظر را جمع‌آوری کرد و پس از تعیین گونه، یعنی آویشن (*Thymus vulgaris*)، سنا (*Cassia angustifolia*) و شیرین بیان (*Glycyrrhiza glabra*)، آنها را در هوای آزاد خشک کرده، در اختیار ما قرارداد؛ سپس اندام هوایی دو گیاه آویشن و سنا و در خصوص شیرین بیان، ریشه آن درآمد. برای عصاره‌گیری به شکل پودر، ۱۰۰ گرم از این پودر خشک در ۵۰۰ میلی‌لیتر متانول خیسانده شد و محلول مورد نظر، پس از ۴ ساعت از صافی عبور داده شد؛ این عمل سه تا

پنج بار تکرار شد. در این آزمایش برای خشک کردن عصاره از دستگاه روتاری اوپوریتور (rotary evaporator) (در خلأ در دمای حدود ۴۰ درجه سانتی گراد استفاده و وزن خشک هر یک به صورت درصد تعیین شد.

بررسی فعالیت‌های ضد میکروبی

برای انجام این کار، از روش انتشار دیسک در محیط کشت مولر هینتون آگار (Mueller Hinton Agar) استفاده شد که معمول ترین شکل ارزیابی مواد ضد میکروبی است؛ برای تهیه این محیط کشت، ۳۸ گرم پودر مولر هینتون آگار (مرک آلمان) را در یک ارلن حاوی آب مقطر ریخته، به حجم ۱ لیتر رسانده، با کمک حرارت، پودر در آب مقطر حل شد تا محیط به طور کامل، شفاف شود؛ سپس درب ارلن مسدود شده، محتویات آن، توسط اتوکلاو استریل شد. بعد از اینکه حرارت محیط به ۴۰ تا ۵۰ درجه سانتی گراد رسید، محیط در شرایط استریل و با ضخامت ۵ میلی متر به پتری دیش‌های انتخابی استریل اضافه شد. باکتری‌های مورد استفاده سه سویه رفرانس یا استاندارد از خانواده اتروباکتریاسه شامل اشیشیا کلی (ATCC25922)، اتروباکتر آتروژنز (ATCC6354) و کلبسیلا پنومونه (ATCC700603) بودند. از کلنی ۲۴ ساعته هر یک از باکتری‌های کشت شده به کمک لوپ برداشته و در یک لوله آزمایش استریل حاوی ۵ میلی لیتر سرم فیزیولوژی استریل به طور کامل مخلوط شد تا سوسپانسیونی یکنواخت از باکتری مورد نظر حاصل شود؛ این لوله به مدت ۳۰ دقیقه در انکوباتور ۳۷ درجه قرار داده شد تا کدورتی مشابه با لوله استاندارد ۰/۵ مک فارلند ایجاد شود؛ سپس توسط سواب استریل از لوله حاوی سوسپانسیون باکتری مقداری برداشت کرده، روی محیط کشت مولر هینتون آگار در سه جهت به صورت خطوط موازی کشت داده شد (۹ و ۱۰). میزان تلقیح باکتری، ۱۰۴ تا ۱۰۵ باکتری در هر نقطه بود؛ پس از این کار، دیسک‌های استریل (DIFCO BACTO) به قطر ۶ میلی متر در محلول عصاره با غلظت‌های تعیین شده از ۰/۰۵ تا ۱ میلی گرم در میلی لیتر که به روش رقیق سازی، از غلظت پایه ۱ میلی گرم در میلی لیتر تهیه شده بودند،

قرار گرفته، بعد از خیس خوردن کامل، از آنها استفاده شد؛ سپس توسط پنس استریل دیسک‌های آماده حاوی عصاره که حلال آنها به طور کامل تبخیر شده بود، در فواصل معین از یکدیگر روی محیط کشت قرار گرفتند؛ در نهایت، پتری دیش‌های تلقیح شده در دمای ۳۷ درجه انکوباتور قرار گرفته، بعد از ۲۴ ساعت، قطر هاله‌های عدم رشد اطراف دیسک‌ها با کولیس اندازه گیری شد و نسبت به دیسک‌های آنتی بیوتیک استاندارد (سفتیزوکسیم و کوتریموکسازول) هر پلیت و با جدول‌های استاندارد آنتی بیوگرام سنجیده شد؛ همچنین برای اطمینان، از روش رقت لوله‌ای به منظور تعیین حداقل غلظت بازدارنده رشد باکتری (MIC) و نیز حداقل غلظت کشنده باکتری (MBC) نیز استفاده شد. برای تعیین MIC، ابتدا از عصاره-های تهیه شده سه مجموعه سریال رقتی با غلظت‌های ۱-۰/۰۵ میلی گرم در میلی لیتر در لوله‌های حاوی ۱ میلی لیتر محیط مولر هینتون برات تهیه و سپس برای هر یک از باکتری‌های مورد آزمایش یک سری از سریال‌های رقتی تهیه شده به کار برده شد؛ به درون هر یک از رقت‌ها به ازای هر میلی لیتر محیط مایع درون لوله، 5×10^5 باکتری فعال اضافه شد؛ همچنین در کنار هر سریال رقتی از کنترل مثبت (محیط کشت + باکتری + درصد حلال بدون عصاره) و کنترل منفی (محیط کشت فاقد باکتری) استفاده شد. نمونه‌های تهیه شده به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شدند؛ سپس برای تعیین MBC از تمام لوله‌های فاقد کدورت به میزان ۰/۵ میلی لیتر، روی محیط مولر هینتون آگار کشت داده شد و آخرین رقتی از عصاره‌ها که قادر به کشتن ۹۹/۹ درصد از باکتری‌های زنده اولیه بود، به عنوان غلظت کشنده در نظر گرفته شد.

