Journal of Medicinal Plants Biotechnology
JMPB

Research Article

The Inhibitory Effect of Quince (Cydonia oblonga Mill.) Fruit and Seed Gel Extract on Urease Enzyme for Suppressing Helicobacter pylori Infection

Mahdi Tavakolizadeh[a,b1], Seyed Morteza Hoseini[2], Hafezeh Salehabadi[3*]

1- a: Associate Professor, Department of Pharmacognosy, School of Pharmacy, Zanjan University of Medical Sciences, Zanjan, Iran.

b: Associate Professor, Evidence-based Phytotherapy and Complementary Medicine Research Center, Alborz University of Medical Sciences, Karaj, Iran.

2-Pharm. D, Department of Medicinal Chemistry, School of Pharmacy, Zanjan University of Medical Sciences, Zanjan, Iran

3-Assistant Professor, Department of Medicinal Chemistry, School of Pharmacy, Zanjan University of Medical Sciences, Zanjan, Iran

ARTICLE INFO

Article history

Submitted: 2025-5-18
Revised: 2025-6-24
Accepted: 2025-8-2

KEYWORDS

Helicobacter pylori, Urease enzyme, *Cydonia oblonga* extract, Berthelot method, DPPH assay

ABSTRACT

Helicobacter pylori, a Gram-negative bacterium, is a major causative agent of peptic ulcers and gastrointestinal cancers. To neutralize gastric acid and ensure survival in the harsh stomach environment, *H. pylori* relies on urease enzyme activity, which converts urea into ammonia. Hence, urease inhibitors play a critical role in combating *H. pylori* and managing associated diseases, including gastritis and other gastrointestinal disorders. This study evaluated the urease-inhibitory and antioxidant activities of *Cydonia oblonga* Mill. (quince) fruit and seed gel extract, aiming to identify natural sources of effective urease inhibitors. The urease inhibition potential was assessed using the Berthelot method (targeting jack bean urease), while antioxidant activity was measured via the 2, 2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl (DPPH) free radical scavenging assay. Both extracts were prepared with 80% ethanol, and inhibitory effects were quantified through enzyme inhibition percentages and IC_{50} values for urease, alongside DPPH radical scavenging percentages. The results revealed that the seed gel extract exhibited stronger urease inhibition (IC_{50} = 136.6 ± 7.5 µg/mL) compared to the fruit extract (IC_{50} = 435.3 ± 10.8 µg/mL). Antioxidant activity was higher in the fruit extract (85.23%) than in the seed gel (79.66%). These findings highlight *Cydonia oblonga* through its suitable antioxidant, and urease-inhibitory activity for developing safer therapeutic strategies against *H. pylori* infection and preventing relevant complications.

* Corresponding author: ***Hafezeh Salehabadi***
✉ E-mail: hsalehabadi@zums.ac.ir

مجله زیست فناوری گیاهان دارویی
JMPB

مقاله پژوهشی

بررسی اثر مهاری عصاره میوه و ژل دانه به (Cydonia oblonga Mill.)روی آنزیم اوره‌آز جهت مهار عفونت هلیکو باکتر پیلوری

مهدی توکلی زاده[a,b]، سید مرتضی حسینی[۲]، حافظه صالح آبادی*[۳]

۱- a : دانشیار، گروه فارماکوگنوزی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی زنجان، زنجان، ایران

b: دانشیار، مرکز تحقیقات گیاه درمانی و طب مکمل مبتنی بر شواهد، دانشگاه علوم پزشکی البرز، کرج، ایران.

۲- دکتری داروسازی، گروه شیمی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی زنجان، زنجان، ایران

۳--استادیار، گروه شیمی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی زنجان، زنجان، ایران

اطلاعات مقاله

تاریخچه مقاله

دریافت: ۲۸-۲-۱۴۰۴
بازنگری: ۳-۴-۱۴۰۴
پذیرش: ۱۱-۵-۱۴۰۴

چکیده: هلیکوباکتر پیلوری، یک باکتری گرم منفی و عامل اصلی زخم معده و سرطان‌های گوارشی است. هلیکوباکتر پیلوری با استفاده از آنزیم اوره‌آز، اوره را به آمونیاک تبدیل می‌کند تا اسید معده را خنثی کرده و بقای خود را در این محیط تضمین کند. از این‌رو مهارکننده‌های اوره‌آز نقش مهمی در مقابله با هلیکو باکتر پیلوری و مدیریت بیماری‌های مختلف از جمله گاستریت و سایر اختلالات گوارشی دارند. در این مطالعه، فعالیت مهاریِ عصاره میوه و ژل دانه به (*Cydonia oblonga* Mill.) بر آنزیم اوره‌آز لوبیای جک با روش برتلوت و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها با تست ۲،۲-دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل (*DPPH*) به‌منظور شناسایی منابع طبیعی به‌عنوان مهارکننده‌های مناسب اوره‌آز مورد ارزیابی قرار گرفت. عصاره میوه و ژل دانه به با اتانول ۸۰ درصد تهیه و سپس میزان اثر مهاری آن‌ها شامل درصد مهار آنزیمی و IC_{50} بر روی آنزیم اوره‌آز و درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH سنجیده شد. نتایج نشان داد ژل دانه به با مقدار IC_{50} برابر ۵/۷ ±۱۳۶/۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر، مهارکننده قویتری نسبت به عصاره میوه با IC_{50} برابر با ۱۰/۸ ± ۴۳۵/۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر است. هم‌چنین، فعالیت آنتی‌اکسیدانی ژل دانه و عصاره میوه به‌ترتیب ۷۹/۶۶ درصد و ۸۵/۲۳ درصد اندازه‌گیری شد. یافته‌ها نشان می‌دهد عصاره به می‌تواند با داشتن اثر مهارکنندگی اوره آز و اثر آنتی‌اکسیدانی مناسب، در طراحی درمان‌های کم خطرتر برای عفونت هلیکوباکتر پیلوری و پیشگیری از عوارض مرتبط مورد استفاده قرار گیرد.

