استخراج و خالص‌سازی نسبی سیکلوتیدهای عصاره‌ی گیاه بنفشه‌ی معطر بومی ایران *(Viola odorata)* و بررسی تأثیر مواد مؤثر آن بر باکتری *S. aureus* PTCC 1431

راضیه دلیرفردویی

محبوبه ضرابی[1*]

روحا کسری کرمانشاهی[2]

ضرغام سپهری‌زاده[3]

محمدرضا معصومیان[4]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۱۲/۲۶

تاریخ تصویب: ۱۳۹۱/۰۷/۱۵

چکیده

هدف این مطالعه استخراج و خالص‌سازی نسبی سیکلوتیدهای عصاره‌ی گیاه بنفشه‌ی بومی ایران و بررسی اثرهای ضدمیکروبی آن بر باکتری گرم مثبت S. aureus PTTC 1431 است. در این پژوهش استخراج و خالص‌سازی نسبی سیکلوتیدها با روش جزءگیری و استفاده از ستون SPE-C18 صورت گرفت. تعیین خلوص و وزن مولکولی سیکلوتیدهای به‌دست آمده، به‌ترتیب، با روش RP-HPLC و Tricine SDS PAGE انجام شد. سنجش اثرهای ضدمیکروبی محلول به‌دست آمده نیز با روش انتشار شعاعی (RDA) تعیین شد.

نتایج این مطالعه نشان داد که اثرهای ضدمیکروبی سیکلوتیدهای به‌دست آمده در باکتری گرم مثبت S. aureus PTTC 1431 مشابه اثر

---

۱. استادیار گروه زیست‌شناسی، دانشگاه الزهرا (نویسنده مسئول)؛ mzarrabi@alzahra.ac.ir

۲. استاد گروه زیست‌شناسی، دانشگاه الزهرا

۳. گروه بیوتکنولوژی، دانشکده‌ی داروسازی، دانشگاه تهران

۴. پژوهشکده‌ی زیست فناوری، دانشگاه مالک‌اشتر

آنتی‌بیوتیک ونکومایسین و آمیکاسین است. به نظر می‌رسد با مطالعات گسترده‌تر، در آینده، بتوان از سیکلوتیدها برای درمان عفونت‌های استافیلوکوکی استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: استخراج، خالص‌سازی، سیکلوتیدها، بنفشه‌ی معطر، استافیلوکوکوس اورئوس.

مقدمه

در سال‌های اخیر، شناسایی و معرفی عوامل ضدمیکروبی جدید به منظور استفاده در کلینیک کاهش نسبتاً زیادی پیدا کرده است (Pranting et al., 2010). همچنین، استفاده‌ی مداوم از آنتی‌بیوتیک‌ها سبب به وجود آمدن سویه‌های مقاوم به چند دارو[1] شده است (Marshall et al., 2003). بنابراین، کشف آنتی‌بیوتیک‌های جدید یک ضرورت مهم است. اکنون شناسایی پپتیدهای ضدمیکروبی[2] یک موقعیت درمانی برای مبارزه با میکروارگانیسم‌ها فراهم کرده است (Marshall et al., 2003). پپتیدهای ضدمیکروبی در تمامی انواع ارگانیسم‌ها، از باکتری‌ها تا انسان، به‌منزله‌ی بخشی از مکانیسم دفاعی ذاتی میزبان یافت می‌شوند (Marshall, 2003; Andrea et al., 1998; Pranting et al., 2010). چند ویژگی پپتیدهای ضدمیکروبی، مانند طیف گسترده‌ی فعالیت ضدمیکروبی آن‌ها، کاربرد آن‌ها در درمان سرطان و عفونت‌های انگلی و ویروسی، ایجاد مقاومت محدود برای سویه‌های باکتریایی پس از گذراندن آزمایش‌های کلینیکی فاز ۱ و ۲، سبب شده است از آن‌ها با عنوان «داروهای ضد میکروبی قرن» یاد شود. این داروها پاسخ مناسبی به مسئله‌ی افزایش روزافزون سویه‌های مقاوم به چند دارو هستند (Marshell et al., 2003).