ظرفیت جمع آوری رادیکال‌های سوپر اکسید

حجمی به میزان ۹ میلی لیتر از محلول بافر تریس - اسید کلریدریک (۵۰ میلی مول در لیتر با pH برابر ۸/۲) به درون لوله آزمایش اضافه شد و لوله آزمایش در حمام آب گرم در دمای ۲۵ درجه سانتی-

گیاهان مختلف، کمابیش روی باکتری‌های مورد نظر اثر- داشته، هاله عدم رشد در بیشتر آنها تشکیل شد؛ هرچند میزان این آثار، متفاوت است به طوری که گیاه سنا (*Cassia angustifolia*)، فقط روی باکتری انتروباکتر و تنها در غلظت‌های (۰/۵-۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) اثر داشته، اما عصاره‌های متانولی گیاهان شیرین‌بیان (*Glycyrrhiza glabra*) و آویشن (*Thymus vulgaris*) بر هر سه گونه باکتری مؤثر بوده‌اند و هاله عدم رشد باکتری در هر سه مورد مشاهده می‌شود که میانگین قطر هاله عدم رشد باکتری اشرشیاکلی در خصوص آویشن، بیشتر از بقیه بوده است؛ میانگین هاله عدم رشد باکتری کلبسیلا نیز در خصوص آویشن، بیشتر از بقیه بوده و سپس شیرین‌بیان، دارای بیشترین اثر است؛ همچنین اثر عصاره‌های متانولی گیاهان مختلف بر میانگین هاله عدم رشد باکتری انتروباکتر، مشابه کلبسیلا است؛ باین حال، اختلاف معنی‌دار در قطر هاله عدم رشد باکتری، فقط در خصوص آویشن (هر سه باکتری) و سنا (فقط انتروباکتر) دیده می‌شود.

نتایج آزمون‌های آماری نشان می‌دهند که در خصوص گیاه آویشن، اختلافی معنی‌دار میان گروه‌های مختلف باکتری وجود دارد ($p < 0.05$). در خصوص گیاه سنا نیز با وجود اثر کم، اختلافی معنی‌دار، میان گروه‌های مختلف باکتری مشاهده شد ($p < 0.05$)؛ در خصوص شیرین‌بیان، اختلافی معنی‌دار میان هیچ‌یک از گروه‌های باکتری مشاهده نشد ($p > 0.05$).

نتایج به دست آمده از آزمون‌های رقت لوله‌ای (جدول شماره ۳) نشان داد که عصاره‌های متانولی گیاهان مورد مطالعه در محیط مایع نیز روی باکتری‌ها مؤثر بودند. بیشترین مقدار MIC مربوط به غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره متانولی آویشن (در کلبسیلا) و کمترین مقدار MIC مربوط به غلظت ۰/۰۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره متانولی شیرین‌بیان (در انتروباکتر) و سنا (در اشرشیاکلی) بود.

همچنین مطابق جدول شماره ۴، بیشترین میزان MBC در خصوص عصاره متانولی آویشن، روی انتروباکتر

گردد به مدت ۲۰ دقیقه انکوبه شد. حجمی به میزان ۴۰ میکرولیتر از محلول پیروگالول (۴۵ میلی‌مول در لیتر از پیروگالول در ۱۰ میلی‌مول در لیتر از اسید کلریدریک) که آن نیز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد از پیش انکوبه- شده بود توسط یک سرنگ میکرولیتر به لوله آزمایش بالا اضافه و مخلوط شد؛ مخلوط در دمای ۲۵ درجه سانتی- گراد به مدت ۳ دقیقه انکوبه شده، سپس یک قطره اسکورییک اسید ۱ مولار به آن اضافه شد (به منظور اتمام واکنش به طور سریع). جذب بعد از ۵ دقیقه (A_0) در طول موج ۴۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد که A_0 نشان- دهنده سرعت اکسیداسیون پیروگالول است. سرعت اتواکسیداسیون A_1 با روش بالا اندازه‌گیری شد و این بار، غلظتی معین از عصاره به درون محلول بافر تریس- اسید کلریدریک اضافه شد (غلظت‌های مختلف عصاره، توسط رقیق‌سازی در متانول به- دست آمدند)؛ سرانجام یک کنترل شاهد از عامل به- عنوان A_2 به دست آمد. درصد جمع‌آوری رادیکال- های سوپراکسید طبق فرمول زیر به دست آمد (۸) (نتایج، حاصل سه تکرارند):

$$\text{درصد جمع‌آوری} = [A_0 - (A_1 - A_2)] \times 100 / A_0$$

آنالیز آماری داده‌ها

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون تحلیل واریانس داده‌ها (ANOVA) یک- طرفه) انجام گرفت. داده‌های با $P < 0.05$ معنادار در نظر- گرفته شده، نتایج به صورت $\text{Mean} \pm \text{SD}$ بیان شدند.

