مقاله پژوهشی

بررسی تأثیر ترکیبات فنلی بر فعالیت ضدباکتریایی عصاره گیاهان دارویی: ارزیابی *in vitro* گیاهان دارویی شهرستان فسا- فارس

الهه احمدی [۲،۱]، عباس عبداللهی [۲،۱*]، سهراب نجفی پور [۲،۱]، محمدحسن مشکی باف [۳،۱]، مهدی فصیحی رامندی [۴]، نجمه نامدار [۲،۱]، سارا عبداللهی خیر آبادی [۲،۱]، سید محمد موسوی [۱]، بابک سمیع زاده [۱]، قادر الهوردی [۳]

۱- آزمایشگاه گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی فسا، فسا، ایران
۲- گروه میکروب‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی فسا، فسا، ایران
۳- گروه بیوشیمی، دانشگاه علوم پزشکی فسا، فسا، ایران
۴- مرکز تحقیقات بیولوژی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله (عج)، تهران، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۴/۱۱/۰۹ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۵/۰۲/۰۵

چکیده

زمینه و هدف: به دلیل افزایش مقاومت دارویی باکتری‌ها، یافتن مواد ضدمیکروبی جدید حائز اهمیت است. هدف از این مطالعه بررسی تأثیر ترکیبات فنلی بر فعالیت ضدباکتریایی گیاهان دارویی در یک تحقیق آزمایشگاهی است.

مواد و روش‌ها: فعالیت ضدباکتریایی عصاره هیدروالکلی ۲۶ گیاه دارویی به روش انتشار از دیسک، چاهک‌گذاری و تعیین حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد، در مقایسه با ۱۳ آنتی‌بیوتیک استاندارد، علیه سویه‌های استاندارد *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیاکلی* موردبررسی قرار گرفت. اندازه‌گیری محتوای فنلی کل عصاره‌ها به روش کالری متری سیور- دالی توسط معرف فولین سیوکالچو صورت گرفت.

نتایج: در مورد اثرات آنتی‌باکتریال علیه *استافیلوکوکوس اورئوس*، بیشترین قطر هاله عدم رشد در هر دو روش چاهک‌گذاری و انتشار از دیسک، به ترتیب، مربوط به آویشن شیرازی ۳۲ و ۲۲ میلی‌متر و در مورد اثرات آنتی باکتریال علیه *اشریشیاکلی*، مربوط به آویشن شیرازی ۲۳ و ۱۶ میلی‌متر، بودند. در مورد عصاره مرزه، دارچین، افسنطین، گزنه، زیره سیاه، زیره سبز، بومادران، بابونه، زنجبیل، مرزنجوش و اسفرزه، قطر هاله، کمتر از ۱۵ میلی‌متر بود که کمترین تأثیر علیه هر دو سویه را داشتند. مؤثرترین اثرات ضدباکتریایی در نتایج MIC مربوط به آویشن شیرازی، زنیان، رزماری و برگ‌بو (۷/۸ میکروگرم در میلی‌لیتر) بود؛ محتوای فنلی برای نمونه‌ها بین ۱/۹±۶۶/۵۱ تا ۵/۱±۲۳۳/۱۵ میلی‌گرم در گرم عصاره بود؛ بیشترین میزان در آویشن شیرازی با میزان ۲/۳±۲۲۳/۵۵ و کم‌ترین در اسفرزه با میزان ۱/۹±۶۶/۵۱ میلی‌گرم در هر گرم عصاره به دست آمد.

نتیجه‌گیری: فعالیت ضدمیکروبی عصاره و انطباق آن با مقدار ترکیبات فنلی عصاره گیاهان، حاکی از تأثیرات ضدباکتریایی ترکیبات فنلی گیاهان دارویی می‌باشد.

کلمات کلیدی: گیاهان دارویی، مقاومت دارویی، اثرات آنتی باکتریال، ترکیبات فنلی

مقدمه

گیاهان دارویی و داروهایی که از آن‌ها تهیه می‌شوند، به دلیل خواص درمانی گسترده‌ای که دارند، در طول تاریخ بشری، هرگز به‌طور کامل کنار گذاشته نشده‌اند؛ هرچند با گسترش شاخه‌های مختلف علوم مانند فیتوشیمی و فارماکولوژی استفاده از مواد شیمیایی در تولید داروهای ضدباکتریایی، توجه محققین را به خود معطوف کرد، اما به دلیل استفاده بی‌رویه و نادرست، دانشمندان مجدداً مجبور به استفاده از ترکیبات گیاهی در درمان بیماری‌های عفونی شدند (۳-۱). پژوهش‌های انجام‌شده نشان داده‌اند که برخی از گیاهان دارویی که در پزشکی سنتی - مورداستفاده قرار می‌گیرند اثرات ضدباکتری مؤثری دارند (۴). گیاهان دارویی مخازن غنی از مواد مؤثره اولیه بسیاری از داروها می‌باشند که عمدتاً متابولیت‌های ثانویه گیاه محسوب می‌شوند (۵). دسته بزرگی از متابولیت‌های ثانویه کاربرد دارویی و پزشکی دارند (۶-۷). از بین تمام مواد شناسایی‌شده موجود در ترکیبات مؤثر اندام گیاهان، ترکیبات فنولی یا ترکیبات ثانویه‌ی بدون نیتروژن، بیشترین و مهم‌ترین موادی هستند که دارای آثار