در این مطالعه توجه بر اثرهای ضدمیکروبی مجموعه‌ی سیکلوتیدهای خالص‌شده از گیاه بنفشه‌ی معطر بومی ایران تمرکز یافته است. سیکلوتیدها یک خانواده‌ی بزرگ از پپتیدهای کوچک هستند که ۲۸-۳۷ اسیدآمینه و یک موتیف ساختاری به نام «گره سیستئین حلقوی»[3] دارند (Ireland et al., 2006; Craik et al., 2010; Dutton et al., 2004; Daly et al., 2009). این موتیف از شش گروه سیستئین حفاظت‌شده و سه پیوند دی سولفیدی تشکیل شده است. وجود این موتیف سبب مقاومت و پایداری منحصر به‌فرد سیکلوتیدها به حرارت، مواد شیمیایی و آنزیم‌ها شده است (Cemazar et al., 2006, Colgrave et al., 2004). سیکلوتیدها، امروزه، بزرگ‌ترین خانواده‌ی پروتئین‌های حلقوی هستند که به‌صورت ریبوزومی سنتز می‌شوند (Gruber et al., 2008). عملکرد طبیعی و گسترده‌ترین فعالیت سیکلوتیدها در گیاهان (در نقش ارگانیسم تولیدکننده) دفاع در برابر

1. Multi Drug Resistant= MDR
2. Antimicrobial Peptides= AMPs
3. Cyclic Cystine Knot

حشـــرات و آفات و بیماری‌زاهاست (Ireland et al., 2006). اما فعالیت‌های زیســـتی دیگری نیز در میان این خانواده مشاهده شده است. فعالیـــت ضدباکتریایی، ضـــد ویروس نقص ایمنی اکتسابی، ضد تومور، سیتوتوکسیک، همولیتیک و ... تعدادی از این عملکردهاســـت (Zhang et al., 2009). ســـیکلوتیدها هماننـــد ســـایر پپتیدهای ضدمیکروبی، ســـاختاری آمفی‌پاتیـــک دارنـــد که ســـطوح هیدروفوبی و هیدروفیلـــی آن‌ها از یکدیگر جداســـت، اما برخلاف ســـایر پپتیدهای ضدمیکروبی، بار مثبت زیادی ندارند و به نظر می‌رسد ماهیت هیدروفوبیکی آن‌ها در اتصال به غشـــا مهم است (Henriques et al., 2010).

نتایج آزمایش‌ها مشـــخص کرده اســـت که مکانیســـم اثر آن‌ها از یک مکانیســـم تخریب کننده‌ی غشا تبعیت می‌کند، اما مکانیسم دقیق عملکـــرد و ارتباط میان ســـاختار و توانایی بالقوه آن‌ها هنوز به‌خوبی شناخته نشده است (Henriques et al., 2010, Daly et al., 2009, Pranting et al., 2010). پایـــداری فوق‌العـــاده و تنوع ســـاختاری ســـیکلوتیدها بـــه همراه فعالیت‌های زیستی گسترده‌ی آن‌ها سبب شده است که گزینه‌ی مناسبی برای دستورزی‌های مهندســـی پروتئیـــن به‌منظور اســـتفاده در داروســـازی و کشـــاورزی شـــناخته شوند (Henriques et al., 2010; Ireland et al., 2006).

تا کنون ســـیکلوتیدها در خانواده‌های گیاهی Rubiaceae، Violaceae و Cucurbitaceae یافت شـــده‌اند (Ireland et al., 2006; Dutton et al., 2004; Daly et al., 2009; Craik et al., 2010). این ســـیکلوتیدها در جنس‌های Viola فراوان‌ترند (Zhang et al., 2009).

ایران از جاهایی اســـت که گونه‌های متنوعی از خانواده‌ی Violaceae را در خود جای داده اســـت. یکی از آن‌ها Viola odorata است. این گیاه علفی برگ‌های قلبی‌شکل و دمبرگ دراز دارد. گل‌های آن منفرد، به رنگ بنفش و معطر اســـت. میوه‌اش به شکل کپســـول و پوشیده از کرک اســـت و دانه‌های ســـفید رنگ در آن وجود دارد. این گیاه در طب سنتی یک داروی قابض شناخته شده است که در درمان برفک دهان، بیماری‌های پوســـتی و برونشـــیت و سیاه سرفه کاربرد دارد و در درمان سرطان پستان و معده مؤثر است.

در این پژوهش اثـــر ضدمیکروبی مجموعه سیکلوتیدهای خالص‌شده نسبی علیه باکتری گرم مثبت *S. aureus* PTCC 1431 بررســـی شده است.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری و شناسایی: گیاه Viola odorata، در نیمـــه‌روز، اواســـط فروردین‌ماه، از پارک جنگلی شـــهدای غـــرب مازنـــدران، با طول جغرافیایی ۵ درجـــه و ۲۵ دقیقه و عرض ۳۶ درجـــه و ۳۹ دقیقه، جمع‌آوری شـــد. گیاهان جمع‌آوری‌شـــده در پژوهشـــکده‌ی گیاهـــان دارویی دانشگاه شهید بهشتی شناسایی شدند.