نتایج

اندازه‌گیری میزان ماده خشک استخراج شده توسط متانول مقدار ماده خشک استخراج شده توسط متانول از گیاهان مختلف، مطابق با جدول شماره ۱ است.

آزمایش‌های ضد میکروبی

نتایج به دست آمده از آزمون‌های انتشار دیسک (جدول شماره ۲) نشان داد که عصاره‌های متانولی

پیروگالول بررسی شد. مطابق جدول شماره ۵ مشاهده شد که در غلظت‌های مورد بررسی، آثار مهاری عصاره‌های متانولی روی اتواکسیداسیون پیروگالول در خصوص گیاه آویشن اتفاق افتاد و برای گیاه سنا، مقدار آن بسیار پایین است، به طوری که با افزایش غلظت عصاره، آثار مهاری نیز افزایش می‌یابند. در حالی که در عصاره متانولی شیرین بیان، تغییرهایی منظم مشاهده نشد.

مشاهده شد که مربوط به غلظت ۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و کمترین مقدار آن به غلظت ۰/۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره متانولی شیرین بیان در خصوص انتروباکتر و نیز عصاره سنا روی اشرشیا، مربوط بود.

ظرفیت جمع‌آوری رادیکال‌های سوپر اکسید

در این مطالعه، ظرفیت جمع‌آوری رادیکال‌های سوپراکسید توسط عصاره‌های متانولی گیاهان شیرین بیان، آویشن و سنا با استفاده از سیستم اتواکسیداسیون

جدول شماره ۱. درصد ماده خشک استخراج شده توسط متانول

درصد	گیاه
۴۶/۰۵	شیرین بیان
۲۲	آویشن
۱۸	سنا

جدول شماره ۲. قطر هاله عدم رشد باکتری توسط عصاره‌های متانولی گیاهان مختلف

شاهد کوثریموکسازول	شاهد (سفتیزوکسیم)	سنا	آویشن	شیرین بیان	عصاره
					میکروارگانیسم
۳۰	۳۵	۰±۰	*۱۴/۱۶±۰/۷۵	۹/۳۳±۰/۸۱	اشرشیاکلی
		۰±۰	*۱۵/۳۳±۰/۵۱	۸/۳۳±۱/۳۶	کلبسیلا
		*۴/۳۳±۴/۸۴	*۱۴/۱۶±۲/۰۴	۹/۳۳±۰/۵۱	انتروباکتر

* $P > 0/05$ در مقایسه با گروه، شاهد معنی دار است

میزان حساسیت مشاهده‌نشده ($p > 0/05$) و به طور تقریبی، همگی به یک میزان به عصاره حساسیت نشان دادند (میانگین ۸ تا ۹ سانتی‌متر).

شاپنا و همکاران در سال ۲۰۱۰، عصاره متانولی شیرین بیان را که به روش پرکولاسیون استخراج کرده بودند در مقابل دوازده باکتری تست کرده، نشان دادند که بیشتر آنها به عصاره حساس‌اند؛ نتایج آنها نشان داد که عصاره متانولی گیاه مورد نظر بر باکتری اشرشیاکلی مؤثر است. مدارک نشان می‌دهند که به دلیل وجود گلابرن، لیکوایزوفلاون B و گانکاوونین ۱ این عصاره فعالیت ضد میکروبی در برابر این باکتری نشان داده است (۱۱).

آویشن گیاه بومی نواحی شرقی مدیترانه است. برگ‌ها کوچک، متقابل و کم‌وبیش نیزه‌ای شکل و بدون دم‌برگ

بحث و نتیجه‌گیری

آزمون‌های ضد میکروبی

شیرین بیان، گیاه بومی مناطق مدیترانه است و در ایران در بیشتر نقاط کشور می‌روید. بخشی از گیاه که به طور عمده مورد استفاده قرار می‌گیرد، ریشه آن است. پوست ریشه، قهوه‌ای سیر و سیاه است. مغز ریشه زرد رنگ بوده، طعم آن بسته به انواع مختلف تغییر می‌کند. ریشه شیرین بیان دارای گلوکز، ساکارز، آسپاراژین، مواد آلبومینی، رزین و کمی اسانس است. در پژوهش حاضر، مشاهده شد که سه باکتری مورد مطالعه نسبت به غلظت‌های مختلف عصاره متانولی گیاه شیرین بیان (۱-۰/۰۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) حساسیت نشان دادند، هرچند اختلافی معنی‌دار میان هیچ‌یک از گروه‌های باکتری در

A,B است و برای معالجه یبوست، تخلیه روده پیش از جراحی یا اعمال و آزمایش‌های ویژه ناحیه شکم مورد استفاده قرار می‌گیرد. گلیکوزیدهای آنتراکینونی سنا، پس از هضم، هیدرولیز شده، آنتراکینون آزاد و فعال ایجاد می‌کنند.

آنوشیا و همکاران در ۲۰۰۹ نشان دادند که *S.aureus* و اشرشیاکلی در غلظت‌های ۶۴ میلی‌گرم در میلی‌لیتر، نسبت به عصاره متانولی گونه‌ای از سنا (*Cassia auriculata*) حساسیت نشان دادند در حالی که این باکتری‌ها به ترتیب در غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر، نسبت به عصاره آبی حساسیت نشان دادند (۱۷)؛ در این آزمایش نیز، گیاه سنا (*Cassia angustifolias*)، فقط روی باکتری انتروباکتر و تنها در غلظت‌های ۱-۰/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر (معادل ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) اثر داشته‌است.

