

بررسی اثر عصاره‌های الکلی گیاه گزنه (*Urtica dioica* L.) بر تعدادی باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت

امیر مدرسی چهاردهی^{۱*}، داراه ابراهیم^۲، شیدا فریضا سلیمان^۳، فرید ابوالحسنی^۴

۱- دانشجوی دکترای میکروبیولوژی، آزمایشگاه تحقیقاتی بیوتکنولوژی صنعتی، دانشکده زیست‌شناسی، دانشگاه ساینز مالزی، مالزی

۲- استاد، گروه میکروبیولوژی، دانشکده زیست‌شناسی، دانشگاه ساینز مالزی، مالزی

۳- استادیار، آزمایشگاه تحقیقاتی شیمی گیاهی، دانشکده زیست‌شناسی، دانشگاه ساینز مالزی، مالزی

۴- دانشیار، گروه جنین‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تهران، تهران

*آدرس مکاتبه: مالزی، دانشگاه ساینز مالزی، دانشکده زیست‌شناسی، آزمایشگاه تحقیقاتی بیوتکنولوژی صنعتی

تلفن: ۰۱۶۴۸۱۳۶۹۰ - ۶۰

پست الکترونیک: amirmch@yahoo.com

تاریخ تصویب: ۹۰/۲/۲۸

تاریخ دریافت: ۸۹/۵/۲۰

چکیده

مقدمه: گزنه (*Urtica dioica* L.) گیاهی از خانواده Urticaceae که در کشورمان دارای کاربردهای فراوانی در درمان درد مفاصل و سرماخوردگی دارد. گیاه گزنه به فراوانی در شمال ایران و در سایه درختان و نزدیک به نهر آب‌ها یافت می‌شود.

هدف: هدف از این تحقیق، بررسی خواص ضد میکروبی عصاره‌های الکلی گیاه گزنه بر روی تعدادی از باکتری‌های گرم منفی و مثبت و همچنین مخمر و قارچ (از نوع بیماری‌های پوستی) بود.

روش بررسی: این تحقیق به صورت *in vitro* طراحی شد و از دو روش استخراج به منظور مقایسه و عصاره‌گیری پودر گیاه گزنه استفاده شد. خاصیت ضد میکروبی عصاره‌های گزنه ابتدا به روش انتشار پلیت در محیط مولر-هیلتون آگار بررسی شد و حداقل غلظت کشنده (MIC) و مهارکنندگی (MBC) با استفاده از درصد غلظت‌های مختلف عصاره تعیین شد.

نتایج: مقایسه عصاره‌های به دست آمده از دو روش استخراج‌گیری نشان داد که روش اول (استفاده از حلال‌های غیرقطبی تا قطبی) تأثیر بیشتری بر روی اثر مهار رشد میکروب‌ها از جمله باکتری‌ها داشته و غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر در بیشتر عصاره‌ها به طور معنی‌داری توانسته اثر مهار بر روی رشد باکتری‌های گرم مثبت داشته باشد. در این میان حداقل غلظت مهارکنندگی باکتری‌های باسیلوس سرئوس، باسیلوس سوبتیلیس و ویبریو پاراهمولایتیکوس به ترتیب ۸/۳۳، ۸/۳۳ و ۰/۱۳ میلی گرم بر میلی لیتر بود. اکثر عصاره‌های گیاهی در این آزمون، اثری بر روی مهار رشد میکروب‌ها نداشتند.

نتیجه‌گیری: یافته‌های این مطالعه نشان از عدم رشد دو باکتری مهم فساد مواد غذایی (*Bacillus cereus* و *Vibrio parahaemolyticus*) شد و می‌توان چنین نتیجه گرفت که عصاره‌های به دست آمده از روش اول (قطبی به غیرقطبی) کارایی بیشتری نسبت به روش دوم نشان داده است.

کل واژگان: گزنه، آنتی میکروبیال، حداقل غلظت مهارکنندگی، حداقل غلظت کشندگی



مقدمه

امروزه، تحقیق و گسترش دامنه داروهای جدید از منابع طبیعی به عنوان یک راه سیستماتیک و دارای ارزش استراتژی و اقتصادی در سطح جهان اهمیت خاصی پیدا کرده است. به طوری که در حال حاضر بیش از ۳۰ درصد داروهای گیاهی برگرفته از منابع طبیعی، در بیمارستان‌ها و کلینیک‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد [۱]. گیاه گزنه (*Urtica dioica* L.) به دلیل پراکنش در کشورهایی همچون مراکش، ترکیه، برزیل، اردن و بخش‌هایی از اروپا و ایران دارای کارایی زیادی به عنوان راه درمان سنتی در این مناطق دارد [۲].