استخراج و جداسازی: گیاهان جمع‌آوری‌شده در دمای ۵۰ درجه‌ی ســـانتیگراد خشک شد. برای استخراج سیکلوتیدها از روش تغییریافته استفاده شـــد (Claeson et al., 1998). به طور خلاصه، ۳۰ گرم از برگ خشک‌شده‌ی گیاه با 300 ml از دی‌کلرومتان در یک بشـــر مخلوط شـــد و به‌مدت یک ســـاعت روی شیکر قرار گرفـــت (Svangarda et al., 2003, Broussalisa et al., 2001). ایـــن مرحله ۵ بار تکرار شـــد و باقی‌مانده‌ی گیاه، در مدت یک شبانه‌روز، در

دمای اتاق خشک شد. سپس، سه بار به شیوه‌ی مشابه با 400 ml از محلول الکل:آب به نسبت ۱:۱ عصاره‌گیری شد. عصاره‌های الکلی با هم مخلوط شدند و در خلأ اتانول آن‌ها تبخیر شد (Svangarda et al., 2003; Broussalisa et al., 2001; Cleason et al., 1998). سپس، به محلول باقی‌مانده مقدار ٪۲ حجم نهایی استیک اسید اضافه شد. عصاره‌ی به‌دست‌آمده، از ۳۱ گرم ژل پلی آمید عبور داده شد (Cleason et al., 1998). بعد از لیوفیلیزه کردن عصاره‌ی فاقد تانن، ۵ گرم پودر خشک به‌دست آمد. ۱ گرم از پودر فاقد تانن در 100 ml آب مقطر حل شد و در ۳ نوبت، هر بار با 100 ml محلول n-بوتانول، عصاره‌گیری کامل شد؛ به‌طوری‌که هر بار با اضافه کردن این حجم بوتانل به فاز آبی و جداکردن دو فاز از یکدیگر، فاز آبی دور ریخته شد و فقط فاز بوتانولی برای ادامه‌ی کار جمع‌آوری شد. فازهای بوتانولی با هم مخلوط شدند و بعد از حذف حلال، 25 mg از پودر خشک به‌دست آمده در 8 ml بافر استات آمونیوم (pH= 8, 50mM) حل شد و از روی ستون استخراج با فاز جامد[1] سیلیکاژل C18- که از شرکت MN تهیه شده بود- عبور داده شد تا نمک‌ها و کربوهیدرات‌ها حذف شوند.

برای خارج کردن پپتیدها، ستون SPE (Solid Phase Extraction) با محلول‌هایی که به‌ترتیب، غلظت اتانول در آن‌ها از ٪۲۰ تا ٪۸۰ افزایش می‌یافت، شست‌وشو داده شد. برای تأیید وجود سیکلوتیدها در محلول‌های حاصل از شست‌وشوی ستون SPE با اتانول‌های ٪۲۰، ٪۵۰ و ٪۸۰، با روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا- فاز معکوس آنالیز شد.

در این آنالیز سیکلوتیدها به سبب داشتن بخش‌های هیدروفوبی در سطح خود، زمان بازداری[2] طولانی خواهند داشت. برای آنالیز کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا- فاز معکوس از سیستم KNAUER آلمان و ستون C18 با ابعاد 25cm×4mm و اندازه‌ی ذرات ۲۵ میکرون استفاده شد. شست‌وشوی ستون با فاز متحرک با سرعت 1 ml در دقیقه صورت گرفت. به منظور تأیید نهایی و به‌دست آوردن محدوده‌ی وزن مولکولی مجموعه سیکلوتیدها آنالیز تریسین-سدیم دودسیل سولفات پلی‌آکریل آمایدژل الکتروفورز (Tricine- SDS- PAGE) انجام شد.

سویه‌ی باکتریایی و محیط کشت: در این مطالعه از باکتری گرم مثبت استاندارد *S. aureus* PTCC 1431 -که از مرکز کلکسیون میکروبی ایران تهیه شده بود- استفاده شد. باکتری در تمام مدت مطالعه روی نوترینت آگار، در 4ºC نگهداری شد و تمامی رقت‌های سوسپانسیون باکتریایی به‌کار رفته در سنجش RDA در سرم فیزیولوژی ٪۰.۹ انجام شد.

تعیین ویژگی ضدمیکروبی مجموعه سیکلوتیدهای خالص‌شده به روش انتشار شعاعی[3] (RDA): به‌منظور سنجش فعالیت ضدمیکروبی مجموعه پلی‌پپتیدهای استخراج‌شده، از روش تغییریافته RDA استفاده شد که که آن را توضیح داده است (Lehrer et al.1991; pranting et al., 2010). به طور خلاصه، در این روش باکتری‌ها

1. Solid phase extraction

2. Retention time

3. . Radial diffusion assay

در محیط Tripton Soy Broth (TSB) رشد کردند تا میزان جذب نوری آن‌ها در ۶۰۰ نانومتر به ۰/۳ برسد. سپس، 1 ml از محیط کشت در 4ºC با سرعت 3400 g به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شدند. رسوب حاصل یک بار با بافر فسفات سدیم (SPB) 0/01 mM و 8 pH شسته شد، و سرانجام، در SPB سرد سوسپانسیون شد.