ساگنویان و همکاران در ۲۰۰۶، فعالیت‌های ضد میکروبی را در خصوص عصاره متانولی گونه‌ای دیگر از سنا (*Cassia occidentalis*) بررسی کرده، نشان دادند که هاله عدم رشد باکتری در خصوص باکتری اشرشیاکلی و در غلظت ۹۰۰-۱۰۰۰ میلی‌گرم مشاهده می‌شود (۱۸).

آزمایش‌های مربوط به فعالیت‌های آنتی-اکسیدانی

نتایج به دست آمده در این بررسی نشان داد که در غلظت‌های مورد بررسی، آثار مهار عصاره‌های متانولی روی اتواکسیداسیون پیروگالول در خصوص گیاه آویشن و سنا اتفاق افتاد و در خصوص عصاره‌های متانولی شیرین بیان، تغییرهایی منظم مشاهده نشد؛ نتایجی که در سایر مطالعات به دست آمده نیز، وجود فعالیت‌های آنتی-اکسیدانی را در هر سه گیاه نشان داده‌اند که از جمله آنها می‌توان به موارد زیر اشاره کرد:

افشار میرزایی و همکاران در ۲۰۱۲، برخی خصوصیات *Thymus vulgaris* از جمله فعالیت‌های آنتی-اکسیدانی و ضد میکروبی را گزارش کردند (۱۹).

هستند. آویشن دارای تأثیرهای ضدقارچی و ضد-باکتریایی قوی است و این خاصیت به دلیل وجود تیمول و کارواکرول در اسانس آویشن است؛ چنانکه نتایج نشان داد، عصاره‌های متانولی آویشن *Thymus vulgaris* نیز مانند شیرین بیان (*Glycyrrhiza glabra*) بر هر سه گونه باکتری مؤثر بوده، هاله عدم رشد باکتری، مشاهده می‌شود که میانگین قطر هاله عدم رشد باکتری اشرشیاکلی در خصوص آویشن، بیشتر از شیرین بیان بوده‌است؛ میانگین هاله عدم رشد باکتری کلسیلا نیز در خصوص آویشن، بیشتر از بقیه گیاهان مشاهده شد. نتایج آزمون‌های آماری نشان می‌دهند که در خصوص گیاه آویشن، اختلافی معنی‌دار، میان گروه‌های مختلف باکتری وجود دارد ($p < 0/05$).

عتیق‌الرحمان و همکاران در سال ۲۰۰۹ فعالیت عصاره متانولی گونه‌ای از آویشن (*Thymus serpyllum*) را در برابر هشت گونه باکتری اندازه‌گیری کردند؛ ولی این عصاره، هیچ‌گونه فعالیت مثبتی را در برابر هیچ‌یک از باکتری‌ها نشان نداد (۱۲)؛ در حالی که نباهات و همکاران در ۲۰۰۸، فعالیت ضد میکروبی را نشان دادند (۱۳). مجاب و همکاران در ۲۰۰۸ درباره عصاره متانولی آویشن (*Thymus daenensis*) و مهرگان و همکاران در ۲۰۰۸ در خصوص عصاره متانولی آویشن (*Thymus pubescens*) بیان کردند که این عصاره‌ها روی باکتری‌های گرم مثبت اثر داشته، بر گرم منفی‌ها بی-تأثیرند (۱۴ و ۱۵). ایمه لووان و همکاران در ۲۰۰۹ ترکیب شیمیایی و خواص ضد میکروبی اسانس *Thymus vulgaris* را بررسی و ۴۳ ترکیب را شناسایی کردند که از میان آنها کامفور با ۳۸/۵۴ درصد، بیشترین ترکیب شناسایی شده بود؛ آنها همچنین خواص ضد میکروبی خوبی را نیز گزارش کردند (۱۶).

گیاه سنا از خانواده نخود، دست کم دارای ۱/۵ درصد گلیکوزیدهای هیدروکسی آنتراکینون است که قسمت عمده آن را سنوزیدهای A,B تشکیل می‌دهند. برگ سنا از دسته ملین‌های محرک است؛ خواص درمانی این گیاه به دلیل وجود گلیکوزیدهای آنتراکینونی از نوع سنوزید

با افزایش غلظت نشان‌داد؛ در این مقاله، ساپونین به‌عنوان جزء فعال زیستی معرفی شده‌است (۱۱).
 هاراگوچی و دی مامبرو نیز، شیرین بیان را به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان و جمع‌آوری‌کننده رادیکال آزاد قوی معرفی کرده‌اند (۲۰ و ۲۱). چاین و همکاران در ۲۰۰۷، ماده ایزولیکوایریتجین را به‌عنوان نوعی عامل بالقوه آنتی‌اکسیدان در گیاه شیرین بیان معرفی کردند (۲۲).