* **نویسنده مسئول: عباس عبداللهی**، آزمایشگاه گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی فسا، فسا، ایران
Email: a.abdollahi@fums.ac.ir

[Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2024-04-28]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2016.6.2.3.7]

گوناگون بیولوژیک ازجمله فعالیت ضدباکتریایی مؤثر هستند (۸).

استفاده مداوم از داروهای شیمیایی، باعث ایجاد میکروب-های بسیار مقاوم شده که داروهای شیمیایی بر روی آن‌ها بی-تأثیر بوده و یا اثر کمی داشته‌اند و درنتیجه بیماران باید به آنتی-بیوتیک‌ها و داروهای شیمیایی قوی‌تری که هر روز با نام‌های جدید وارد بازار می‌شوند، روی آورند (۹-۱۴)؛ این در حالی است که بسیاری از گیاهان دارویی ضمن این که اثرات مثبت فراوانی دارند، مضرات و عوارض کمی در مقایسه با داروهای صناعی، در پی خواهند داشت (۱۵)، به همین علت در این راستا پژوهشگران زیادی به مطالعه اثرات ضد باکتریایی عصاره‌های گیاهی پرداخته‌اند (۱۶).

مطالعات انجام‌شده نشان داده است که بسیاری از گیاهان خانواده نعناع (Labiatae) مانند آویشن شیرازی، کاکوتی، اسطوخودوس، رزماری، نعناع، مرزه، بادرنجبویه، زوفا، مرزنجوش و پونه (۱۷-۲۰) و گیاهان دارویی زنیان، زیره سبز و زیره سیاه از خانواده چتریان (Apiaceae) دارای اثرات ضدمیکروبی می-باشند، عصاره این گیاهان حاوی ترکیباتی مانند فنیل پروپانوئید گلوکوزید، پلی استیلن، دی‌ترپن‌ها، فلاونوئید، پلی فنول‌ها و فلاون گلیکوزید است. این ترکیبات در فعالیت ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی دخالت دارند و از زمان‌های گذشته در طب سنتی مورداستفاده بوده‌اند (۲۱-۲۲). عصاره بومادران و بابونه از تیره کاسنی (Asteraceae)، دارای اثرات ضدباکتریایی هستند و از آن‌ها می‌توان به‌عنوان عوامل ضدمیکروبی در درمان عفونت‌ها استفاده نمود. بومادران حاوی آلکالوئید، ساپونین و ترکیبات فنولی مانند فلاونوئیدها و فنولوکربونیک است. خواص ضد-التهابی، ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی این گیاه عمدتاً به فلاونوئیدها نسبت داده می‌شود (۲۳-۲۵). تحقیقات متعدد نشان دادند که تمام اجزای بابونه به‌خصوص برگ و گل‌ها، حاوی نوعی الکل بورنئول، کامفور و انواع ترپن‌ها می‌باشد. ترکیبات ترپنی و پارتنوئیدی آن نقش مهمی در درمان میگرن و سرطان به‌عنوان یک آنتی پاتوژن در رفع عفونت‌های باکتریایی، قارچ و آفات را به عهده‌دارند (۲۶-۲۹). قسمت مورداستفاده اسپند از تیره (Zygophyllaceae)، تخم آن است که در طب سنتی به‌عنوان تعریق آور، ضد انگل، باکتری و قارچ و دفع‌کننده کرم‌های روده شناخته می‌شود (۳۰). گیاهان دارویی دارچین (۳۱-۳۲)، مورد (۳۳-۳۴)، زنجبیل (۳۵-۳۶)، برگ‌بو (۳۷)، اسفرزه (۳۸-۳۹)، شیرین بیان (۴۰-۴۱)، گزنه (۴۲-۴۳) و بوزیدان (۴۴) توسط محققین زیادی به‌عنوان منبع مناسب از ترکیبات ضدمیکروبی شناخته‌شده‌اند. اثر ضدمیکروبی عصاره گیاه آفسنطین نیز مورد آزمایش قرارگرفته است (۴۵). همچنین، روغن و مواد فعال سیاه‌دانه دارای اثرات ضدباکتریایی، ضدقارچی و ضدمیکروبی هستند (۴۶).

هدف از این مطالعه بررسی تأثیر میزان ترکیبات فنلی بر فعالیت ضدباکتریایی گزیده‌ای از گیاهان دارویی شهرستان فسا در مقایسه با آنتی بیوتیک‌های استاندارد و رایج درمانی، علیه سویه‌های استاندارد باکتریایی *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیاکلی*، بوده است. شایان‌ذکر است که اثرات ضد میکروبی این گیاهان به‌صورت تجربی در مطالعات پیشین ما و سایر محققین گزارش‌شده است که به آن‌ها اشاره می‌شود.