تقریباً ۴×۱۰^۶ باکتری در ۱ میلی‌لیتر (۰/۰۱ نیم مک فارلند) به 10 ml از SPB، حاوی TSB (w/v) 0/03 % و LE 1% (w/v)- آگاروز و (v/v)0/02% توئین ۲۰-، اضافه شد. این مخلوط خوب به هم زده شد و به یک پتری دیش به قطر 85 mm اضافه شد. بعد از بسته شدن محیط کشت، چاهک‌هایی به قطر 3 mm در آن تعبیه شد و 5 µl از نمونه‌های پپتیدی و یا شاهد به هر چاهک اضافه شد. سپس، پلیت‌ها در 37C°، به‌مدت ۳ ساعت، گرماگذاری شدند تا امکان انتشار پپتیدها فراهم شود. سپس، 10ml از SPB حاوی TSB (W/V) 6% و LE 1% (W/V)- آگاروز با دمای 42ºC به آن اضافه شد. بعد از ۱۸-۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری در دمای 37ºC، قطر ناحیه‌ی شفاف اندازه‌گیری شد. در ادامه، با انجام‌دادن آزمون آنتی‌بیوگرام با دیسک‌های آنتی‌بیوتیک‌های رایج (پنیسیلین جی 10µg، جنتامیسین 10µg، ونکومایسین µg 30، آمیکاسین 30µg و پیپراسیلین 100µg)، اثر ضدمیکروبی مجموعه سیکلوتیدهای جداشده از گیاه Viola odorata مقایسه شد. همچنین، دوام اثر ضدمیکروبی مجموعه سیکلوتیدهای خالص‌شده‌ی نسبی، در زمان‌های مختلف (۱، ۲ و ۳ ماهه) پس از استخراج بررسی شد.

نتایج و بحث

نتایج کروماتوگرام HPLC محلول‌های حاصل از شست‌وشوی ستون SPE با اتانول ٪۵۰ و ٪۸۰ در شکل شماره‌ی ۱ نشان داده شده است.

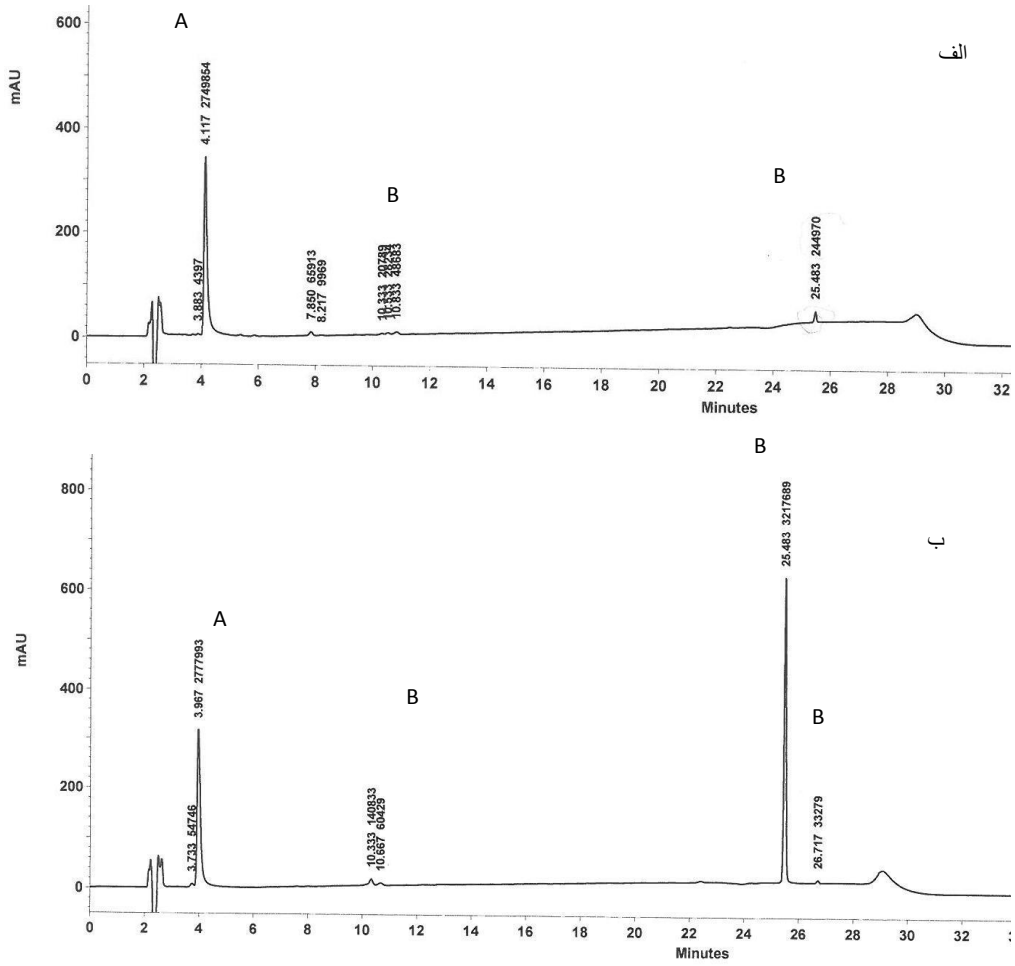
بررسی کروماتوگرام‌ها نشان می‌دهد که ترکیبات مورد انتظار، که قطبیت کمتر و زمان بازداری بیشتری در RP-HPLC دارند، در محلول‌های شست‌وشو با اتانول ٪۵۰ و ٪۸۰ به مقدار نسبتاً زیادی حضور دارند.