گزنه (*Urtica dioica* L.)، گیاهی یک‌ساله و چند ساله که به توسط پرزهای زهردارش بر روی اندام‌های هوایی‌اش شهرت پیدا کرده و مشخص می‌شود. در بین گونه‌های گزنه (*Urtica*)، *Urtica dioica* و *Urtica urens* به دلیل مصارف طولانی مدت‌شان به عنوان گیاه دارویی در سطح جهان شناخته شده هستند [۳] و همچنین در طب سنتی ایران به عنوان ضدآماس معرفی شده است [۴]. از برگ‌های خشک و تازه گیاه گزنه به عنوان درمان بیماری‌های درد مفاصل (Arthritis) یا تورم استخوان (Osteoarthritis) و بیماری عفونی مجاری ادرار (Urinary tract infection) استفاده می‌شود [۵]. این گیاه دارای کاربرد ویژه‌ای برای برطرف نمودن شکم درد [۶]، سرماخوردگی و سرفه از طریق طب سنتی در کشور ترکیه دارد [۷]. همچنین از این گیاه به عنوان تورم پروستات [۸] و کاهش توکسیسته کبد [۹] استفاده شده است.

متأسفانه تحقیقات چندانی بر روی انواع عصاره‌های به دست آمده از اندام‌های هوایی گیاه به منظور خواص ضد میکروبی انجام نشده است. هر چند مشخص شده که دارای خواص ضد ویروسی بر علیه ویروس‌های گیاهی [۱۰] و همچنین دارای خواص آنتی‌اکسیدانتی و ترکیبات فنلی در حد متوسط می‌باشد [۱۱].

فرآیند مقاومت باکتری نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های شیمیایی توانایی پزشکان را در درمان بعضی از بیماری‌های عفونی محدود نموده است [۱۲]. همچنین باید یادآور شد که با

پیدایش مقاومت‌های روزافزون میکروب‌ها به آنتی‌بیوتیک‌ها انجام اقدامات جایگزین و نوین در این زمینه ضرورت دارد. هدف از این پژوهش به منظور تعیین اثر عصاره‌های الکلی اندام‌های هوایی گیاه گزنه بر روی تعدادی از میکروب‌ها از جمله باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت، مخمر و قارچ بیماری‌زای پوستی و همچنین تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی انجام شده است.

مواد و روش‌ها

برگ‌ها و اندام‌های هوایی گیاه گزنه از شهرستان سلمان‌شهر واقع در استان مازندران در شمال ایران در تابستان سال ۱۳۸۶ تهیه شد و توسط کارشناس دانشکده زیست‌شناسی دانشگاه ساینز در جزیره پنانگ واقع در کشور مالزی تأیید شد. اندام‌های هوایی به همراه برگ‌ها ابتدا شسته شده و به مدت ۳ روز در خشک‌کن (۲۷ درجه سانتی‌گراد) خشک شدند و سپس آسیاب شده و به پودر تبدیل شدند. به منظور تهیه عصاره‌های الکلی دو روش مورد برای استخراج مورد استفاده قرار گرفت. در روش اول با استفاده از حلال‌های غیرقطبی تا قطبی با استفاده از دستگاه عصاره‌گیری (سوکسله) انجام شد. حلال‌های مورد استفاده عبارت بودند از: هگزان، کلروفرم، اتیل استات و متانول. در روش دوم تنها ۵ حلال مورد استفاده قرار گرفت (با استفاده از فائل جدا کننده). در این روش ابتدا مواد خشک گیاهی به میزان ۱۰۰ گرم و به مدت ۷۲ ساعت به دستگاه عصاره‌گیری با حلال متانول منتقل شد. بخشی از عصاره متانول به منظور آزمایش جمع‌آوری شد و سپس در ادامه بخش دیگری از عصاره متانول با توسط روش (Melidis and Papageorgiou, 1993) به همراه دو برابر و هم حجم میزان متانول، به ترتیب آب مقطر و کلروفرم اضافه شد. پس از جمع‌آوری عصاره الکلی کلروفرم، به ترتیب حلال‌های دی‌اتیل‌اتر، اتیل استات و بوتانل نیز استخراج شد [۱۳]. این عصاره‌ها تا زمان استفاده در دمای یخچال نگهداری شدند.