آنوشیا و همکاران در ۲۰۰۹ نشان دادند که فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های متانولی و اتیل‌استاتی گیاه سنا به‌طور بارزی، بیشتر از عصاره n-هگزانی است (۱۷).
 شاپنا و همکاران در ۲۰۱۰، آثار مهاری عصاره متانولی شیرین بیان را بر تولید رادیکال‌های سوپراکسید بررسی کردند که نتایج آنها یک اثر مهاری افزایش‌یابنده را همراه

جدول شماره ۳. حداقل غلظت مهارکنندگی باکتری MIC توسط عصاره‌های متانولی گیاهان مختلف

کنترل مثبت	کنترل منفی	۰/۰۵	۰/۱	۰/۲	۰/۵	۰/۷۵	۱	عصاره (میلی‌گرم در میلی-لیتر)	باکتری
+	-	-	-	-	-	-	-	شیرین بیان	اشرشیاکلی
+	-	-	-	-	-	-	-		کلبسیلا
+	-	+	+	+	+	+	+		انتروباکتر
+	-	-	-	+	+	+	+	آویشن	اشرشیاکلی
+	-	-	-	-	+	+	+		کلبسیلا
+	-	-	-	+	+	+	+		انتروباکتر
+	-	+	+	+	+	+	+	سنا	اشرشیاکلی
+	-	-	-	-	-	-	-		کلبسیلا
+	-	-	+	+	+	+	+		انتروباکتر

کنترل منفی = محیط کشت + عصاره کنترل مثبت = محیط کشت + سوسپانسیون میکروبی

جدول شماره ۴. حداقل غلظت کشنده باکتری MBC توسط عصاره‌های متانولی گیاهان مختلف

۰/۰۵	۰/۱	۰/۲	۰/۵	۰/۷۵	۱	عصاره (میلی‌گرم در میلی-لیتر)	باکتری
-	-	-	-	-	-	شیرین بیان	اشرشیاکلی
-	-	-	-	-	-		کلبسیلا پنومونیه
-	-	+	-	-	-		انتروباکتر آنروژنز
-	-	-	+	-	-	آویشن	اشرشیاکلی
-	-	-	+	-	-		کلبسیلا پنومونیه
-	-	-	-	-	+		انتروباکتر آنروژنز
-	-	+	-	-	-	سنا	اشرشیاکلی
-	-	-	-	-	-		کلبسیلا پنومونیه
-	-	-	+	-	-		انتروباکتر آنروژنز

جدول شماره ۵. فعالیت آنتی‌اکسیدانی در روش اتواکسیداسیون پیروگالول توسط عصاره‌های متانولی گیاهان مختلف (افزایش مقادیر همراه با افزایش غلظت، نشان‌دهنده افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی است)

۰/۰۵	۰/۱	۰/۲	۰/۵	۰/۷۵	۱	عصاره / میلی‌گرم در میلی‌لیتر
-۸۲/۳۵۳	-۹۰/۱۹۶	-۸۲/۳۵۳	-۸۲/۳۵۳	-۵۴/۹۰۲	-۸۸/۲۳۵	شیرین بیان
۳۳/۰۷۷	۳۵/۳۸۵	۲۹/۶۸۸	۳۴/۸۸۴	۳۷/۶۹۲	۴۰/۰۰۰	آویشن
-۴۵/۸۳۳	-۳۷/۵۰۰	-۵۶/۹۴۴	-۳۰/۵۵۶	-۲۷/۷۷۸	-۱۸/۰۵۶	سنا

گیاهی، به‌عنوان جمع‌آوری‌کننده‌های رادیکال‌های آزاد و مهارکننده پراکسیداسیون لیپیدی شناخته شده‌اند. آنیون سوپراکسید یک رادیکال آزاد ابتدایی بوده، نقشی مهم در تشکیل سایر گونه‌های اکسیژن فعال مانند پراکسید هیدروژن، رادیکال هیدروکسیل یا اکسیژن تک‌ی در سیستم‌های زنده ایفا می‌کند (۳۱).

همان‌گونه‌که بیان شد در این کار پژوهشی، آنیون‌های سوپراکسید توسط سیستم اکسیداسیون پیروگالول تولید و اثرهای مهاری در دو گونه از گیاهان به‌عنوان مهارکننده اتواکسیداسیون پیروگالول مشاهده شدند؛ بنابراین هر ماده موجود در سیستم واکنش که می‌تواند بر اکسیداسیون پیروگالول اثر داشته باشد، ممکن است روی نتیجه آزمایش تأثیر بگذارد. درخصوص شیرین بیان می‌توان گفت از آنجاکه عصاره متانولی آن، عصاره‌ای خام بوده، اجزای مختلف تشکیل‌دهنده آن، تفکیک نشده بودند، این امکان وجود دارد که وجود برخی مواد، اکسیداسیون پیروگالول را تشدید کند و بنابراین، آثار مهاری را کاهش دهد؛ درحالی‌که در سیستم‌هایی مانند سیستم ریوفلاوین، رادیکال‌های سوپراکسید تولید می‌شوند و توسط ترکیب‌های سیستم واکنش تحت تأثیر قرار نمی‌گیرند. در مطالعه شاپنا و همکاران در ۲۰۱۰ که نشان‌دهنده آثار آنتی‌اکسیدانی شیرین بیان و مهار رادیکال‌های سوپراکسید بود، از سیستم ریوفلاوین استفاده شده بود؛ حتی اگر هر دوی این روش‌ها درخصوص گیاهی به‌کار گرفته شوند، مشاهده می‌شود که درصد مهار، توسط سیستم ریوفلاوین نسبت به پیروگالول، بیشتر است؛ چنانکه زانگوجیانو و همکاران در ۲۰۰۵ این اثر متفاوت را در عصاره خام «شاه‌توت» مشاهده کردند به‌طوری‌که درصد مهار، توسط سیستم ریوفلاوین نسبت به پیروگالول بیشتر بود (۳۲). لی و همکاران در ۲۰۰۰، این اثر را درخصوص آثار جمع‌کننده رادیکال پلی فنول‌های چای و اکسیدان‌های آن مشاهده کردند (۳۳)؛ پیش‌تر نیز زانگ و جی در ۲۰۰۰ دریافتند، زمانی‌که از سیستم پیروگالول برای اندازه‌گیری