با توجه به نتایج آنالیز RP-HPLC از محلول‌های حاصل از شست‌وشو با اتانول ٪۵۰ و ٪۸۰ به منظور سنجش اثرهای ضدمیکروبی استفاده شد. برای تأیید نهایی وجود سیکلوتیدها در محلول‌های حاصل از شست‌وشو با اتانول ٪۵۰ و ٪۸۰ از Tricine-SDS-PAGE استفاده شد. وزن مولکولی سیکلوتیدها در مطالعات قبلی بین ۲۸۰۰ تا ۵۰۰۰ دالتون گزارش شده است (Gruber et al., 2008). در شکل شماره‌ی ۲ حضور باند پروتئینی در محدوده‌ی ۵۰۰۰ دالتون دلیلی بر وجود سیکلوتیدها در محلول حاصل از شست‌وشو با اتانول ٪۵۰ و ٪۸۰ است.

نتایج RDA

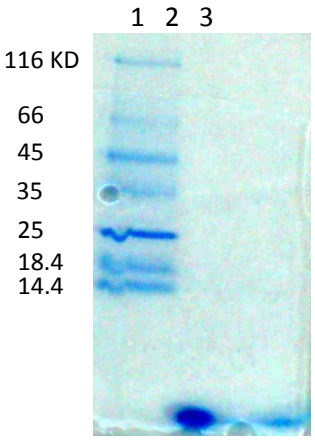
مطالعات پیشین نشان داده است که روش RDA یک روش مفید برای تعیین فعالیت ضدمیکروبی مواد مختلف است (Lehrer et al., 1999, Pranting et al., 2010). بنابراین، برای سنجش اولیه‌ی اثرهای ضدمیکروبی مجموعه‌سیکلوتیدهای نیمه‌خالص‌شده از این روش استفاده شد.

فعالیت ضدمیکروبی علیه سویه‌ی میکروبی اندازه‌گیری شد و اندازه‌ی قطر هاله‌های



شکل ۱. کروماتوگرام RP-HPLC محلول حاصل از شست‌وشو با اتانول ٪۵۰ (الف)، ٪۸۰ (ب).

در کروماتوگرام حاصل از محلول شست‌وشو با اتانول ٪۵۰، شدت پیک مواد قطبی (پیک A) کاهش پیدا کرده است و پیک‌های مربوط به مواد غیرقطبی(پیک B) نمایان شده است. در کروماتوگرام حاصل از محلول شست‌وشو با اتانول ٪۸۰ پیک ترکیبات غیرقطبی در زمان‌های بازداری بیشتر مشاهده می‌شود. در ضمن، شدت این پیک‌ها افزایش یافته است.



