پژوهنده (مجله پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی)
سال بیستم، شماره ۴، پی‌درپی ۱۰۶، صفحات ۲۳۴ تا ۲۳۹
مهر و آبان ۱۳۹۴

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۴/۵/۲۱
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۴/۹/۱۷

تعیین فعالیت‌های ضد باکتریایی وآنتی‌اکسیدانی و تعیین ترکیبات شیمیایی اسانس برگ گیاه گزنه *Urtica dioica* L.

حمیدرضا نیک‌نژاد[۱]، دکتر علی محمد اصغریان*[۲]

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تنکابن، تنکابن، ایران
۲. استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تنکابن، تنکابن، ایران

چکیده

سابقه و هدف: گونه‌های متعددی از گیاهان دارویی در ایران وجود دارد، به طوری‌که می‌توان از آنها در زمینه‌ی کنترل و درمان عفونت‌های میکروبی بهره گرفت. در این زمینه، اسانس گیاه گزنه در مهار رشد باکتری‌های گرم مثبت و منفی و فعالیت آنتی‌اکسیدان، اثرات مطلوبی را نشان می‌دهد. این پژوهش با هدف تعیین اثرات ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی مربوط به اسانس برگ گزنه برداشت شده از منطقه‌ی سه هزار تنکابن انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه‌ی آزمایشگاهی، برگ‌های گیاه گزنه از منطقه‌ی سه هزار شهرستان تنکابن جمع‌آوری و به‌وسیله‌ی دستگاه کلونجر اسانس‌گیری شد. ترکیبات شیمیایی اسانس توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنجی جرمی- جرمی، شناسایی شد. همچنین میزان MIC و MBC علیه باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس حساس و مقاوم به متی‌سیلین، سالمونلا تایفی موریم، اشرشیا کلای، سودوموناس آئروژینوزا، باسیلوس سوبتیلیس و شیگلا دیسانتری تعیین شد. از روش DPPH برای تعیین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی اسانس، استفاده گردید.

یافته‌ها: اسانس برگ گزنه، نتایج ضدباکتریایی قابل قبولی روی باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی به‌جز باسیلوس سوبتیلیس داشت. نتایج IC50 و AAI اسانس به ترتیب ۲۱/۵۳ و ۲/۱۱۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. ترکیبات شیمیایی غالب شامل Phytol (۳۵٪)، Nonanal (۱۵/۳٪)، β-Ionone (۹/۰٪)، Phtaleic acid (۷/۴٪) و Carvacrol (۳/۵٪) بود.

نتیجه‌گیری: اسانس برگ گزنه به‌عنوان یک عامل ضد باکتریایی وسیع‌الطیف جدید و آنتی‌اکسیدان قوی می‌تواند در درمان و کنترل بیماری‌های عفونی کاربرد داشته باشد.

واژگان کلیدی: فعالیت ضد باکتریایی، اسانس برگ گزنه، آنتی‌اکسیدان، ترکیبات شیمیایی

لطفاً به این مقاله به صورت زیر استناد نمایید:

Niknejad H, Asgharian A. Determination of antibacterial and antioxidant activity and identifying chemical compounds of *Urtica dioica* L. leaf essence as a potent antibacterial agent. Pejouhandeh 2015;20(4):234-239.