نام‌های اختصار به کار گرفته شده برای عصاره‌ها به شرح ذیل است:

HE I (عصاره هگزان به روش اول)، CE I (عصاره کلروفورم به روش اول)، EAE I (عصاره اتیل استات به روش اول)، ME I (عصاره متانول به روش اول)، ME II (عصاره متانول به روش دوم)، CE II (عصاره کلروفورم به روش دوم)، DEE I (عصاره دی‌اتیل‌تر به روش دوم)، EAE II (عصاره اتیل استات به روش دوم) و BE II (عصاره بوتانل به روش دوم).

جهت به دست آوردن وزن مخصوص عصاره‌ها، ابتدا عصاره‌ها را در پلیت‌های جداگانه ریخته و خشک نموده و سپس وزن پلیت خالی را از وزن عصاره خشک شده در آن کسر نموده و بدین‌ترتیب وزن عصاره خشک به دست آورده شده و درصد عصاره خشک محاسبه شد.

باکتری‌های مورد استفاده در این مطالعه از نوع کلینیکی و طبقه‌بندی شده بودند و همچنین از یک مخمر و یک قارچ بیماری‌زای پوست نیز استفاده شد. پاتوژن‌های مورد استفاده شده عبارت بودند از باسیلوس سرؤس (*Bacillus cereus*)، باسیلوس سوبتیلیس (*Bacillus subtilis*)، باسیلوس اسپیزینزی (*Bacillus spizizenii* ATCC6633)، اشریشیاکلی، استافیلوکوکوس اثرؤس سویه مقاوم به متی‌سیلین (Methicilin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA))، ویبریو پاراهمولایتیکوس (*Vibrio parahaemolyticus*)، ساکارومیسس سرویسیه (*Sacharomyces servisiae*) و تریکوفایتون روبروم (*Trichophyton rubrum*) سویه‌های کلینیکی از دانشکده پزشکی در ایالت کلانتان و سویه استاندارد از گروه میکروب‌شناسی دانشکده زیست‌شناسی دانشگاه ساینز مالزی تهیه و مورد آزمایش قرار گرفتند. جهت بررسی اثر ضدمیکروبی عصاره‌های گزنه از روش انتشار (Disc diffusion Method) و رقت (Dillution Method) استفاده شد [۱۴]. تمام سویه‌های در محیط نوترینت برات (Nutrient Broth Medium) سوسپانسیون میکروبی تهیه شد



که این سوسپانسیون به مدت یک شبانه‌روز در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت، سپس به محیط مایع جدید NB وارد شده و با قرار دادن در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، کدورت آن به معادل ۰/۵ مک فارلند رسانده شد.

بعد از تهیه محیط میکروبی، پلیت‌های حاوی محیط مولر - هیلتون آگار نیز تهیه و به شش بخش مساوی هر پلیت تقسیم گردید. به غلظت نهایی ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از عصاره‌های گیاه گزنه به هر دیسک استریل ۲۰ میکرولیتر تزریق و پس از مدت زمانی در حدود ۱۵ دقیقه، دیسک‌ها بر روی نواحی مشخص شده بر روی محیط مولر - هیلتون آگار قرار گرفته شدند (فاصله هر دیسک از یکدیگر ۲/۵ سانتی‌متر و فاصله از لبه پتری دیش حداقل ۲ سانتی‌متر). همچنین از یک شاهد (متانول) که به عنوان حلال عصاره‌ها در DMSO و همچنین یک شاهد مثبت (آموکسی‌سیلین ۳۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) به عنوان آنتی‌بیوتیک استفاده شد. سپس پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در درون انکوباتور به مدت ۱۶ تا ۲۴ ساعت نگهداری شدند و سپس نتایج بررسی شد. به منظور تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت کشنده (MBC) از یازده لوله به غلظت‌های نهایی متفاوت گیاه گزنه به رقت‌های ۱۳۳/۳۳، ۶۶/۶۶، ۳۳/۳۳، ۱۶/۱۶، ۸/۸، ۴/۴، ۲/۲، ۱/۱، ۰/۵، ۰/۲۶ و ۰/۱۳ استفاده شد.