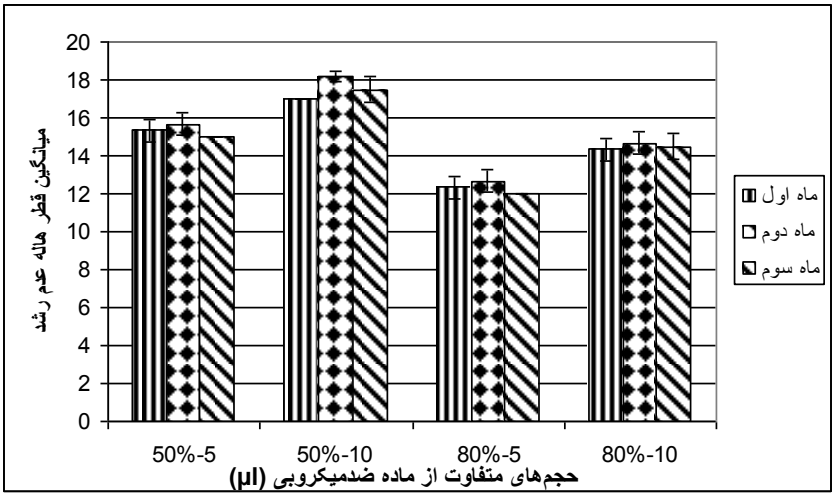
شکل ۲. تصویر Tricine-PAGE

ستون ۱. مارکر وزن مولکولی.

ستون ۲. محلول حاصل از شست‌وشو با اتانول ٪۵۰.

ستون ۳. محلول حاصل از شست‌وشو با اتانول ٪۸۰.

عدم رشد در نمودار شماره‌ی ۱ آمده است. بررسی قطر هاله‌ی عدم رشد حاصل از تأثیر محلول‌های حاصل از شست‌وشو با درصدهای مختلف اتانول در طی سه ماهه‌ی اول پس از عصاره‌گیری بر روی باکتری *S. aureus* PTTC1431، نشان داد که محلول حاصل از شست‌وشو با اتانول ٪۵۰ مناسب‌ترین محلول برای بازدارندگی از رشد بود. بنابراین، در مراحل بعد، برای مقایسه‌ی اثر بازدارندگی محلول های اتانولی حاصل از گیاه بنفشه‌ی معطر از این محلول استفاده شد. آنالیز آماری داده‌ها نشان داد که تفاوت بین میانگین قطر هاله‌ی عدم رشد حاصل از تأثیر مقدارهای مختلف (۵ و ۱۰ میکرولیتر) محلول‌های حاصل از شست‌وشو با اتانول ٪۵۰ و ٪۸۰، با گذشت زمان در سه ماهه‌ی اول پس از تهیه‌ی محلول‌ها، معنی‌دار نیست (نمودار شماره‌ی ۱).



نمودار ۱. تأثیر مقدارهای مختلف محلول‌های حاصل از شست‌وشو با اتانول ٪۵۰ و ٪۸۰ در *S. aureus* PTCC1431

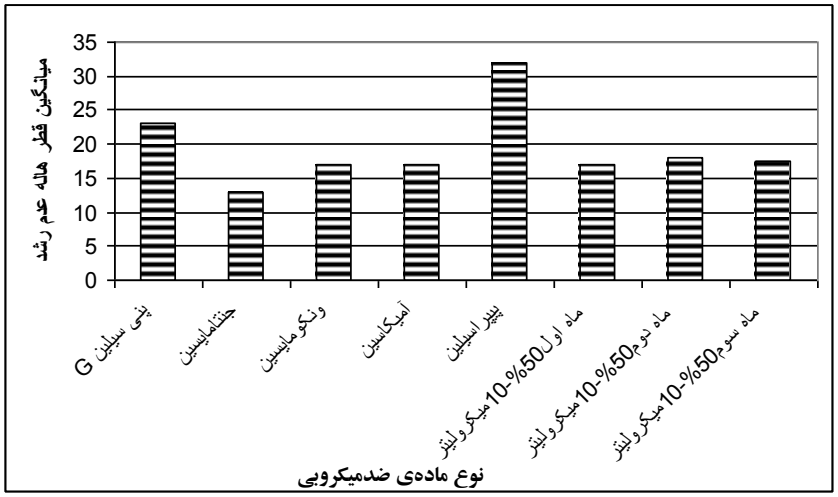
اندازه‌ی قطر هاله‌ی عدم رشد باکتری در مقابل آنتی‌بیوتیک‌های تجاری در جدول شماره‌ی ۱ نشان داده شده است. مقایسه‌ی تأثیر ضدمیکروبی محلول‌های حاصل از شست‌وشو با اتانول ٪۵۰ و ٪۸۰ با تأثیر بازدارنده آنتی‌بیوتیک‌ها نشان داد که در مورد باکتری *S. aureus* اثر بازدارندگی محلول حاصل از شست‌وشوی ستون SPE با اتانول ٪۵۰، به‌طور معنی‌داری، از اثر بازدارندگی جنتامایسین بر این باکتری بیشتر بوده است. همچنین، اثر بازدارندگی آن با تأثیر ونکومایسین و آمیکاسین تفاوت معنی‌داری نداشت (نمودار شماره‌ی ۲).