واژگان کلیدی:

هلیکوباکتر پیلوری، اوره‌آز، عصاره به، روش برتلوت، تست ۲،۲-دی‌فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل

*نویسنده مسئول: **حافظه صالح آبادی**

✉ E-mail: hsalehabadi@zums.ac.ir
Journal homepage: ***jmpb.znu.ac.ir***

مقدمه

هلیکوباکتر پیلوری (*Helicobacter pylori*) نوعی باکتری گرم منفی است که به‌عنوان یک پاتوژن شایع بیش از نیمی از جمعیت جهان را آلوده کرده است (Sharndama & Mba, 2022). این باکتری به‌دلیل داشتن آنزیم‌های خاص می‌تولند در مخاط معده و روده لانه‌گزینی کرده و به‌عنوان عامل اصلی بیماری‌های گوارشی نظیر التهاب مزمن معده، زخم معده، سرطان معده و بافت لنفاوی مرتبط با مخاط شناخته‌شده است (Lemos et al., 2023). در آخرین طبقه‌بندی سازمان بهداشت جهانی، *هلیکوباکتر پیلوری* در گروه اول عوامل سرطان زا قرار گرفته است (Reyes, 2023).

درمان *هلیکوباکتر پیلوری* شامل یک مهارکننده پمپ پروتون مانند پنتوپرازول در ترکیب با آنتی‌بیوتیک‌ها و/یا بیسموت است (Panigrahi et al., 2023). اما اثربخشی این رژیم‌ها به‌دلیل مقاومت آنتی‌بیوتیکی به‌طور قابل‌توجهی کاهش‌یافته است (Aljaberi et al., 2023). برای غلبه بر این چالش‌ها، محققان استراتژی‌های جایگزین را بررسی کرده‌اند. اوره‌آز، آنزیمی که توسط *هلیکوباکتر پیلوری* تولید می‌شود، یکی از مهم‌ترین اهداف بالقوه است (Alba et al., 2017; Valenzuela-Hormazabal et al., 2024).

آنزیم اوره‌آز، اوره خون را به آمونیاک و دی‌اکسید کربن تجزیه کرده و با قلیایی کردن محیط، باکتری را از اثرات مخرب اسید معده محافظت می‌کند. این مکانیسم به هلیکوباکتر پیلوری این امکان را می‌دهد که در محیط اسیدی معده زنده بماند، کلونیزه شود و باعث ایجاد مشکلات گوارشی ازجمله التهاب معده و روده گردد (Mamidala et al., 2021; Valenzuela-Hormazabal et al., 2024).

ازاین‌رو، مهارکننده‌های آنزیم اوره‌آز نقش مهمی در ریشه‌کنی *هلیکو باکتر پیلوری* و بهبود کیفیت زندگی انسان دارند. تا کنون مهارکننده‌های مختلفی ازجمله: مشتقات هیدروکسامیک اسید، فسفودی‌آمیدها، بنزوکینون‌ها و نفتوکینون‌های پلی‌هالوژنه و ایمیدازول‌ها، مشتقات تیواوره، مشتقات کینولون‌ها، فالونوئیدها، مشتقات مترونیدازول و مشتقات پی‌پرازین معرفی شده است (Kafarski & Talma, 2018). اما فقط استوهیدروکسامیک اسید به‌عنوان مهارکننده آنزیم اوره‌آز، تاییدیه سازمان غذاوداروی آمریکا را دریافت کرده که مصرف بالینی این ترکیب نیز به‌دلیل عوارض جانبی شدید ازجمله عوارض جهش‌زایی، علائم روانشناختی و عضلانی با محدودیت گسترده روبه‌رو است (Song et al., 2022). بنابراین تحقیق و جستجو برای دستیابی به مهارکننده‌های اوره‌آز جدیدی که ایمنی و اثربخشی خوبی داشته و انتخابی عمل کنند هم‌چنان ادامه دارد.

بدون‌شک طبیعت منبعی غنی از ترکیبات با ساختارهای شیمیایی متنوع است که نقش بسزایی در صنعت داروسازی دارند. ازاین‌رو،

بررسی محصولات طبیعی مشتق شده از گیاهان به‌عنوان مهارکننده‌های اوره‌آز می‌تواند پتانسیل بسیار خوبی برای درمان بیماری‌های مرتبط با فعالیت آنزیم اوره‌آز و عفونت *هلیکوباکتر پیلوری* ارائه دهد (Amin et al., 2013; Newman & Cragg, 2020).

تاکنون اثرات مهاری عصاره‌های هیدروالکی مختلفی بر آنزیم اوره‌آز بررسی شده و نتایج نشان‌دهنده پتانسیل بالای این عصاره‌ها در مهار آنزیم اوره‌آز است. به‌عنوان مثال، مقادیر IC_{50} برای عصاره‌های اتانولی گل قاصدک (*Taraxacum officinale*) و بومادران (*Achillea millefolium*) به‌ترتیب برابر ۳۳/۳۳ و ۲۴/۹۴، میکروگرم بر میلی لیتر به‌دست آمده است، که نشان‌دهنده پتانسیل بالای این عصاره‌ها در مهار آنزیم است (Tahseen Ghous et al., 2010).

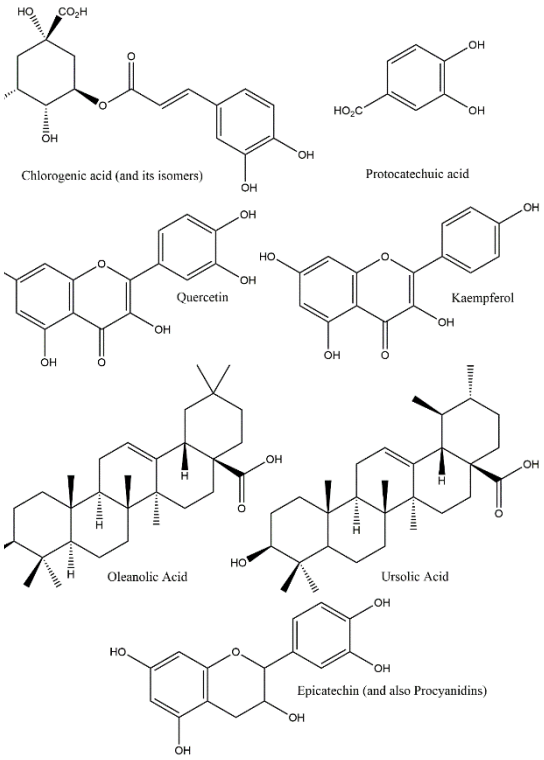
در مطالعه دیگر، فعالیت مهاری عصاره ۱۳۷ گیاه دارویی سنتی ایران در برابر اوره‌آز مورد بررسی قرار گرفت، که ازاین‌بین، عصاره‌های گیاهان ریواس کشمشی (*Rheum ribes*) و آقطی (*Sambucus ebulus*) با مقادیر IC_{50} به‌ترتیب ۹۲ و ۵۷ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، اثر مهاری قابل‌توجهی از خود نشان دادند (Nabati et al., 2012).