مقدمه

کنترل و درمان بیماری‌های عفونی ناشی از میکروارگانیسم‌ها از مباحث قابل توجه و تأثیرگذار در سلامت و بهداشت هر جامعه است. امروزه به‌دلیل رشد فزاینده‌ی میکروب‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌های رایج از یک‌سو و کمبود ترکیبات ضدمیکروبی از سوی دیگر، تداوم پژوهش در زمینه‌ی شناسایی ترکیبات ضدمیکروبی جدید ضروری است (۱). در این راستا، مدت‌هاست که استفاده از گیاهان دارویی مختلف و ترکیبات آلی و آروماتیک آنها در طب سنتی مورد استفاده قرار می‌گیرند، به‌طوری‌که باعث افزایش عمر مفید مواد غذایی و همچنین مهار عفونت‌های ناشی از باکتری‌ها، قارچ‌ها و مخمرها می‌شوند. در واقع گیاهان دارویی، یک منبع غنی از مواد ضدمیکروبی می‌باشند که برخلاف داروهای آنتی‌بیوتیکی سنتتیک، ترکیبات ضدمیکروبی گیاهی عوارض جانبی کمتر و پتانسیل بالاتری در درمان بیماری‌های عفونی دارند (۲). بسیاری از خواص گیاهان دارویی می‌تواند مربوط به اسانس تولید شده در آنها باشد که از گروه متابولیت‌های ثانویه در گیاهان است (۳). اجزای اصلی تشکیل‌دهنده‌ی اسانس‌ها غالباً مونوترپن‌ها و سزکویی‌ترپن‌هایی است که شامل گروه‌های کربوهیدرات‌ها، فنل‌ها، اترها، آلدئیدها و کتون‌ها می‌باشد (۴).

*نویسنده مسؤول مکاتبات: دکتر علی محمد اصغریان؛ گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تنکابن، تنکابن، ایران؛ پست الکترونیک: Mehranasgharian@yahoo.com

گیاه گزنه با نام علمی اورتیکا دیویکا (*Urtica dioica* L.) یک گیاه گلدار چند ساله‌ی علفی است که در سراسر جهان رشد می‌کند (۵). این گیاه متعلق به خانواده‌ی Urticaceae می‌باشد که به‌عنوان یک گیاه دارویی مهم در رژیم غذایی انسان توصیه می‌شود، زیرا یک منبع مناسب از مواد معدنی (آهن، منگنز، پتاسیم، کلسیم)، کلروفیل، اسیدهای آمینه، کاروتنوئید، ویتامین‌ها و همچنین فلاونوئیدها، تانن‌ها، استرول‌ها، پلی‌ساکاریدها و لکتین می‌باشد (۶). در میان گونه‌های Urtica، *U. dioica* و *U. urens* در حال حاضر شناخته شده‌تر بوده و به همین دلیل برای مدت طولانی به‌عنوان گیاهان دارویی در بسیاری از نقاط جهان، مورد استفاده قرار گرفته‌اند (۷). گزارش‌های مختلف نشان داده‌اند که استفاده از گزنه (دانه و برگ) همراه یا بدون گیاهان دیگر، دارای اثرات مفید در درمان برخی از بیماری‌ها مانند دیابت، اگزما، التهاب کبد، کم خونی، روماتیسم و سرطان پروستات بوده است (۸). برگ‌های این گیاه برای درمان پرفشاری خون و آرتریت روماتوئید نیز گزارش شده است (۹). حضور ترکیبات آنتی‌اکسیدانی از جمله فلاونوئیدها، اسیدهای فنلی و ترپن‌ها در گیاهان، نه تنها اثرات مضر و آسیب شناختی حاصل از رادیکال‌های آزاد را معکوس می‌کنند، بلکه در ایجاد فعالیت ضدمیکروبی گیاهان، نقش مؤثری دارند (۱۰). با این حال هنوز گزارشی در مورد اثرات ضدباکتریایی مربوط به اسانس برگ گزنه، مشاهده نشده است. این در حالی است که مطالعات مختلفی در مورد اثرات ضدمیکروبی عصاره‌ی برگ گزنه در ایران و سایر مناطق دنیا انجام شده است. به عنوان مثال، معتمدی و همکاران نشان دادند که عصاره‌ی اتانولی گزنه برداشت شده از خوزستان، سبب مهار رشد باکتری‌های استافیلوکوک اورئوس و اشرشیا کلی می‌شود (۱۱). مطالعات مدرسی و همکاران، به مؤثر بودن بیشتر عصاره‌ی الکلی گزنه بر باکتری‌های گرم مثبت نسبت به گرم منفی‌ها اشاره دارد (۱۲). در این راستا، Culchin و همکارانش در ترکیه نشان دادند که عصاره‌ی گزنه از ترکیه، بر باکتری اشرشیا کلی، خاصیت ضدمیکروبی داشته ولی بر سودوموناس اثر آنتی‌باکتریال نداشت (۱۳). از طرفی، در مطالعه‌ای که توسط Proesto و همکارانش در مصر انجام شد، مشخص گردید که عصاره‌ی اتانولی گزنه بر باکتری استافیلوکوک اورئوس اثر ضدمیکروبی با حساسیت متوسط داشت (۱۴).