نتایج

با استفاده از روش انتشار بر روی پلیت، تأثیر عصاره‌های گزنه بر روی میکروب‌های مورد آزمایش مشخص شد که بیشترین اثر بر روی باکتری‌های گرم مثبت اثر مهارکنندگی دارد. همانطور که در جدول شماره ۱ مشاهده می‌شود، بهترین نتایج در مورد باکتری گرم مثبت جنس باسیلوس و باکتری گرم منفی ویبریو پاراهمولایتیکوس به دست آمده است. اثر عصاره هگزان به روش اول بر روی باسیلوس سرؤس برابر با قطر هاله عدم رشد بر روی باکتری باسیلوس اسپیزینزی ATCC6633 (۱۴ - ۱۰ میلی‌متر) بوده است، در صورتی که

حدافل غلظت مهارکننده برای هر دو به ترتیب ۸/۳۳ و ۱۶/۳۳ است. در این میان ویبریو پاراهمولایتیکوس حساس‌ترین تعیین شده است.

نتایج به دست آمده از حدافل غلظت مهارکنندگی عصاره‌های گیاه گزنه از رشد بین ۶۶/۶۶ تا ۰/۱۳ متغیر بوده

جدول شماره ۱- میزان قطر هاله‌های عدم رشد (میلی‌متر) در میکروب‌های مورد آزمایش با غلظت نهایی ۱۰۰ میلی گرم بر میلی‌لیتر

میکروب‌های مورد آزمایش	HE I	CE I	EAE I	ME I	ME II	CE II	DEE II	EAE II	BE II	شاهد	نتیجه
باکتری‌ها											
استینوباکتر کالکواستیکوس	-	-	-	-	++	+++	+	-	-	-	+++
باسیلوس سرئوس	++	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+++
باسیلوس سوبیتی لیس	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+++
ATCC 6633 باسیلوس اسپیزینی	++	+	++	+	-	-	-	-	-	-	+++
اشریشیا کلی	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+++
کلبسیلا پنومونیه	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+++
استافیلوکوکوس آئروس مقاوم به متیسیلین	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+++
<i>Salmonella paratyphi B</i>	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+++
سودوموناس آئروژینوزا	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++
ویبریو پاراهمولایتیکوس	++	++	++	-	-	-	-	++	-	-	+++
مخمر											
ساکارومیسز سرویسیه	+	++	++	+	-	-	-	-	-	-	+++
قارچ											
تریکوفایتون روبروم	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	****

شاخص اندازه‌گیری قطر هاله‌های عدم رشد (میلی‌متر) عبارت‌اند از: $+++ \geq 15 \text{ mm}$ ، $++ 10-14 \text{ mm}$ و $+ \leq 9 \text{ mm}$

* مایکونازول به عنوان شاهد مثبت در آزمایش ضد میکروبی قارچ به کار رفت.

قطر دیسک برابر ۶ میلی‌متر است.

جدول شماره ۲- نتایج MIC و MBC (mg/ml) عصاره‌های گزنه بر روی میکروب‌های مورد آزمایش

نام میکروب مورد آزمایش	نام عصاره گزنه به اختصار	MIC	MBC
اسینوباکتر کالکواستیکوس	ME II	۱۶/۶۶	۳۳/۳۳
اسینوباکتر کالکواستیکوس	CE II	۳۳/۳۳	۶۶/۶۶
باسیلوس سرئوس	HE I	۸/۳۳	۱۶/۶۶
باسیلوس اسپیزینی ATCC6633	CE I	۳۳/۳۳	۳۳/۳۳
باسیلوس سوبیتلیس	BE II	۸/۳۳	۸/۳۳
ویبریو پاراهمولایتیکوس	EAE I	۶۶/۶۶	۶۶/۶۶
ویبریو پاراهمولایتیکوس	EAE II	۰/۱۳	۰/۱۳
ساکارومیسز سرویسیه	EAE I	۲/۰۸	۸/۳۳
ساکارومیسز سرویسیه	CE I	۶۶/۶۶	۱۳۳/۳۳



در این مطالعه اثرات مهارکنندگی عصاره‌های الکلی گزنه بر روی باکتری‌های شایع فساد مواد غذایی همچون باسیلوس سرئوس و باسیلوس سوبتیلیس و باکتری گرم منفی ویبریو پاراهمولایتیکوس از عوامل شایع وبا مورد بررسی قرار گرفت. حداقل غلظت مهارکنندگی در ویبریو پاراهمولایتیکوس از عصاره اتیل استات به روش‌های اول و دوم به ترتیب ۶۶/۶۶ و ۰/۱۳ میلی گرم بر میلی لیتر به دست آمد.