عصاره برگ بو (*Laurus nobilis*) با IC_{50} برابر با ۳۶/۲۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر به‌عنوان یک مهارکننده اوره‌آز معرفی و سپس کوئرستین به‌عنوان ماده موثره جداسازی و اثری مهاری آن بر آنزیم بررسی شد که مقدار ΔG اتصال - ۴۱/۶۲ کیلوژول بر ژول به‌دست آمد (Biglar et al., 2021).

هسپریدین-۷-رامنوگلیکوزید، یک بایوفلاونوئید جدا شده از پوست میوه‌ی گریپ‌فروت (*Citrus uranium*)، با IC_{50} برابر ۴۰ میلی‌مولار (Sharaf et al., 2022) و گاسیپول، پلی‌فنول مشتق‌شده از گیاه *پنبه*، با مقدار IC_{50} برابر با ۳/۳ میکرومولار مهارکننده‌های جدید دیگری برای اوره‌آز بر پایه ترکیبات طبیعی هستند (Šudomová & Hassan, 2022).

با توجه به تحقیقات قبلی و پتانسیل بالای ترکیبات طبیعی در مهار آنزیم اوره‌آز، در این تحقیق عصاره میوه و ژل دانه گیاه به (*Cydonia Oblonga*. Mill) جهت بررسی اثرات مهاری آنزیم اوره‌آز انتخاب شد. گیاه به درختی از تیره گل سرخیان، جزو دسته سیب‌ها است، که در هر دو شرایط آب‌وهوایی خنک و گرم میوه آن تشکیل می‌گردد. در پژوهش‌های مختلف عصاره بخش‌های مختلف این گیاه جداسازی و برخی از مهم‌ترین مواد موثره گزارش شده برای این گیاه شامل: کلروژنیک اسید (*Chlorogenic Acid*)، کافئویلکواینیک اسیدها (*Caffeoylquinic Acids*)، پروتوکاتشوئیک اسید (*Protocatechuic Acid*)، کوئرستین (*Quercetin*)، کمپفرول (*Kaempferol*)، اپیکاتچین (*Epicatechin*) و پروسیانیدین‌ها (*Procyanidins*) هستند (شکل ۱) (Al-

Zughbi & Krayem, 2022; Djidel et al., 2025; Ňorbová et al., 2024; Sut et al., 2019)، که ازاین‌بین کوئرستین با IC_{50} برابر با ۹/۵۸۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر به‌عنوان مهارکننده اوره‌آز معرفی شده است (Asadi et al., 2025).



شکل ۱: ساختار شیمیایی برخی از مهم‌ترین ترکیبات فعال زیستی گیاه به

این گیاه کاربردهای دارویی سنتی متعددی در درمان بیماری‌های گوارشی نظیر التهاب معده، تهوع و استفراغ دارد (Ňorbová et al., 2024) که همگی از عوارض ابتلا به عفونت *هلیکو باکتر پیلوری* است. علاوه‌براین فعالیت‌های ضدسرطانی (Adiban et al., 2019; Carvalho et al., 2010)، ضدالتهابی (De Bellis et al., 2023; Djidel et al., 2025)، ضدزخم معده (Parvan et al., 2017) و ضدمیکروبی (Al-Zughbi & Krayem, 2022; Ňorbová et al., 2024) برای گیاه *به* گزارش‌شده است. اما تاکنون اثرات مهار اوره‌آز عصاره اتانولی آن بررسی نشده است. براین‌اساس اثرات مهاری اوره‌آز گیاه به به‌عنوان گزینه منتخب در این پروژه مورد بررسی برای قرار گرفت. تا در صورت داشتن اثر مهارکنندگی آنزیم اوره‌آز، ضمن کمک به حذف باکتری از طریق اثرات ضد التهاب و ضد تهوع به درمان علائم عفونت کمک‌کرده و با داشتن اثرات ضد زخم و ضد سرطانی از ایجاد این بیماری‌ها در عفونت‌های مزمن جلوگیری کند. این مطالعه به‌منظور توسعه درمان‌های کم‌خطرتر و مؤثرتر علیه عفونت‌های ناشی از *هلیکوباکتر پیلوری*، اثر مهاری عصاره هیدروالکلی میوه و ژل دانه *به* بر فعالیت آنزیم اوره را برای نخستین بار ارزیابی کرده است.

۲. مواد و روش ها

۱.۲. مواد و تجهیزات مورد استفاده

آنزیم اوره‌آز لوبیای جک (EC 3.5.1.5) و کوئرستین از شرکت سیگما، حلال دی‌متیل‌سولفوکساید، تیواوره، سدیم‌نیتروپروساید از شرکت مرک آلمان، اتانول مطلق ۹۹/۸ از شرکت سیمین تاک و سایر مواد لازم جهت تست آنزیمی از شرکت‌های معتبر داخلی و در رده آنالیزی خریداری شد. دانه و

میوه به از عطاری در زنجان تهیه و توسط دکتر مهدی توکلی‌زاده به‌عنوان متخصص فارماکوگنوزی شناسایی و تایید شدند.

جهت اندازه‌گیری میزان جذب نمونه‌ها از دستگاه اسپکتوفتومتر *jenway model 6300* ساخت کشور انگلستان و جهت خشک‌کردن عصاره‌ها از خشک‌کن انجمادی *Harvest Right* ساخت کشور چین استفاده شد.