درکل، با توجه به نتایج این پژوهش و سایر مطالعات انجام‌یافته می‌توان گفت که عوامل زیادی در بروز تأثیرهای متعدد از جمله خواص ضد میکروبی و آنتی-اکسیدانی یک گیاه مؤثرند؛ عواملی مانند میزان اسانس گیاه، روش عصاره‌گیری و نوع حلال مورد استفاده، نوع محیط کشت و مواد موجود در آن و غلظت عصاره (۲۳ تا ۲۶). عصاره‌هایی که با روش‌ها و حلال‌های متفاوت از یک گیاه استخراج می‌شوند، می‌توانند آثار ضد میکروبی متفاوتی روی گونه‌های خاص میکروارگانیسم‌ها از خود نشان دهند (۲۷)؛ چنانکه این امر در مطالعه آنوشیا و همکاران (۲۰۰۹) در تفاوت اثر عصاره‌های آبی و الکلی مشاهده شد (۱۷). ابراهیم و عثمان (۲۸) نشان دادند که عصاره اتانولی برگ‌های گیاه *Cassia alata* اثر ضدقارچی ضد چهارگونه قارچی دارد، اما روی مخمرها و گونه‌های باکتریایی بی‌تأثیر است، اما تأثیرهای ضدباکتریایی عصاره متانولی این گیاه، توسط خان و همکارانش (۲۹) ثابت شد و پنا و همکاران (۳۰) گزارش کرده‌اند که تنها عصاره کلروفرمی گیاه *Myrcianthes cisplatensis*، روی باسیلوس سوبتیلیس اثری مهارکننده دارد و عصاره‌های هیدروالکلی، متانولی و آبی بی‌اثرند.

این نکته درباره مطالعات آنتی‌اکسیدانی نیز صدق می‌کند، با توجه به اینکه سایر مطالعات، وجود خاصیت جمع‌آوری‌کنندگی رادیکال‌های سوپراکسید را در گیاه شیرین بیان، برخلاف آنچه در این مطالعه به‌دست آمد، نشان می‌دهند، چنین استنباط می‌شود که روش انتخاب شده درخصوص این گیاه، مناسب نبوده است؛ از طرفی، اثرهای آنتی‌اکسیدانی توسط عصاره متانولی آویشن و سنا مشاهده شد. از آنجاکه فلاونوئیدها و نیز انواع ترکیب‌های گلیکوزیدی از جمله آنتراکینون‌ها به‌منظور جمع‌آوری آنیون‌های سوپراکسید تولید شده توسط سیستم اتواکسیداسیون پیروگالول مؤثرند، می‌توان بروز این اثر را به وجود این ترکیب‌ها نسبت داد. فلاونوئیدها و نیز آنتوسیانین‌ها که جزو فلاونوئیدها هستند، با منشأ

منابع

- Oussalah M, Caillet S, Saucier L and Lacroix M. Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: E-coli O157: H7, Salmonella typhimurium, Staphylococcus aureus and Listeria monocytogenes. *Food Control*. 2007; 18(5): 414-20.
- Aruoma OI. Free radicals, oxidative stress and antioxidants in human health and disease. *J Am Oil Chem Soc*. 1998; 75:199-59.
- Block GL. Langseth, Antioxidant vitamins and disease prevention. *Food Technol*. 1994; 7: 80-84.
- Hertog MGL, Feskens EJM, Hollman PCH, Katan MB, Kromhout D. Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: The Zutphen elderly study. *Lancet*. 1993; 342: 1007-1011.
- Lee J, Koo N, Min DB. Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals. *Compr Rev Food Sci Food Saf*. 2004; 3 :21-33.
- Nikkhah E, Khayami M, Heidari R. Evaluation of nitric oxide scavenging activity of anthocyanins from blackberry (*Morus nigra*), strawberry (*Fragaria vesca*) and berry (*Morus alba* Var. *Nigra*) extracts. *Iranian journal of medicinal and aromatic plants*. 2009; 25(1):120-128.
- Jalali M, Abedi D, Asghari GH, Rezaee Z. A Study of Anti-Microbial Effect of *Pycnocycla Spinosa's* Fruit Extracts. *J Mazandaran University of medical Science*. 2007; 59: 76-86. (Persian)
- Nikkhah E, Khayami M, Heidari R. In Vitro Screening for Antioxidant Activity and Cancer Suppressive Effect of Blackberry (*Morus nigra*). *Iranian journal of cancer prevention*. 2008; 1(4):167-172.
- Baron Ellen J, Fine G, Sydney M. *diagnostic Microbiology*. 8th Ed. Mosby company; 1990.
- Murray P, Baron R, Pfaller EJ, Tenoer M, Tenover FC, Tenover FC. *Manual of clinical Microbiology*. 7th Ed. American society for microbiology; 1999.
- Shapna S, Afroza H, Kaiser H, Kaniz F, Sumon R. Antimicrobial, cytotoxic and antioxidant activity of methanolic extract of *Glycyrrhiza glabra*. *Agric Biol J N Am*. 2010; 1(5): 957-960.
- Ur-Rehman A, Mannan A, Inayatullah S, Akhtar MZ, Bushra Mirza MQ. Biological evaluation of wild thyme (*Thymus serpyllum*). *Pharmaceutical Biology*. 2009; 47(7): 628-633.
- Oral N, Murat G, Leyla V, Abamuslim G. Application of antimicrobial ice for extending shelf life of fish. *J Food Prot*. 2008; 71: 218-222.
- Mehrgan H, Mojab F, Pakdamanc Sh, Poursaeed M. Antibacterial Activity of *Thymus pubescens* Methanolic Extract. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 2008; 7 (4): 291-295.
- Mojabb F, Poursaeed M, Mehrgan H, Pakdamanc Sh. Antibacterial activity of *Thymus daenensis* Methanolic Extract. *Pak J Pharm Sci*. 2008; 21(3):210-213.