تفاوت در اثرات مهاری عصاره‌های گیاهی بر باکتری‌ها به عوامل مختلفی وابسته است که از آن میان می‌توان به منطقه‌ی جغرافیایی و محل رویش، رقم و سن گیاه، روش خشک کردن گیاه، روش استخراج ترکیبات مؤثره، نوع حلال، غلظت عصاره و نوع محیط کشت اشاره نمود (۱۵). پس انتظار می‌رود که در صورت تغییر منطقه‌ی جغرافیایی، تولیدات ثانویه‌ی گیاهی نیز تغییر یابد که این اصل در شناسایی گروه‌های متنوع ترکیبات ضدمیکروبی گیاهی، مؤثر است.

هدف اصلی در این مطالعه، تعیین اثرات ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی مربوط به اسانس برگ گزنه برداشت شده از منطقه‌ی سه هزار تنکابن بود.

مواد و روش‌ها

برگ‌های گیاه گزنه در اردیبهشت سال ۱۳۹۳ از منطقه‌ی سه هزار شهرستان تنکابن واقع در شمال غرب استان مازندران با مختصات جغرافیایی $36^{o}\ 37'\ 50/06''\ N\ 50^{o}\ 50'\ 24/0''\ E$ در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و ارتفاع حدوداً ۲۰۰۰ متر از سطح دریا جمع‌آوری و پس از تأیید توسط مسؤول هرباریوم دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن (با کد هرباریوم ۱۲۰۳) به آزمایشگاه میکروبیولوژی منتقل و در شرایط مناسب و به دور از نور مستقیم خورشید، خشک گردید. پس از خشک شدن کامل، توسط دستگاه آسیاب برقی برای ادامه‌ی آزمایشات، پودر آن تهیه گردید. استخراج اسانس گیاه گزنه به روش تقطیر با آب و با استفاده از دستگاه کلونجر به مدت دو ساعت به طول انجامید. اسانس حاصل توسط سولفات سدیم، آب‌گیری شد (۱۶).

برای شناسایی ترکیبات شیمیایی اسانس، از دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنجی جرمی- جرمی (GC/MS/MS) مدل Agilent 7890A با ستون به طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر از نوع HP-5MS انجام شد. برنامه‌ی دمایی ستون به این صورت تنظیم شد که دمای ابتدایی آن ۵۰ درجه سانتی‌گراد و توقف در این دما به مدت یک دقیقه، سپس افزایش دما با سرعت ۵ درجه سانتی‌گراد در دقیقه تا دمای ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد و ۱۰ دقیقه توقف در این دما صورت گرفت. دمای اتاقک تزریق، ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد و از گاز هلیوم به عنوان گاز حامل با سرعت جریان یک میلی‌لیتر در دقیقه استفاده شد.

برای تعیین خاصیت ضدباکتریایی، از استافیلوکوکوس اورئوس PTCC 1113، استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین PTCC 1764، اشرشیا کلای PTCC 1399، سالمونلا تیفی PTCC 1609، باسیلوس سوبتیلیس PTCC 1156، سودوموناس آئروژینوزا PTCC 1599 و شیگلا دیسانتره PTCC 1188 که از مرکز کلکسیون

میکروارگانیسم‌های صنعتی ایران خریداری و در فریزر ۷۰- درجه سانتی‌گراد همرا با ۱۰ درصد گلیسرول نگهداری شد، استفاده گردید.