۲.۲. عصاره‌گیری

ماسیراسیون یا خیساندن، روشی ساده و پرکاربرد برای استخراج مواد موثره از گیاهان دارویی است. این روش بر پایه حلالیت مواد موثره در حلال مناسب و تماس طولانی‌مدت حلال با گیاه بنا شده است (Ćujić et al., 2016). جهت عصاره‌گیری میوه به، ۱۰ گرم از میوه پودر شده به مدت سه روز در حلال اتانول مطلق- آب به نسبت ۸۰:۲۰ خیسانده شد. به‌منظور استخراج بهتر مواد هر روز محلول حاصل به مدت ۵ دقیقه تحت امواج فراصوت قرار گرفت. نهایتا عصاره حاصل‌شده توسط کاغذ صافی فیلتر، و توسط دستگاه خشک‌کن انجمادی خشک شد. درمورد ژل دانه به نیز ابتدا حدود ۸/۷۲ گرم از دانه به داخل یک بشر ریخته و به آن الکل ۸۰ درصد اضافه شد تا موسیلاژ دانه بعد از گذشت یک روز حاصل شود، سپس ژل دانه به از دانه‌ها جدا شده و از صافی عبور داده شد. ژل دانه حاصل در خشک‌کن انجمادی تصعید شد تا عصاره مورد نظر به‌دست آید.

رلندمان عصاره گیری با استفاده از معادله ۱ بدست آمد.

(معادله ۱) = راندمان

۱۰۰ * (وزن گیاه خشک مورد استفاده / وزن عصاره خشک شده)

عصاره‌های میوه و ژل دانه به تا زمان تست آنزیمی در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد و دور از نور نگهداری شدند.

۳.۲. بررسی فعالیت آنزیمی

برای ارزیابی فعالیت آنزیمی اوره‌آز، از روش رنگ‌سنجی برتلوت استفاده شد. این روش براساس واکنش بین یون‌های آمونیوم و فنل در حضور هیپوکلریت در pH قلیایی است. آمونیاک در این واکنش با فنل و هیپوکلریت ترکیب‌شده و ایندوفنل تولید می‌کند. ایندوفنل یک ترکیب رنگی سبز-آبی است و λ_{max} آن در محدوده ۶۲۰-۶۴۰ نانومتر است. برای اندازه‌گیری فعالیت مهاری عصاره‌های میوه و ژل دانه به، ابتدا میزان فعالیت آنزیم اوره‌آز در حضور سوبسترای آن یعنی اوره و طبق روش رنگ‌سنجی برتلوت اندازه‌گیری شد. سپس عصاره‌های تهیه شده به محیط تست آنزیمی افزوده شده و فعالیت آنزیم این‌بار در حضور هر یک از عصاره‌ها ارزیابی گردید.

محلول تست آنزیمی شامل: ۸۵۰ میکرولیتر از محلول اوره ۳۰ میلی‌مولار، ۱۵ میکرولیتر از محلول آنزیم اوره‌آز با غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و ۱۳۵ میکرولیتر از محلول‌های عصاره‌های میوه و ژل دانه به با غلظت‌های مشخص است به‌طوری‌که حجم نهایی به ۱

میلی‌لیتر برسد. این محلول به مدت ۳۰ دقیقه در شیکر انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار گرفت تا آنزیم فعالیت خود را بر روی سوبسترای اوره انجام دهد. لازم به ذکر است که در کنترل منفی به جای حجم عصاره بافر فسفات با $pH=$ ۷/۴ و غلظت ۰/۱ مولار و در کنترل مثبت تیواوره و کوئرستین جایگزین شد. پس از انکوبه‌شدن، ۵۰۰ میکرولیتر از محلول A (۱ گرم فنل و ۵ میلی گرم نیتروپروساید حل شده در ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر) و ۵۰۰ میکرولیتر از محلول B (۲۵۰ میلی‌گرم سدیم هیدروکسید و ۸۲۰ میکرولیتر محلول هیپوکلریت سدیم ۵ درصد حل شده در ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر) به ۵۰۰ میکرولیتر از محلول تست آنزیمی در پلیت ۲۴ خانه دستگاه الایزا افزوده شدند. سپس مقدار جذب ایندوفنل در حضور و عدم حضور عصاره‌ها در طول موج ۶۳۰ نانومتر با استفاده از دستگاه الایزا اندازه‌گیری شد (Biglar et al., 2012).

۴.۲. محاسبه درصد مهار عصاره‌های گیاهی

بعد از انجام مراحل تست برتلوت بر اساس فرمول زیر درصد مهار آنزیم اوره‌آز برای هرکدام از عصاره‌های گیاهی منتخب محاسبه شد.

$I\,(\%) = 100 - 100^{*}\,(T/C)$ (معادله ۲)

که در این واکنش I درصد مهار آنزیم، T (تست) میزان جذب مهارکننده‌های آنزیم (محلول‌های حاوی عصاره‌های گیاهی و محلول کنترل مثبت) در حضور آنزیم اوره‌آز ، C میزان جذب محلول با آنزیم بدون مهارکننده می‌باشد (شاهد). آزمایش طی سه مرتبه تکرار انجام و نتایج به‌صورت میانگین $\pm$ واریانس گزارش گردید. از طریق سنجش میزان مهار غلظت‌های مختلف از عصاره‌های گیاهی مقدار IC_{50} (غلظتی از ترکیب که 50 درصد از آنزیم را مهار می‌کند) توسط برنامه گراف پدپریسم ۹ محاسبه شد.

۵.۲. ارزیابی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی به روش رادیکال ۲،۲-دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل

رادیکال آزاد ۲،۲-دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل ($DPPH$) یک مولکول پایدار با رنگ بنفش است. در حضور یک آنتی‌اکسیدان، رادیکال $DPPH$ الکترون دریافت کرده و به $DPPH$ بی‌رنگ تبدیل می‌شود (Gulcin & Alwasel, 2023).

در این تست ابتدا محلول رادیکال $DPPH$ با حل کردن ۲/۴ میلی‌گرم از $DPPH$ در ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول تهیه شد. سپس ۵ میکرولیتر از محلول حاوی عصاره‌های ژل دلنه و میوه به با غلظت ۱میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به ۳/۹۹۵ میلی‌لیتر $DPPH$ متانولی اضافه شد. مخلوط حاصل از عصاره‌های گیاهی به‌عنوان آنتی‌اکسیدان و رادیکال آزاد $DPPH$ توسط ورتکس به‌خوبی تکان داده و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق و تاریکی نگهداری و سپس جذب محلول‌ها و هم‌چنین شاهد (بدون آنتی‌اکسیدان) در طول موج ۵۱۵ نانومتر اندازه گیری شد. تمامی اندازه‌گیری ها سه بار تکرار گردید و توانایی پاک‌کنندگی رادیکال $DPPH$ توسط

عصـــاره‌های گیاهی، با اســـتفاده از معادله زیر محاسبه شد (Rajurkar & Hande, 2011):
(معادله ۳) درصد پاک‌سازی رادیکال‌های آزاد:

$$DPPH = ((AB - AA)/AB) \times 100$$

که در این فرمول:
AB جذب نوری شاهد در طول موج ۵۱۵ نانومتر در زمان ۳۰ =t دقیقه است.
AA جذب نوری آنتی‌اکســـیدان در طول موج ۵۱۵ نانومتر در زمان ۳۰= t دقیقه است.