سوپراکسید دیسموتاز در عصاره خام ذرت استفاده کردند، به دلیل پیچیدگی ترکیبها، نتیجه‌ای حاصل نشد؛ درحالی‌که سیستم ریوفلاوین، ویژگی‌های بیشتری نسبت به سیستم پیروگالول دارد زمانی که برای تعیین فعالیت سوپراکسید دیسموتاز یا رادیکال‌های سوپراکسید به کار می‌رود (۲۴)؛ در تحقیق‌های پیشین نیز به منظور بررسی فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی آنتوسیانین‌ها در «شاه-توت» (۲۰۰۸) و «توت‌سیاه» (۲۰۰۹) از روش اتواکسیداسیون پیروگالول استفاده شد و عصاره‌های این گیاهان، فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل‌ملاحظه‌ای را که به دوز وابسته است، نشان دادند (۸ و ۳۴)؛ بنابراین پیشنهاد می‌شود از روش اکسیداسیون پیروگالول، تنها زمانی استفاده شود که عصاره به اجزای تشکیل‌دهنده خود تفکیک شده یا ترکیب‌های تشکیل‌دهنده عصاره خام، پیچیدگی زیادی نداشته باشند؛ درکل با توجه به نتایج به‌دست‌آمده از این مطالعه، مشاهده شد که گیاه آویشن، در هر دو مورد، یعنی خواص آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌باکتریایی، تأثیرهایی بهتر و بیشتر نسبت به دو گیاه مورد مطالعه دیگر دارد که به احتمال، دلیل این امر، نوع موادی است که در عصاره متانولی این گیاه وجود دارد؛ بنابراین به شناسایی دقیق‌تری به منظور شناخت مواد مؤثر موجود نیاز است که می‌توان این کار را با روش‌های مختلف جداسازی و شناسایی از جمله انواع مختلف کروماتوگرافی و طیف‌سنجی انجام داد.

تشکر و قدردانی

بر خود لازم می‌دانیم تا از جناب آقای دکتر بابایی، رئیس محترم مرکز تحقیقات کاربردی دارویی دانشگاه علوم پزشکی تبریز و نیز جناب آقای دکتر دل‌آذر، رئیس محترم آزمایشگاه فارماکوگنوزی این مرکز که طی این پژوهش با ما همکاری کردند، تشکر و قدردانی کنیم؛ همچنین از سرکار خانم دکتر ائنی‌عشری، کارشناس محترم آزمایشگاه گیاهان دارویی مرکز تحقیقات کاربردی دارویی و نیز سرکار خانم واحدی، کارشناس محترم آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد بناب نیز سپاسگزاریم.