درباره‌ی خواص ضدمیکروبی گونه‌ی گیاهی Viola odorata چندین گزارش وجود دارد (Amin et al., 2002: Arora et al., 2007; Shahidi et al., 2004). در هیچ یک از این گزارش‌ها شناسایی و خالص‌سازی ماده‌ی مؤثر گیاه صورت نگرفته است، بلکه در تمامی آن‌ها اثر عصاره‌ی آبی یا الکلی گیاه مورد نظر، که حاوی مخلوطی از ترکیب‌ها مانند فلاونوئیدها، ترپن‌ها، کربوهیدرات‌ها و... است، مطالعه شده است. حضور چنین ترکیباتی در عصاره ممکن است در فعالیت ضدمیکروبی گیاه تداخل ایجاد کند.

این پژوهش با هدف جداسازی و

جدول ۱. میانگین قطر هاله‌ی عدم رشد سویه‌ی استاندارد در مقابل آنتی‌بیوتیک‌های تجاری (با ۳ بار تکرار)

نام آنتی‌بیوتیک	پنیسیلین G	جنتامایسین	ونکومایسین	آمیکاسین	پیپراسیلین
محتوی دیسک (µg)	۱۰	۱۰	۳۰	۳۰	۱۰۰
قطر هاله‌ی عدم رشد	۲۳ ± ۰	۱۳ ± ۰	۱۷ ± ۰	۱۷ ± ۰	۳۲ ± ۱/۱۵



نمودار ۲. مقایسه‌ی اثر بازدارندگی ۱۰ میکرولیتر از محلول حاصل از شست‌وشو با اتانول ٪۵۰ با و آنتی‌بیوتیک‌ها در رشد *S. aureus*

خالص‌سازی نسبی سیکلوتیدها انجام شده است و به‌گونه‌ای طراحی شده است تا ترکیبات مداخله‌کننده در اثرهای ضدمیکروبی سیکلوتیدها مانند پلی فنول‌ها، کربوهیدرات‌ها و نمک‌ها، تا حدود زیادی حذف شوند. کروماتوگرام‌های حاصل از آنالیز RP-HPLC شاهد خوبی بر این مدعایند. همان‌گونه که در شکل شماره‌ی ۱ مشخص شده است، پیک مربوط به مواد غیرقطبی (پیک‌هایی که با حرف B نشان داده شده‌اند)، زمانی که ستون SPE با اتانول ٪۸۰ شست‌وشو شده، بیشتر شده است. از آنجا که سیکلوتیدها یک سطح هیدروفوب در ساختار خود دارند، پیک B می‌تواند مربوط به سیکلوتیدها باشد که آنالیز اثرهای ضدمیکروبی آن‌ها به خوبی این مطلب را تأیید می‌کند.

همچنین در این مطالعه عمر نگهداری در قفسه‌ی سیکلوتیدها تا ۳ ماه بررسی شد؛ نتایج نشان داد اثرهای ضدمیکروبی سیکلوتیدها با گذشت زمان تغییر معنی‌داری نمی‌کند. دلیل این پایداری سیکلوتیدها را می‌توان ساختار منحصر به فرد آن‌ها دانست. سیکلوتیدها به سبب داشتن موتیف CCK و یک بن حلقوی پایداری فوق‌العاده‌ای به آنزیم‌ها، عوامل شیمیایی و فیزیکی تقلیب‌کننده، مانند اوره و حرارت دارند. وجود شبکه‌ای از پیوندهای هیدروژنی نیز در پایداری آن‌ها مؤثر است.

در زمینه‌ی عملکرد ضدمیکروبی سیکلوتیدها تا کنون سه گزارش وجود دارد (Pranting et al., 2010; Tam et al., 1999; Gran et al., 2008). در این گزارش‌ها اثرهای ضد میکروبی سیکلوتیدها علیه باکتری‌های گرم منفی، گرم مثبت و قارچ‌ها سنجیده شده

است. Tam و همکارانش (۱۹۹۹) نشان دادند که سیکلوتیدها علیه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی اثرهای ضدمیکروبی نسبتاً زیادی دارنـد، اما در هیچ یک از ایـن گزارش‌ها اثر ضدمیکروبی سیکلوتیدها با آنتی‌بیوتیک های رایج در درمان عفونت‌های اسـتافیلوکوکی مقایسه نشده است.