۳. نتایج و بحث

۱.۳. راندمان عصاره‌گیری میوه و ژل دانه به

با توجه به ســـایت فعال آنزیم اوره‌آز که شـــامل قســـمت‌های هیدروفیلیک و هیدروفوبیک می‌باشـــد، ترکیبات پلی‌فنولی و فلاونوئیدها می‌توانند این آنزیم را مهار کنند. ازاین‌رو جهت استخراج کامل موادی با این ساختار شیمیایی، عصـــاره‌گیری از ترکیبات با ۵۰ میلی لیتر از مخلوط حلال اتانول مطلق- آب با نسبت ۸۰:۲۰ و به روش بیان‌شده در بخش ۲.۲ انجام و پس از عصاره‌گیری راندمان عصاره‌گیری با استفاده از معادله ۱ به‌دست آمد.
در مورد ژل دانه به با توجه به این‌که از ۸/۷۲ گرم دانه خشـــک شـــده به، ۲/۸۲ گرم عصـــاره حاصـــل شـــد، میزان بازده عصـــاره‌گیری ۳۲/۳۵ درصـد به‌دست آمد. در مورد میوه به نیز از ۱۰ گرم میوه خشـــک، ۴/۵ گرم عصـــاره خشـــک به‌دست آمد، که در این مورد بازده عصاره‌گیری ۴۰/۷ درصد محاسبه شد. لازم به ذکر است که بازده عصـــاره‌گیری تحت تاثیر عوامل مختلفی ازجمله فصـــل جمع‌آوری نمونه، منطقه رویش گیاه و روش عصاره‌گیری است.

۲.۳. نتایج بررســـی اثر مهاری عصـــاره‌ها بر روی آنزیم اوره‌آز و تست آنتی اکسیدانی

جهت بررســـی فعالیت مهاری آنزیم اوره‌آز عصـــاره‌های میوه و ژل دانه به از روش برتلوت اســـتفاده، و جذب ایندوفنول تولیدشـــده توســـط دســـتگاه الایزا و در طول موج ۶۳۰ نـانومتر اندازه‌گیری شد. معیار سـنجش در روش برتلوت بر اســاس آمونیاک تولیدشـده در محلول تسـت آنزیمی است. در صورت عملکرد آنزیم، آمونیاک تولیدشده با محلول‌های A و B تولید ایندوفنول می‌کند که آبی رنگ اســـت و در λ_{max} برابر با ۶۳۰ نانومتر جذب دارد. مقدار رنگ ایندوفنول ایجادشده، نشان‌دهنده میزان فعالیت آنزیم است و ازاین‌رو در حضـور عصـاره‌ها، کمتر بودن رنگ تولیدشـــده به معنی تولید کمتر آمونیاک و درنتیجه رخدادن مهار بیشتر روی آنزیم است.
درصـــد مهار عصـــاره‌های میوه و ژل دانه به در غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و با اســـتفاده از معادله ۲ به‌دســت آمد. همان‌طورکه در جدول ۱ آمده است، عصاره میوه به ۵۲٪ و عصاره ژل دانه به ۶۹٪ اثر مهاری را از خود نشان دادند.
در مرحله بعد مقدار IC_{50} برای هر دو عصـــاره محاســـبه گردید. جهت به‌دســـت آوردن مقادیر IC_{50} برای عصـــاره‌ها، از این عصـــاره‌ها با روش رقت‌ســـازی ســـریالی، غلظت‌های ۱۰۰۰، ۵۰۰، ۲۵۰، ۱۲۵ و ۶۲/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر تهیه

گردید. کلیه آزمایش‌ها سه بار تکرار و برای محاسبه IC_{50} از برنامه گراف پد پریسم ۹ استفاده شد. که نتایج در جدول ۱ و شکل ۲ قابل مشاهده می‌باشد.

جدول ۱: اثر آنتی اکسیدانی، درصد مهار آنزیم اوره آز و مقادیر IC_{50} مهار آنزیمی عصاره های گیاهی

نام ترکیب	درصد مهار رادیکال های آزاد با غلظت 1 *mg/ml*	درصد مهار آنزیم اوره آز با غلظت 1 *mg/ml*	IC_{50} *(µg/ml)*
ژل دانه *به*	۷۹/۶۶	۶۹	± ۵/۷ ۱۳۶/۶
میوه *به*	۸۵/۲۳	۵۲	± ۱۰/۸ ۴۳۵/۳

نتایج آنزیمی به‌دست آمده برای هر دو عصاره نشان می‌دهد که این عصاره‌ها اثر خوبی در مهار آنزیم اوره‌آز، از خود نشان‌می‌دهند. همان‌طور که در جدول ۱ و شکل ۲ نشان‌داده‌شده است، عصاره ژل دانه *به* با IC_{50} برابر با ۵/۷ ±۱۳۶/۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر می‌تواند به‌عنوان مهار کننده آنزیم اوره‌آز (آنزیم کلیدی در رشد و زنده مانی *هلیکو باکتر پیلوری*) معرفی شود و به‌عنوان مکمل در درمان علیه *هلیکوباکتر پیلوری*، که عامل اصلی زخم معده و مشکلات گوارشی است، عمل کند.

عصاره میوه *به* با IC_{50} برابر با ۱۰/۸ ± ۴۳۵/۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر ترکیب طبیعی دیگری است که اثر مهاری نسبتا خوبی علیه آنزیم اوره‌آز *هلیکوباکتر پیلوری* نشان داده است. البته عصاره میوه *به* اثر کمتری در مهار آنزیم اوره‌آز به‌عنوان یک ترکیب طبیعی در مقایسه با ژل دانه *به* دارد. اما به‌عنوان یک مکمل می‌تولند در درمان عفونت ناشی از *هلیکو باکتر پیلوری* نقش داشته باشد.