16. Imelouane B, Amhamdi H, Wathelet JP, Ankit M, Khedid K, Bachiri A. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oil of Thyme (*Thymus vulgaris*) from Eastern Morocco. *Int J Agric Biol.* 2009; 11(2): 205-208.
17. Anushia C, Sampathkumar P, Ramkumar L. Antibacterial and Antioxidant Activities in *Cassia auriculata*. *Global Journal of Pharmacology.* 2009; 3 (3): 127-130.
18. Saganuwan AS, Gulumbe ML. Evaluation of in vitro antimicrobial activities and phytochemical constituents of *Cassia occidentalis*. *Animal Research International.* 2006; 3(3): 566-569.
19. Afshar Mirzaei A, Syadati SA, Fathi H. Some of thyme (*Thymus vulgaris*) properties in ruminant's nutrition. *Annals of Biological Research.* 2012; 3(2):1191-1195.
20. Di Mambro VM, Fonseca MJ. Assays of physical stability and antioxidant activity of a topical formulation added with different plant extract. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis.* 2005; 37: 287-295.
21. Haraguchi H, Yoshida N, Ishikawa H, Tamura Y, Mizutani K, Kinoshita T. Protection of mitochondrial functions against oxidative stresses by isoflavans from *Glycyrrhiza glabra*. *Journal of Pharmacy and Pharmacology.* 2000; 52: 219-223.
22. Chin YW, Jung HA, Liu Y, Su BN, John A, Castoro WJ, Keller MA, Douglas K. Anti-oxidant constituents of the roots and stems of licorice (*Glycyrrhiza glabra*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 2007; 55: 4691-4696.
23. Singh A, Singh RK, Bhunia AK, Singh N. Efficacy of plant essential oils as antimicrobial agents against, *Listeria monocytogenes* in hotdogs. *Lebensmittel wissenschaft uan Technologic.* 2003; 36(8): 787-799.
24. Zhang WJ, Ge C. Comparison of pyrogallol autoxidation and NBT photo reduction assay in detecting activity of SOD. *J Hebei Vocation-Technical Teachers College.* 2000; 14: 68-70.
25. Cosentino S, Tuberoso CLG, Pisano B, Satta M, Mascia V, Araedi E, Planas F. In vitro antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian thymus essential oils. *Lett Appl Microbiol.* 1999; 29: 130-135.
26. Rasuoli I, Mir mostafa SA. Bacterial susceptibility to and chemical composition of *Thymus persicu*. *J Agric Food Chem.* 2003; 51(8): 2200-5.
27. Nostro A, Gernano MP, Angelo VA, Marino A, Cannatelli MA. Extraction methods and bio autography for evaluation of medicinal plant antimicrobial activity. *Lett Appl Microbiol.* 2000; 30: 379-384.
28. Ibrahim D, Osman H. Antimicrobial activity of *Cassia alata* from Malaysia. *J Ethnopyarmacol.* 1995; 45(3): 151-156.
29. Khan MR, Kihara M, Omoloso AD. Antimicrobial activity of *Cassia alata*. *Fitoterapia.* 2001; 75(2): 561-564.
30. Penna C, Marino S, Viot E, Cruanes MC, Munoz J, Cruanes J, et al. Antimicrobial activity of Argentine plants used in the treatment of infectious diseases. *Isolation of active compounds from Sebastiania brasiliensis.* *J Ethnopharmacol.* 2001; 77: 37- 40.
31. Stief, TW. The physiology and pharmacology of singlet oxygen. *Med Hypotheses.* 2003, 60: 567-572.
32. Zhonggao C, Felgines O, Texier C, Besson DJ, Liu J, Wang S. Antioxidant Activities of Total Pigment Extract from Blackberries. *Food Technol Biotechnol.* 2005; 43(1): 97-102.
33. Li CM, Xie BJ. Investigation with spectrophotometric method on the radical scavenging effect of tea poly phenol and its oxidant. *Fine Chemicals.* 2000; 17: 241-244.
34. Nikkhah E, Khayami M, Heidari R. In vitro antioxidant activity of berry (*Morus alba* var, *nigra*). *International Journal of Plant Production.* 2009; 3(4): 15-18.

Daneshvar
Medicine

*Scientific-Research
Journal of Shahed
University
Seventeenth Year,
No.100
August, September
2012*

Received: 19/9/2012

Last revised: 16/10/2012

Accepted: 17/10/2012

Evaluation of antioxidant and antibacterial effect of methanolic extract from thyme (*Thymus vulgar*), senna (*Cassia angustifolia*) and licorice (*Glycyrrhiza glabra*)

Zahra Hojjati Bonab¹, Elhameh Nikkhah^{2*}

1. Department of Microbiology, Islamic Azad University of Bonab, Bonab, Iran

2. PhD student in Pharmacognosy, Drug Applied Research Center, Tabriz University of Medical Science, Tabriz, Iran

E-mail: tu8084@yahoo.com

Abstract

Background and Objective: Thymus vulgar, Cassia angustifolia and Glycyrrhiza glabra are widely used in the East Azerbaijan folk medicine. Effective compounds present in these plants could be candidates for some of their biological activities and therefore for their therapeutic uses. In this study, methanolic extract of these plants was used to detect their antioxidant and antimicrobial activity.

Materials and Methods: Methanolic extract of the dried powder was obtained by maceration method. Then, the solvent was removed by rotary evaporator. As antioxidant activity test, superoxide anion radical scavenging level was measured by a pyrogallol auto-oxidation system. The antibacterial activity of methanolic extract of these plants was tested by disc diffusion method against 3 enteric microorganisms. The minimal inhibitory concentrations (MIC) and the minimum bactericidal concentration (MBC) of methanolic extracts were also determined.

Results: The antioxidant activity of methanolic extract of Thymus was dose-dependent; The Cassia also showed antioxidant properties in small quantities, but no specific antioxidant activity of Glycyrrhiza extract was observed. The three microorganisms were sensitive to the methanolic extract of these plants and showed 4 to 15 mm zone of inhibition.

Conclusion: Thyme has both stronger antioxidant and antibacterial activities than the other two plants. Generally, different results obtained for each plant depend on several factors such as amount of active ingredients contained in each plant and it also depends on genus and the family of plants, type of solvent and extraction method.

Key words: Antioxidant, Antibacterial, Methanolic extract, Thyme, Senna, Licorice