بحث

مطالعات بیشماری بر روی گیاه گزنه (*Urtica dioica*) در زمینه‌های گوناگون پزشکی و گیاهان دارویی تاکنون صورت گرفته است ولی اطلاعات ناچیزی در مورد خاصیت ضد میکروبی آن گزارش شده است، به عنوان مثال در پژوهش انجام شده توسط گولچین (Gulchin) و همکاران مشخص شد که عصاره آبی (Water extract) گزنه بر روی ایشریشیاکلی، انتروباکتر آنروژنس، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس و کاندیدا آلبیکانس خاصیت ضد میکروبی دارد، در حالی که هیچ‌گونه اثری بر روی باکتری مقاوم گرم منفی سودوموناس آنروژینوزا نداشت [۱۵].

نتایج نشان داد که از بین باکتری‌های مورد پژوهش، باکتری‌های گرم مثبت همچون باسیلوس سرئوس و ATCC 6633 باسیلوس اسپیزینی و ویبریو پاراهمولایتیکوس به نظر می‌رسد که با سهولت بیشتری نسبت به باکتری‌های گرم منفی مانند *E. coli* مهار شوند. این امر ممکن است به لیپوبیلی ساکاریدها در غشای بیرونی باکتری‌های گرم منفی نسبت داده شود که آنها را ذاتاً به عوامل خارجی مثل رنگ‌های آبدوست، آنتی‌بیوتیک‌ها و شوینده‌ها مقاوم می‌کند [۱۶].

طبق نظر باسری (Basri) و فن (Fan) عصاره‌های گیاهی معمولاً بیشتر در برابر باکتری‌های گرم مثبت فعال هستند تا باکتری‌های گرم منفی از این رو در بررسی انجام شده توسط فیسگین و همکاران (۲۰۰۹) بر روی دارویی گیاهی با ترکیب



گزنه و چندین گونه گیاهی دیگر مشخص شده است که اثر سینرژیستی این ترکیب گیاهی در حد قابل توجهی باعث کنترل باکتری‌های گرم منفی شده است [۱۷]. همچنین در تحقیقی دیگر نشان داده شده که عصاره الکلی گیاه گزنه بر روی باکتری استرپتوکوکوس با سویه پیوژنس، باکتری‌های استافیلوکوکوس آئروس و استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس اثر ضدباکتریایی خوبی داشته است [۱۸].

در مطالعاتی که توسط فیسی (Facey) و همکاران بر روی عصاره گیاه *Pilea microphylla* از خانواده Urticaceae (با استفاده از چندین حلال قطبی و غیرقطبی) انجام گرفت مشخص شد که هیچ‌کدام از عصاره‌ها اثری بر روی باکتری *Staphylococcus aureus* نداشتند [۱۹]. تحقیقات ما هم در سال ۲۰۱۰ نیز این ادعا را در مورد گیاه *Pilea microphylla* با استفاده از مقایسه دو روش عصاره‌گیری به اثبات رساند [۲۰]. براساس مشاهدات انجام گرفته در این مطالعه به نظر می‌رسد که عصاره گیاه گزنه و یا در مجموع گیاهان متعلق به این خانواده نیز اثر کنترل‌کنندگی بر روی این باکتری ندارند.

نتایج این پژوهش نیز بر روی عصاره‌های الکلی، نتایج آنها را مورد تأیید قرار می‌دهد. در یک مطالعه توسط مدرسی چهاردهی و همکاران، اثرات آنتی‌اکسیدانتی و ترکیبات فنلی گزنه بررسی شد. در غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره‌های قطبی همانند بوتانل و نیمه قطبی اتیل استات دارای خواص متوسط آنتی‌اکسیدانتی فوق‌العاده‌ای بودند [۱۱].

نتیجه‌گیری

در یک نتیجه‌گیری کلی می‌توان چنین بیان نمود که عصاره‌های گیاه گزنه دارای خاصیت و قابلیت ضدباکتریایی بر روی بیشتر باکتری‌های گرم مثبت و برخی باکتری‌های گرم منفی می‌باشند، با این حال اثر عصاره‌ها بر روی باکتری سودوموناس آنروژینوزا در این مطالعه دیده نشد. در ادامه لازم است مطالعات بیشتر و دامنه‌داری در شرایط محیطی *in vivo* انجام شود تا غلظت مؤثر این عصاره‌ها بر باکتری‌های موردنظر

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از دانشگاه ساینز مالزی (Universiti Sains Malaysia) به خاطر فراهم نمودن بورس تحصیلی و امکانات کامل آزمایشگاهی برای تحقیق در این زمینه تشکر و قدردانی می‌شود.