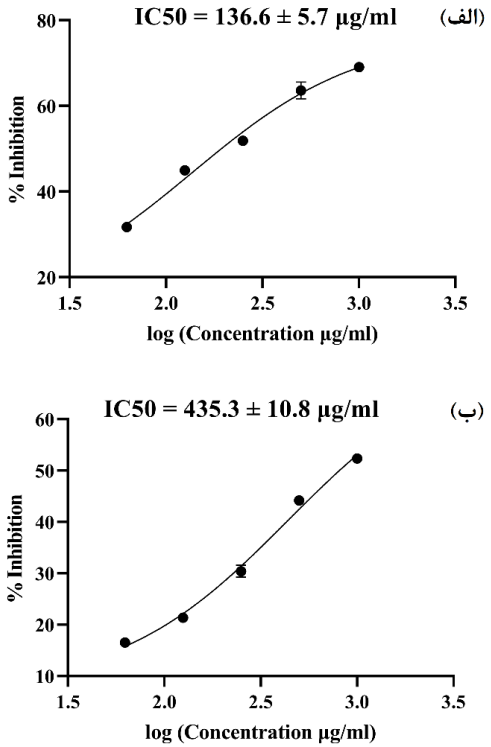
برای محاسبه درصد آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها از تست *DPPH* استفاده شد. میزان رنگ‌زدایی محلول *DPPH* با غلظت آنتی‌اکسیدان در عصاره گیاهان متناسب است. ظرفیت کل پاک‌سازی رادیکال آزاد عصاره‌ها طبق روش مقالات مشابه با استفاده از رادیکال پایدار *DPPH* که حداکثر جذب آن در طول موج ۵۱۵ نانومتر است، برآورد شد و برای عصاره میوه و ژل دانه به ترتیب ۸۵/۲۳٪ و ۷۹/۶۶٪ به‌دست آمد، که نشان دهنده اثر آنتی‌اکسیدانی مناسب این عصاره‌ها است.

در مجموع، این یافته‌ها در مورد اثر مهاری عصاره میوه و ژل دانه *به* امیدوارکننده هستند و می‌توانند راه را برای توسعه داروهای گیاهی جدید برای کمک به درمان عفونت‌های ناشی از *هلیکوباکتر پیلوری* هموار کنند.

۳.۳. بحث

هلیکو باکتر پیلوری با میزان شیوع حدود ۵۰ درصد در سراسر جهان (Chen et al., 2024)، یک پاتوژن شایع است که با کلونیزاسیون در معده می‌تواند منجر به بیماری‌های مختلفی ازجمله زخم معده، زخم دوازدهه، سرطان معده و سایر اختلالات گوارشی گردد. رژیم‌های دارویی جهت مقابله با این باکتری بر پایه آنتی‌بیوتیک‌ها

هستند. بااین‌وجود درمان‌های مبتنی بر آنتی‌بیوتیک‌ها نیز به دلایل مختلف ازجمله مصرف بی‌رویه منجر به ایجاد مقاومت آنتی‌بیوتیکی گردیده است. برای غلبه بر این چالش‌ها، محققان استراتژی‌های جایگزین را بررسی کرده‌اند.



شکل۲: گراف IC_{50}مربوط به (الف) عصاره ژل دانه به و (ب) میوه به.

آنزیم اوره‌آز، که نقش حیاتی در زنده‌مانی و کلونیزاسیون *هلیکو باکتر پیلوری* در محیط اسیدی معده را دارد، یکی از اهداف دارویی کلیدی است (Biglar et al., 2021; Mamidala et al., 2021; Valenzuela-Hormazabal et al., 2024). علارغم تحقیقات گسترده جهت یافتن مهارکننده‌های جدید و قوی برای این آنزیم تاکنون مهارکننده‌ای با تاییدیه FDA وارد بازار دارویی نشده و تلاش برای یافتن مهارکننده‌های جدید ادامه دارد. در این پژوهش اثر مهاری عصاره‌های میوه و ژل دانه *به* روی آنزیم اوره‌آز بررسی و نتایج حاصل نشان داد که این عصاره‌ها می‌توانند مهارکننده مناسبی برای آنزیم اوره‌آز باشند. ازاین‌رو می‌توانند در درمان عفونت‌های ناشی از *هلیکو باکتر* موثر واقع شوند. میوه و ژل دانه به، به‌دلیل دارا بودن طیف وسیعی از ترکیبات فعال زیستی، از دیرباز در طب سنتی مورد استفاده قرار گرفته‌اند (Ashraf et al., 2016). این عصاره‌ها دارای مقادیر بالایی از ترکیبات پلی‌فنولی نظیر کوئرستین، میرستین و اسید های آلی ازجمله فوماریک اسید و مالئیک اسید و ترکیبات پلی‌ساکاریدی هستند.

کوئرستین یک مهارکننده شناخته شده آنزیم اوره‌آز با IC_{50} برابر با۹/۵۸۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر است (Asadi et al., 2025). از اینرو پیشنهاد می‌گردد که اثر مهاری این عصاره‌ها به حضور موادی نظیر کوئرستین بر می‌گردد. علاوه‌براین، نتایج تحقیق حاضر نشان داد که عصاره میوه *به* ۸۵/۲۳ درصد و عصاره ژل دانه *به* ۷۹/۶۶ درصد اثر آنتی‌اکسیدانی دارند و ازاین‌رو می‌توانند از طریق انواع مختلف واکنش‌ها مانند جذب رادیکال‌های آزاد و کی لیت کردن با یون‌های فلزی از ایجاد سرطان‌های گوارشی که از عوارض درگیری طولانی‌مدت با عفونت *هلیکو*

باکتر پیلوری است جلوگیری کنند (Suriyaprom et al., 2022).

در سایر مطالعات انجام شده اثر حفاظتی عصاره میوه به بر زخم معده ناشی از ایندومتاسین در موش صحرایی بررسی و نتایج نشان داد که عصاره میوه بِه از تشکیل زخم معده به میزان موثری جلوگیری می‌نماید (Parvan et al., 2017). ازاین‌رو عصاره به می‌تواند علاوه بر مهار اوره‌آز، نقش حفاظتی در مقابل ایجاد زخم معده که از عوارض مهم *هلیکو باکتر پیلوری* است داشته باشد.