تعیین حداقل غلظت مهاری (MIC) به روش ماکرودایلوشن و مطابق با مرجع CLSI-M07-A9 سال ۲۰۱۲ انجام شد. بر همین اساس، از محیط مولر هینتون براث استفاده شد و گرمخانه‌گذاری در دمای ۲±۳۵ درجه سانتی‌گراد انجام گرفت. باکتری‌های نامبرده‌ی فوق، با کدورت معادل نیم مک‌فارلند که حاوی $۱/۵\times۱۰^{۸}$ CFU/mL در محیط کشت مولر هینتون براث (مرک، آلمان) بود، تهیه شدند. سپس غلظت‌های ۱۰۰، ۵۰، ۲۵، ۱۲/۵، ۶/۲۵، ۳/۱۲۵، ۱/۵۶، ۰/۷۸ و ۰/۳۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر از اسانس برگ گزنه در حجم نهایی ۱ میلی‌لیتر از محیط مولر هینتون براث با باکتری‌های فوق، آماده‌سازی شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. در ادامه، حداقل غلظت مهاری آنها با استفاده از نمونه‌های کنترل خوانده شد. غلظت مهاری حداقل، به غلظتی از اسانس گفته می‌شود که رشد باکتری در آن دیده نشده باشد (۱۷).

برای تعیین حداقل غلظت باکتری‌کشی (MBC) از همه‌ی غلظت‌های فاقد کدورت، جداگانه مقدار ۱۰۰ میکرولیتر روی محیط مولرهینتون آگار کشت داده شدند و در داخل انکوباتور ۳۷ درجه به مدت ۱۸ الی ۲۴ ساعت انکوبه شدند. پس از مدت تعیین شده، کمترین غلظتی از اسانس که باکتری در آن رشد نکرده بود، به عنوان غلظت کشندگی گزارش گردید.

جهت بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی، از ۲و۲- دی فنیل ۱- پیکریل هیدرازیل استفاده شد. این ماده در طول موج ۵۱۷ نانومتر بیشینه‌ی جذب را نشان می‌دهد که از قانون بیرلامبرت پیروی کرده و کاهش جذب آن با میزان ماده آنتی‌اکسیدان، رابطه‌ی خطی دارد. DPPH با مواد آنتی‌اکسیدانی واکنش داده که رنگ محلول از بنفش به زرد تغییر کرده و با کاهش جذب نوری همراه است (۱۱). نمونه‌های اسانس با غلظت‌های متفاوت با یک میلی‌لیتر از محلول DPPH مخلوط گردید و با متانول ۹۵ درصد به حجم ۳ میلی‌لیتر رسید و به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی گذاشته شد. پس از ۳۰ دقیقه، جذب هر لوله توسط دستگاه اسپکتروفتومتری UV-VIS مدل Rayleigh-UV1601 در طول موج ۵۱۰ نانومتر خوانده شد. در نهایت، فعالیت ضدرادیکالی با فرمول زیر محاسبه گردید (۱۱):

$$AA\% = (A_{\text{شاهد}} - A_{\text{نمونه}} / A_{\text{شاهد}}) \times ۱۰۰$$

که در آن، A شاهد: جذب محلول DPPH + متانول؛ A نمونه: جذب محلول DPPH + نمونه (یا ماده‌ی استاندارد).

فعالیت ضد رادیکالی در مقابل غلظت‌های مختلف نمونه یا ترکیب مرجع نمایش داده شد و IC_{50} آن محاسبه شد. این مقدار محاسبه شده، نشان‌دهنده‌ی غلظت مورد نیاز برای مهار ۵۰ درصد از رادیکال‌های DPPH می‌باشد.

نتایج همچنین به عنوان شاخص فعالیت آنتی اکسیدانی (AAI) نشان داده شد (۱۸):

$$AAI = C_{DPPH} \text{ پایانی} / IC_{50}$$

AAI با مقادیر به‌دست آمده از اسکوربیک اسید که به‌عنوان استاندارد می‌باشد، مقایسه گردید. آزمایش سه بار تکرار و میانگین نتایج به همراه انحراف از معیار آنها با استفاده از نرم‌افزار SPSS و با تجزیه واریانس (ANOVA) مورد آنالیز آماری قرار گرفتند.