یافته‌هـای پژوهش ما نشـان داد که فعالیت ضدمیکروبـی سـیکلوتیدها علیـه باکتری گـرم مثبـت *S. aureus* مشـابه آنتی‌بیوتیک ونکومایسین و آمیکاسـین است، اما به‌طور معنی‌داری از اثر پنیسیلین کمتر است. با توجه به نتایج به‌دسـت آمده در تحقیق اخیر و نیز مطالعات صورت گرفته می‌توان مکانیسم اثر ضدمیکروبی سـیکلوتیدها و علت اثرگذاری بهتـر آن‌ها در باکتری‌های گـرم مثبت را به شـرح زیر بیان کرد: پپتیدهای ضدمیکروبی کلاسـیک، مانند دیفنسـین‌ها، سسروپین و مگینین، که هدفشـان غشای سـلولی است، ساختاری آمفی‌پاتیک دارند و بار خالص آن‌ها مثبت است. سیکلوتیدها نیز مانند این پپتیدها ساختاری آمفی‌پاتیک دارند، اما بر خلاف آن‌ها بار خالص‌شان صفر یا نزدیک به صفر است، بنابراین تمایل آن‌ها به غشـای باکتری‌های گرم منفی، که غنی از لیپید A هسـتند، کمتر اسـت؛ زیرا این ترکیب بار منفی زیادی دارد و سیکلوتیدها برای اتصال به چنین غشاهایی بـه کاتیون‌هـای دوظرفیتی احتیـاج دارند. اتصال سیکلوتیدها به غشای سلولی از طریق نیروهای هیدروفوبی و الکترواستاتیک است. بنابراین، قدرت یونی و pH محلول در عملکرد سیکلوتیدها تأثیرگذار خواهد بود و بررسی فعالیـت ضدمیکروبی سـیکلوتیدها هنوز به مطالعات بیشتری احتیاج دارد.

سپاسگزاری

از دکتر محمدرضا کنعانی در پژوهشکده‌ی گیاهان دارویی دانشـگاه شـهید بهشتی به خاطر شناسایی گونه‌ی گیاهی بنفشه‌ی معطر تشکر و قدردانی می‌شود.

Refrences

- Amin. G, Salehi- sormaghi M. H, Yasa. N, Aynehchi. Y, et al. (2002). Daru. 10: 78-89.
- Andrea D, Rivas L. (1998). Biopolymers. 47: 415-433.
- Arora D. S, Kaur G.J. (2007). Journal of Natural Medicine. 61: 313-317.
- Broussalisa A.M, Ulf Go¨ ranssonb, Coussioa J.D, Ferraroa G, Martinoa V, Claeson P. (2001). Phytochemistry. 58: 47–51.
- Cemazar M and Craik D.J. (2006). International Journal of Peptide Research and Therapeutics. 12: 253–260.
- Claeson p, Ulf Goransson, Johansson S, Luijendijk T, and Bohlin L. (1998). J Nat Prod. 61: 77-81.
- Colgrave M.L., and Craik D.J. (2004). Biochemistry. 43: 5965-5975.
- Craik D.J, Mylne J.S, and Daly N.L. (2010). Moll Life Sci. 67: 9-16.
- Daly N.L, Rosengren K.J, Craik D.J. (2009). Adv Drug Deliv Rev. 61: 918–930.
- Dutton J.L., Renda R.F., Waine C., Clark R.J., Daly N.L., Jennings C.V., Anderson M.A., and Craik D.J.(2004). J Biol Chem. 279: 46858-46867.
- Gran L, Sletten K, Skjeldal L. (2008). Chemistry biodivers. 5: 2014-2022.
- Gruber C.W, Elliott A.G, Ireland D.C, Delprete P.G, Dessein S., Goransson U, Trabi M, Wang C.K, Kinghorn A.B, Robbrecht E, Craik D.J. (2008). The plant cell. 20: 2471-2483.
- Henriques S.T and Craik D.J. (2010). Discovery Today. 15:5765-.
- Ireland D. C,Colgrave. M. L, Craik D. J. (2006). Biochemistry. 400: 112-.
- Ireland D.C, Colgrave M.l, Nguyencong P, Daly N.L, Craik D.J. (2006). J mol biol. 357:1522-1535.
- Lehrer R.I, Rosenman M, Harwing SS, Jackson R, Eisenhauer P. (1999). J Immonol Methods. 137: 167-173.
- Marshall S.H, Arenas G. (2003). Electronic Journal of Biotechnology. 6: 271284-.
- Pranting M, Lo¨o¨v C, Burman R, Goransson U, Andersson D.I. (2010). J Antimicrob Chemother. 17:18-.
- Shahidi B. G.H. (2004). Asian Journal of Plant Sciences. 3: 82-86.
- Svanga˚ rda E, Ulf Go¨ ranssona, Smithb D, Vermab C, Backlunda A, Bohlina L, Claeson. P. (2003). Phytochemistry. 64: 135–142.
- Tam J.P., YI-Anlu, Yang J.L,Chiu K.W. (1999). Proc. Natl. Acad. Sci. 96: 8913–8918.
- Zhang J, Liao B, Craik D.J. Li J.T, Hu M, Shu W.S. (2009). Gene. 431: 23–32.