به‌طور خلاصه در این مطالعه اثر مهاری عصاره میوه و ژل دانه به روی آنزیم اوره‌آز بررسی و این عصاره‌ها به‌عنوان مهارکننده این آنزیم معرفی شده است. هم‌چنین این عصاره‌ها اثر آنتی‌اکسیدانی بالایی را از خود نشان دادند.

علاوه‌براین نتایج سایر تحقیقات انجام گرفته اثر ضد سرطانی (Carvalho et al., 2010) ضد زخم معده (Parvan et al., 2017) را نشان داده است. که این ویژگی‌ها می‌توانند عصاره ژل دانه و میوه به را به یک داروی چند هدفه تبدیل کند که ضمن از بین بردن باکتری از طریق مهار آنزیم اوره‌آز، به کاهش علائم فرد درگیر و نیز پیشگیری از عوارض بعدی نظیر سرطان جلوگیری می‌کند، که این امر یک مزیت فوق‌العاده در صنایع داروسازی است.

۴. نتیجه گیری

مطالعه حاضر نشان داد که عصاره‌های میوه و ژل دانه گیاه به دارای پتانسیل قابل‌توجهی در مهار آنزیم اوره‌آز *هلیکوباکتر پیلوری* و فعالیت آنتی‌اکسیدانی هستند. عصاره ژل دانه به با مقدار IC_{50} برابر ۵/۷ ±۱۳۶/۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر، اثر مهاری قوی‌تری نسبت به عصاره میوه۴۳۵/۳ IC_{50}= (میکروگرم بر میلی‌لیتر) از خود نشان داد. هم‌چنین، نتایج آزمون *DPPH* تأیید کرد که این عصاره‌ها به ترتیب ۷۹/۶۶٪ و ۸۵/۲۳٪ تولنایی خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد را دارند. حضور ترکیباتی مانند کوئرستین، پلی‌فنول‌ها و اسیدهای‌آلی در عصاره به، احتمالاً نقش کلیدی در این فعالیت‌های زیستی ایفا می‌کند.

این یافته‌ها اهمیت گیاه به را به‌عنوان یک منبع طبیعیِ چند کاربرد در درمان عفونت‌های هلیکوباکتر پیلوری برجسته می‌سازد. با توجه به افزایش نگران‌کننده مقاومت آنتی‌بیوتیکی و عوارض جانبی داروهای مصنوعی، عصاره‌های گیاهی مانند میوه و ژل دانه به می‌توانند به‌عنوان گزینه‌های ایمن‌تر و کم خطرتر در طراحی فرمولاسیون‌های دارویی ضد باکتری و آنتی‌اکسیدانی مورد توجه قرار گیرند. پیشنهاد می‌شود در مطالعات آینده، مکانیسم‌های دقیق مهار آنزیم اوره‌آز، بررسی سمیت سلولی و انجام آزمایش‌های درون تن برای تأیید اثربخشی بالینی این عصاره‌ها انجام شود.

سپاسگزاری

این پژوهش با حمایت معاونت تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی زنجان با کد گرنت: A-12-1510-13، کد اخلاق: IR.ZUMS.BLC.1402.030 انجام شد.

منابع

- Adiban, H., Shirazi, F.H., Gholami, S., Kamalinejad, M., Hosseini, S.H., Noubarani, M. & Eskandari, M.R. (2019). Chemopreventive effect of quince (Cydonia oblonga Mill.) fruit extract on hepatocellular carcinoma induced by diethylnitrosamine in rats. International Pharmacy Acta, 2, 2e2:1-12.
- Al-Zughbi, I. & Krayem, M. (2022). Quince fruit Cydonia oblonga Mill nutritional composition, antioxidative properties, health benefits and consumers preferences towards some industrial quince products: A review. Food Chemistry, 393, 133362.
- Alba, C., Blanco, A. & Alarcón, T. (2017). Antibiotic resistance in Helicobacter pylori. Current Opinion in Infectious Diseases, 30, 489-497.
- Aljaberi, H.S., Ansari, N.K., Xiong, M., Peng, H., He, B. & Wang, S. (2023). Current Understanding of the Transmission, Diagnosis, and Treatment of H. pylori Infection: A Comprehensive Review. International Journal of Medical, Pharmacy and Drug Research, 7, 1-26.
- Amin, M., Anwar, F., Naz, F., Mehmood, T. & Saari, N. (2013). Anti-Helicobacter pylori and Urease Inhibition Activities of Some Traditional Medicinal Plants. Molecules, 18, 2135-2149.
- Asadi, S., Rostamizadeh, K., Bahrami, H., Amanlou, M. and Salehabadi, H. (2025). Enhanced urease inhibitory activity of quercetin via conjugation with silver nanoparticles: synthesis, characterization, and DFT study. Scientific Reports, 15, 11892.
- Ashraf, M.U., Muhammad, G., Hussain, M.A. & Bukhari, S.N.A. (2016). Cydonia oblonga M., A Medicinal Plant Rich in Phytonutrients for Pharmaceuticals. Frontiers in Pharmacology, 7, 163.
- Biglar, M., Salehabadi, H., Jabbari, S., Dabirmanesh, B., Khajeh, K. and Mojab, F. (2021). Screening and identification of herbal urease inhibitors using surface plasmon resonance biosensor. Research Journal of Pharmacognosy, 8, 51-62.
- Biglar, M., Soltani, K., Nabati, F., Bazl, R., Mojab, F. and Amanlou, M. (2012). A preliminary investigation of the jack-bean urease inhibition by randomly selected traditionally used herbal medicine. Iranian journal of pharmaceutical research:

1076.