یافته‌ها

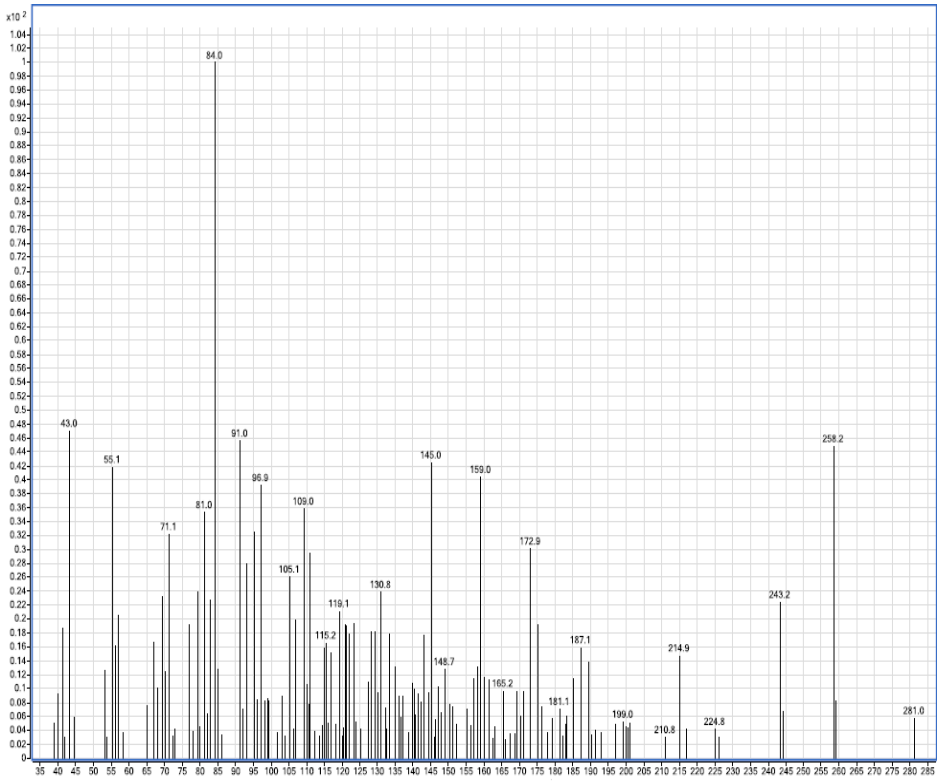
ترکیبات غالب در اسانس گیاه گزنه برداشت شده از منطقه‌ی سه هزار تنکابن شامل Phytol (۳۵٪)، Nonanal (۱۵/۳٪)، β-Ionone (۹/۰٪)، Phtaleic acid (۷/۴٪) و Carvacrol (۳/۵٪) بود (شکل ۱).

اسانس گیاه گزنه بر استافیلوکوکوس اورئوس در غلظت مهارکنندگی ۶/۲۵ میکرگرم بر میلی‌لیتر و غلظت کشندگی ۱۲/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر از خود نشان داد، در حالی‌که اثرات باکتری‌ساید و باکتریواستاتیک در MRSA در غلظت‌های بالاتری بود. همچنین، باکتری اشرشیا کلای به غلظت بیشتری از اسانس برای مهار و کشته شدن نسبت به سالمونلا نیاز داشت (جدول ۱).

در سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی IC_{50} برابر ۲۱/۵۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر را نشان می‌دهد در حالی که برای اسکوربیک اسید ۶/۱۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود (جدول ۲). همچنین، درصد به دام‌اندازی رادیکال‌های آزاد اسانس گزنه، ارتباط معناداری را در غلظت‌های مختلف از خود نشان داد (نمودار ۱).

بحث

نتیجه‌ی شناسایی ترکیبات اسانس برگ گیاه گزنه، با تحقیقات انجام شده توسط Suleyman Gul و همکاران (۱۸) که تجزیه‌ی فیتوشیمیایی اسانس را به روش GC/MS را انجام داده بودند تا حدودی تطابق داشت ولی باید توجه داشت که نتایج مربوط به ترکیبات در گزارش‌ها متفاوت است که این این تنوع ممکن است مربوط به زمان برداشت گیاه، رویشگاه



شکل ۱. کروماتوگرام حاصل از آنالیز GC/MS/MS اسانس برگ گیاه گزنه منطقه سه هزار تنکابن (محور افقی، نمودار زمان و محور عمودی، فراوانی است).