و سویه‌های بالینی، اثرات جانبی آنها در این غلظت‌های به کار رفته و فرمولاسیون دقیق آن، مورد ارزیابی قرار گیرد تا در نهایت بتوان پس از مراحل تکمیلی این عصاره‌ها را به عنوان یک داروی جدید ضد میکروبی به دنیا معرفی نمود.

منابع

1. Yang YE, Li XQ, Tang CP. Natural Product Chemistry Research 2006's Progress in China. *Chin. J. Nat. Med.* 2008; 6: 0070 - 0078.
2. Rastmanesh R, Saadat N. Effect of *Urtica dioica* on Glycemic Control in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. 2007 Available on: <https://www.healogica.com/trials/diabetes/NCT00422357>.
3. Chaurasia N, Wichtl M. Effects of *Urtica dioica* L. seed on lipid peroxidation, antioxidants and liver pathology in aflatoxin-induced tissue injury in rats. In: *Flavonol glycosides aus Urtica dioica. Planta Med.* 2009; 53: 432 - 4.
4. Khorasani A. Makhzanoladvieh. Eslamic republic. *Ejucational publisher.* 1982; 324 - 5.
5. Bondarenko B, Wather C, Funk P, Schlafke S, Engelmann U. Long-term efficacy and safety of PRO 160/120 (a combination of sabal and urtica extract) in patients with lower urinary tract symptoms (LUTS). *Phytomedicine* 2003; 10: 53 - 5.
6. Yeşilda X. Folk medicine in Central Anatolia. *J. Ethnopharmacol.* 2001; 75: 95 - 115.
7. Sezik E, Yeşilda F, Tabata M, Honda G, Takaishi Y, Fujita T, Tanaka T, Takeda Y. Traditional medicine in Turkey VIII. Folk medicine in East Anatolia Erzurum Ağrı, Kars, Iğdır provinces. *Econ. Bot.* 1997; 51: 195 - 211.
8. Lowe FC, Fagelman E. Phytotherapy in the reatment of benign prostatic hyperplasia. *Curr. Opin. Urol.* 2002; 1: 15 - 8.
9. Sumathy T, Subramanian S, Govindasamy S, Balakrishna K, Veluchamy G. Protective role of *Bocopa Monniera* on morphine induced hepatotoxicity in rats. *Phytother. Res.* 2001; 7: 643 - 5.
10. Rakhshandehroo F, Modarresi Chahardehi A and Zamani Zadeh HR. Study on the antiviral effect of aquatic and alcoholic extracts of *Urtica dioica* L. on rose mosaic viral diseases in vitro culture, *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 2009; 25 (3): 403 - 13.
11. Modarresi Chahardehi A, Ibrahim D, Sulaiman SF. Antioxidant activity and total phenolic content of some medicinal plants in Urticaceae family. *J. Applied Biol. Sci.* 2009; 01 - 04.
12. Wright GD. Resistance; new chemical strategies for battling superbugs. *Chemistry Biology* 2008; 127 - 32.
13. Mellidis AS and Papageorgiou VP. Phenolic constituents from *Onosma heterophylla*. *J. Nat. Prod.* 1993; 56 (6): 949 - 52.
14. NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards). Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically; Approved Standard, 3rd ed. NCCLS document M100-S12. 2002; Wayne, PA, National Committee for Clinical Laboratory Standards.
15. Gulchin İ, Küfrevioğlu İ, Oktay M, Büyükokuroğlu ME. Antioxidant, antimicrobial,



antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urtica dioica* L.), *J. Ethnopharmacol.* 2004; 90: 205 - 15.

16. Hayouni El, Abedrabba M, Bouix M and Hamdi M. The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. *Food. Chem.* 2007; 105 (3): 1126 - 34.

17. Fisgin NT, Cayci YT, Coban AY, Ozatli D, Tanyel E, Durupinar B and Tulek N. Antimicrobial activity of plant extract Ankaferd Blood stopper, *Fitoterapia* 2009; 80: 48 – 50.

18. Janssen AM and Scheffer JJ. *Planta Med.* 1985; 51: 507 (Abstract).

19. Facey PC, Pascoe KO, Porter RB and Jones AD. Investigation of plants used in Jamaican folk medicine for anti-bacterial activity, *Journal of Pharmacy and Pharmacol.* 1999; 51 (12): 1455 – 60.

20. Modarresi Chahardehi A, Ibrahim D and Fariza Sulaiman S. Antioxidant, antimicrobial activity and toxicity test of *Pilea microphylla*, *International Journal of Microbiol.* 2010; doi: 10.1155/2010/826830.