- Djidel, S., Amel, B., Nihed, B., Assia ,B., Saliha, D. and Khennouf, S. (2025). Phytochemical analysis, antioxidant, antihemolytic and anti-inflammatory properties of ethanolic extract of Cydonia oblonga Mill. fruit. Natural Product Research, 1-9.
- Gulcin, İ. & Alwasel, S.H. (2023). DPPH Radical Scavenging Assay. Processes, 11, 2248.
- Kafarski, P. & Talma, M. (2018). Recent advances in design of new urease inhibitors: A review. Journal of advanced research, 13, 101-112.
- Lemos, F.F.B., Silva Luz, M., Rocha Pinheiro, S.L., Teixeira, K.N. &Freire de Melo, F. (2023). Role of non-Helicobacter pylori gastric Helicobacters in helicobacter pylori-negative gastric mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma. World journal of gastroenterology, 29, 4851-4859.
- Mamidala, R., Bhimathati, S.R.S. & Vema, A. (2021). Discovery of Novel Dihydropyrimidine and hydroxamic acid hybrids as potent Helicobacter pylori Urease inhibitors. Bioorganic chemistry, 114, 105010.

IJPR, 11, 831-837.

- Carvalho, A.M., Silva, B.M., Silva, R., Valentao, P., Andrade, P.B. & Bastos, M.L. (2010). First Report on Cydonia oblonga Miller Anticancer Potential: Differential Antiproliferative Effect against Human Kidney and Colon Cancer Cells. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 58, 3366-3370.
- Chen, Y.-C., Malfertheiner, P., Yu, H.-T., Kuo, C.-L., Chang, Y.-Y., Meng, F.-T., Wu, Y.-X., Hsiao, J.-L., Chen, M.-J. & Lin, K.-P. (2024). Global Prevalence of Helicobacter pylori Infection and Incidence of Gastric Cancer. Gastroenterology, 164, 539-552.
- Ćujić, N., Šavikin, K., Janković, T., Pljevljakušić, D., Zdunić, G. and Ibrić, S. (2016). Optimization of polyphenols extraction from dried chokeberry using maceration as traditional technique. Food chemistry, 194, 135-142.
- De Bellis, R., Gorassini, A., Benayada, L., Chiarantini, L., Albertini, M.C. and Potenza, L. (2023). Cydonia oblonga Mill. Pulp Callus Inhibits Oxidative Stress and Inflammation in Injured Cells. Antioxidants (Basel), 12,

Extracts of Cydonia oblonga Miller (Quince) Fruits on Gastric Ulcer Induced by Indomethacin in Rats. International Journal of Preventive Medicine, 8, 58-64.

- Rajurkar, N.S. and Hande, S.M. (2011). Estimation of phytochemical content and antioxidant activity of some selected traditional Indian medicinal plants. Indian journal of pharmaceutical sciences, 73, 146-151.
- Reyes, V.E. (2023). Helicobacter pylori and Its Role in Gastric Cancer. Microorganisms, 11, 1312.
- Sharaf, M., Arif, M., Hamouda, H.I., Khan, S., Abdalla, M., Shabana, S., Rozan, H.E., Khan, T.U., Chi, Z. & Liu, C. (2022). Preparation, urease inhibition mechanisms, and anti-Helicobacter pylori activities of hesperetin-7-rhamnoglucoside. Current Research in Microbial Sciences, 3, 100103.
- Sharndama, H.C. & Mba, I.E. (2022). Helicobacter pylori: an up-to-date overview on the virulence and pathogenesis mechanisms. Brazilian journal of microbiology, 53, 33-50.
- Song, W.-Q., Liu, M.-L., Li, S.-Y. & Xiao, Z.-P. (2022). Recent Efforts in the Discovery of Urease Inhibitor
- Nabati, F., Mojab, F., Habibi-Rezaei, M., Bagherzadeh, K., Amanlou, M. & Yousefi, B. (2012). Large scale screening of commonly used Iranian traditional medicinal plants against urease activity. DARU Journal of Pharmaceutical Sciences, 20, 1-9.
- Newman, D.J. & Cragg, G.M. (2020). Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades from 01/1981 to 09/2019. Journal of Natural Products, 83, 770-803.
- Ňorbová, M., Vollmannová, A., Fedorková, S., Musilová, J. &Lidiková, J. (2024). The forgotten fruit (Cydonia oblonga Mill.) and its chemical composition: a review. European Food Research and Technology, 250, 2093-2102.
- Panigrahi, M.K., Chouhan, M.I., Hallur, V.K., Makashir, M.S., Kumar, C., Sethi, S., Nayak, H.K., Padhy, B.M. & Samal, S.C. (2023). Comparison of the efficacies of triple, quadruple and sequential antibiotic therapy in eradicating Helicobacter pylori infection: A randomized controlled trial. Indian journal of gastroenterology, 42, 517-524.
- Parvan, M., Sajjadi, S.-E. & Minaiyan, M. (2017). Protective Effect of Two

Identifications. Current Topics in Medicinal Chemistry, 22, 95-107.

- Šudomová, M. & Hassan, S.T. (2022). Gossypol from Gossypium spp. inhibits Helicobacter pylori clinical strains and urease enzyme activity: Bioactivity and safety assessments. Scientia Pharmaceutica, 90, 29-40.
- Suriyaprom, S., Mosoni, P., Leroy, S., Kaewkod, T., Desvaux, M. &Tragoolpua, Y. (2022). Antioxidants of Fruit Extracts as Antimicrobial Agents against Pathogenic Bacteria. Antioxidants, 11, 602.
- Sut, S., Dall'Acqua, S., Poloniato, G., Maggi, F. &Malagoli, M. (2019). Preliminary evaluation of quince (Cydonia oblonga Mill.) fruit as extraction source of antioxidant phytoconstituents for nutraceutical and functional food applications. Journal of the science of food and agriculture, 99, 1046-1054.
- Tahseen Ghous, T.G., Kalsoom Akhtar, K.A., Faiz-ul-Hassan Nasim, F.-u.-H.N. & Choudhry, M. (2010). Screening of selected medicinal plants for urease inhibitory activity. Biology and Medicine, 2, 64-69.
- Valenzuela-Hormazabal, P., Sepúlveda, R.V ,.Alegría-Arcos, M., Valdés-Muñoz, E., Rojas-Pérez, V., González-Bonet, I., Suardíaz, R., Galarza, C., Morales, N., Leddermann, V., Castro, R.I., Benso, B., Urra, G., Hernández-Rodríguez, E.W. &Bustos, D., (2024). Unveiling Novel Urease Inhibitors for Helicobacter pylori: A Multi-Methodological Approach from Virtual Screening and ADME to Molecular Dynamics Simulations. International Journal of Molecular Sciences, 25, 1968-1985.