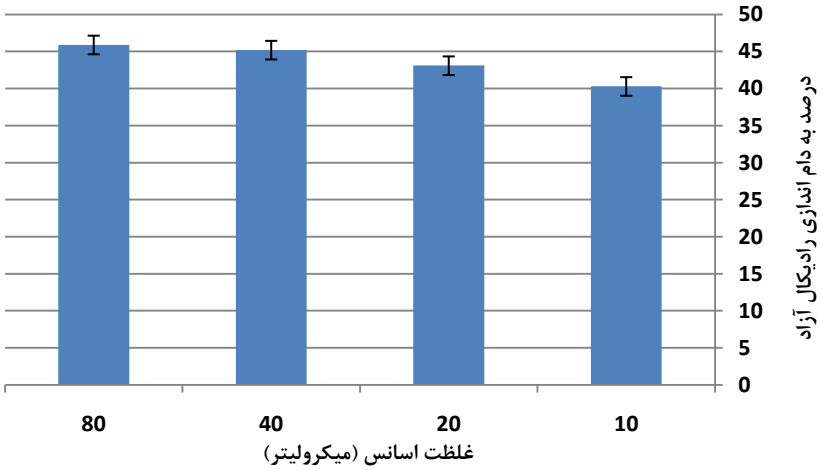
جدول ۱. میانگین حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت باکتری‌کشی (MBC) اسانس برگ گیاه گزنه.

میکروارگانیسم	MIC (µg/mL)	MBC (µg/mL)
استافیلوکوک اورئوس	۶/۲۵	۱۲/۵
استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین	۱۲/۵	۵۰
سالمونلا تیفی موریم	۶/۲۵	۲۵
اشرشیا کلای	۱۲/۵	۵۰
سودوموناس آئروژینوزا	۱۲/۵	۵۰
باسیلوس سوبتیلیس	۲۵	-
شیگلا دیسانتره	۲۵	۱۰۰

جدول ۲. میزان IC_{50} و شاخص آنتی‌اکسیدانی اسانس برگ گیاه گزنه.

نمونه	DPPH	
	IC_{50} (µg/mL)	AAI (µg/mL)
اسانس گیاه گزنه	۲۱/۵۳±۰/۱۱۷*	۲/۱۱۶±۰/۰۲
اسکوربیک اسید	۶/۱۶±۰/۰۷	۵/۶۹±۰/۰۹

* میانگین سه بار تکرار آزمایشات±SD.



نمودار ۱. میزان فعالیت آنتی اکسیدانی مقادیر مختلف اسانس برگ گیاه گزنه در آزمایش تخریب رادیکال‌های DPPH.

متفاوت و شرایط اقلیمی منطقه‌ی برداشت باشد (۱۵). در مطالعات Pejin و همکارانش (۱۹) و Kang و همکارانش (۲۰) نشان داده شد که فیتول و β-Ionone دارای فعالیت ضد میکروبی، ضد التهابی و ضد جهش‌زایی می‌باشند. دو ترکیب فیتول و β-Ionone در اسانس گزنه نیز شناسایی شده است که اثر ضدباکتریایی اسانس این گیاه را می‌توان به این ترکیبات مرتبط دانست. همچنین در مطالعه‌ای دیگر توسط Inoue و همکارانش نشان داده شد که ترکیب فیتول دارای اثر ضدباکتریایی در برابر استافیلوکوکوس اورئوس می‌باشد (۲۱) که در مطالعه‌ی حاضر نیز می‌توان اثرات مهاری علیه استافیلوکوک اورئوس را مربوط به این ترکیب دانست.

استافیلوکوکوس اورئوس یکی از شایع‌ترین باکتری‌های گرم‌مثبتی است که باعث ایجاد مسمومیت غذایی می‌شود. اگرچه منبع آن مواد غذایی نمی‌باشد اما انسان پس از پردازش ماده‌ی غذایی، عامل آلودگی می‌باشد (۱۳).

اسانس برگ گزنه، در غلظت‌های پایین‌تری نسبت به باکتری‌های دیگر، باعث مهار و نابودی باکتری استافیلوکوک اورئوس می‌شود که با نتایج حاصل از تحقیقات انجام شده به‌وسیله‌ی رامتین و همکاران (۲۲) و امینی و همکارانش (۸) که روی عصاره‌ی گیاه گزنه صورت گرفته است، هم‌خوانی دارد. بنابر گزارش Sokovic و همکاران، Carvacrol نیز دارای بالاترین فعالیت ضدقارچی می‌باشد (۲). همچنین Carvacrol قادر به متلاشی کردن غشای خارجی باکتری‌ها و آزاد کردن لیپوپلی‌ساکارید (LPS) است.

خاصیت آب‌گریزی اسانس‌ها، آنها را قادر می‌سازد تا به بخش‌هایی از لیپیدهای غشای سلول و میتوکندری نفوذپذیر بوده و منجر به نشت محتویات سلول شوند که در واقع از همین مکانیسم می‌تواند علیه سالمونلا و اشرشیاکلی مؤثر باشد (۲۳).

در بررسی آنتی اکسیدانی تحقیق حاضر مشخص شد که میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس گزنه نسبت به گزارش Kukric و همکاران (۱۵) مربوط به عصاره‌ی گزنه (که مقدار ۳۱/۳۸ میکروگرم برگرم را گزارش کردند) کمتر بوده است که نشان‌دهنده‌ی فعالیت آنتی‌اکسیدانی مطلوب‌تر آن می‌باشد. البته باید خاطرنشان کرد تاکنون گزارشی در رابطه با میزان IC_{50} برای اسانس گزنه مشاهده نشده است.

همچنین شاخص آنتی‌اکسیدانی (AAI) نیز محاسبه گردید که برابر با ۲/۱۱۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر می‌باشد که با توجه به نتایج Kukric و همکارانش (۱۵) نسبت به شاخص آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ی گیاه گزنه، تأکیدکننده این موضوع است که اسانس گزنه توان آنتی‌اکسیدانی بسیار قوی‌تری دارد. باید خاطر نشان ساخت که در صورت خالص‌سازی مؤثر ترکیبات اسانس برگ گزنه، انتظار می رود که میزان MIC و MBC کاهش یافته و اثرات ضدباکتریایی مؤثرتری حاصل شود.

نتیجه‌گیری

اسانس گزنه جمع‌آوری شده در مطالعه‌ی حاضر می‌تواند پتانسیل درمانی در مهار رشد سلول‌های باکتریایی به خصوص استافیلوکوک اورئوس و سالمونلا داشته باشد. با توجه به ماهیت هیدروفوبیکی اسانس و وجود ترکیبات فیتول و کارواکرول، انتظار داریم که در مطالعات آتی، در مهار رشد سلول‌های نامیرا و درمان سرطان هم مؤثر باشند.

REFERENCES

1. Oliveira AA, Segovia JF, Sousa V, Mata E, Gonçalves M, Bezerra RM, *et al*. Antimicrobial activity of amazonian medicinal plants. Springer Plus 2013;2:371–6.

2. Mărghitaş L, Dezmirean D, Chirilă F, Fiţ N, Bobiş O. Antibacterial activity of different plant extracts and phenolic phytochemicals tested on Paenibacillus larvae bacteria. Anim Sci Biotechnol 2011;44(2):94–9.

3. Sartoratto A, Machado AL, Delarmelina C, Figueira GM, Duarte MC, Rehder VL. Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. Brazil J Microbiol 2004;35:275–80.

4. Soković M, Marin PD, Brkić D, Van Griensven LJ. Chemical composition and antibacterial activity of essential oils of ten aromatic plants against human pathogenic bacteria. Food 2007;1(2):220–6.

5. Güler ER. Investigation of chemopreventif properties of *Urtica dioica* L., in MCF-7 and MDA 231 breast cancer cell lines. NEw J Med 2013;30:50–3.

6. Gutowska I, Jakubczyk K, Dec K, Baranowska-Bosiacka I, Drozd A, Janda K, *et al*. Effect of the extract from nettle (*Urtica dioica* L.) fruit cluster on the synthesis of pro-inflammatory agents in hepatocytes treated with fluoride. Res Rep Fluoride 2014;47(2):109–18.

7. Kamkar A, Monfared M, Jebelli Javan A, Asadi F, Aknodzadeh A. Antioxidative effects of liquid and organic extracts from Iranian nettle (*Urtica dioica* L.). Asian J Food Agro-Ind 2010;3(05): 491–7.

8. Amini K, Hemmatpoor B, Moradi P, Nazari Z, Mahvar T. Antibacterial activity of the ethanol and water extracts and investigating the chemical composition of different parts *Urtica dioica* L. Sci Road J 2014; 02(02):57–65 .

9. Khare V, Kushwaha P, Verma SH, Gupta AB, Srivastava SH, Rawat AK. Pharmacognostic evaluation and antioxidant activity of *Urtica dioica* L. Sci Res Corporation 2012;3:128–35.

10. Ghaima KK, Hashim NM, Abdalrasool AS. Antibacterial and antioxidant activities of ethyl acetate extract of nettle (*Urtica dioica*) and dandelion (*Taraxacum officinale*). J Appl Pharm Sci 2013;3(5):96–9.

11. Motamedi H, Seyyednejad SM, Bakhtiari A, Vafaei M. Introducing *Urtica dioica*, A native plant of Khuzestan, as an antimicrobial medical plant. Jundishapur J Nat Pharm Prod 2014;9(4):e15904.

12. Modaresi A, Ibrahim D, Fariza Sulaiman S, Abdulhassani F. Determination of antimicrobial activity of various extracts of Stinging nettle. JMP 2012;2(42):98–104.

13. Gulcin I, Kufrevioglu OI, Oktay M, Buyukokuroglu M. Antioxidant antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urtica dioica* L.) J Ethnopharmacol 2004;90:205–15.

14. Prestos C, Boziaris IS, Nychas JE, Komaitis M. Analysis of flavonoids and phenolic acids in Greek aromatic plants: Investigation of their antioxidant activity and antimicrobial activity. Food Chem 2006;96:664–71.

15. Kukrić ZZ, Topalić-Trivunović NL, Kukavica MB, Matoš BS, Pavičić SS, Boroja MM, *et al*. Characterization of antioxidant and antimicrobial activities of nettle leaves (*Urtica dioica* L.). APTEFF 2012;43:259–72.

16. Sefidkon F, Rahimi Bidgoli A. Quantitative and qualitative variation assessment of Thymus kotschyanus essence in plant growth duration and using several instillation methods. J Med Aromatics Plant Res 2002;15(0):1–22.

17. Sahm DF, Weissfeld AS, Trevino EA. Baily & Scott's Diagnostic Microbiology. 12th ed. International Edition. USA: Bobsy Elsiver; 2007. p. 188–207.

18. Gul S, Demirci B, Baser KH, Akpulat HA, Aksu P. Chemical composition and in vitro cytotoxic, genotoxic effects of essential oil from *Urtica dioica* L. Bull Environ Contam Toxicol 2012;88(5):666–71.

19. Pejin B, Savic A, Sokovic M, Glamocilija J, Ciric A, Nicolic M, *et al*. Further in vitro evaluation of antiradical and antimicrobial activities of phytol. Nat Prod Res 2014;28(6):372–6.

20. Kang CH, Jayasooriya R, Choi Y, Moon SK, Kim WJ, Kim GY. β-Ionone attenuates LPS-induced pro-inflammatory mediators such as NO, PGE2 and TNF-α in BV2 microglial cells via suppression of the NF-κB and MAPK pathway. Toxicol In Vitro 2013;27:782–7.

21. Inoue Y, Hada T, Shiraishi A, Hirose K, Hamashima H, Kobayashi SH. Biphasic effects of geranylgeraniol, teprenone, and phytol on the growth of *Staphylococcus aureus*. Am Soc Microbiol 2005;49(5):1770–4.

22. Ramtin M, Massiha A, Khoshkholgh MR, Issazadeh Kh, Asmar M, Zarrabi S. In Vitro Antimicrobial activity of Iris pseudacorus and Urtica dioica. Zahedan J Res Med Sci 2014;16(3):35–9. (Full Text in Persian)

23. Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. Int J Food Microbiol 2004;94:223–53.