مواد و روش‌ها

این مطالعه تجربی در شرایط آزمایشگاهی، با تأکید بر روش های استاندارد انجام گردیده است (۱ و ۴۷). پس از جمع‌آوری گیاهان از رویشگاه طبیعی منطقه فسا در اردیبهشت‌ماه سال ۱۳۹۳، گیاهان موردمطالعه با استفاده از کتب مرجع علمی، مورد تائید و شناسایی قرار گرفتند و پس از خشک شدن در جای خنک و تاریک، توسط دستگاه آسیاب برقی خرد گردیدند. این گیاهان شامل: کاکوتی *Ziziphora clinopodiodes* L.، آویشن شیرازی *Zataria multiflora*، اسطوخودوس *Lavendula angustifoli*، اسپند *Peganum harmala*، دارچین *Cinamomum zeylanicum*، برگ‌بو *Laurus nobilis* L.، بومادران *Achillea fragrantissimia*، گزنه *Urtica dioica*، بوزیدان *Withania somnifera*، زنیان *Carum copticum* L.، زیره سیاه *Carum carvi* L.، زیره سبز *Cuminum cyminum*، مرزه *Saturina hortensis*، زنجفیل *Zingiber officinale*، نعناع *Mentha spp*، پونه *Mentha pulegium*، اسفرزه *Plantago psyllium*، شیرین بیان *Glycyrrhize glabra*، بابونه *Marticaria chamomilla*، مورد *Myrtus communis*، زوفا *Hyssopus Officinalis*، ، بادرنجبویه *Melissa officinalis*، افسنطین *Artemisia absinthium*، مرزنجوش *Origanum majorana*، سیاه دانه *Nigella sativa* L. و رزماری *Rosmarinus officinalis* L. بودند. جهت عصاره گیری، از روش

[Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2024-04-28]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2016.6.2.3.7]

ماسراسیون[1] هیدروالکلی استفاده شد. بدین منظور ۵۰ گرم از پودر خشک‌شده گیاه را به ۲۰۰ میلی‌لیتر اتانول ۷۰ درصد افزوده و به مدت ۷۲ ساعت بر روی دستگاه تکان‌دهنده[2] (IKA, Germany)، با سرعت ۹۰ دور در دقیقه قرار گرفت؛ سپس با استفاده از گاز استریل تفاله‌های موجود از عصاره حذف گردید. با استفاده از کاغذ صافی واتمن (Watmann 0.5 mm, USA) و قیف بوخنر، تحت شرایط مکش توسط پمپ خلأ، عصاره کاملاً صاف شد و مواد اضافی حذف گردیده و توسط دستگاه تقطیر در خلأ چرخان[3] (SENCO, China)، تحت‌فشار منفی در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد تغلیظ و حلال الکلی به‌طور کامل از عصاره جداشده و حجم نهایی عصاره توسط آب مقطر به ۲۵ میلی‌لیتر رسانده شد (۷، ۱۵ و ۱۶).

تعیین وزن خشک عصاره‌ها

جهت استاندارد کردن روش و تکرارپذیری آن، وزن مخصوص برای هر عصاره به‌طور جداگانه اندازه‌گیری و تعیین شد؛ ابتدا یک لوله خالی توسط ترازوی دیجیتالی حساس وزن شد (A&D, USA). سپس ۲۵ میلی‌لیتر از عصاره به لوله اضافه گردید. پس از قرار دادن ۴۸ ساعته لوله درون آون در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد عصاره کاملاً خشک‌شده، سپس لوله مجدداً توزین گردیده و با کم کردن وزن لوله خالی، وزن خشک عصاره الکلی در میلی‌لیتر به دست آمد. جهت بررسی اثرات عوامل ضد-میکروبی و استاندارد کردن روش، ۵۰۰ میلی‌گرم از ماده خشک هر عصاره در ۲۵۰۰ میکرولیتر آب مقطر استریل حاوی ۵٪ دی متیل سولفوکساید[4] حل شد و فیلتراسیون توسط فیلتر میکروبی (0.45µm, BioFil, Taiwan)، انجام گردید. عصاره حاصل، درون ظروف استریل درپوش دار تا زمان انجام آزمایش‌ها، در یخچال در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید (۷، ۱۵ و ۱۶).

بررسی اثرات ضدمیکروبی

به‌منظور ارزیابی اثرات عوامل ضدمیکروبی می‌توان از روش-های مختلف استفاده کرد، اما در همه روش‌ها اصول کار، سنجیدن اثر غلظت‌های معین از عصاره گیاه در مهار رشد یا متوقف کردن رشد باکتری‌های مورد آزمایش است. در مطالعه حاضر، بررسی اثرات ضدباکتریایی توسط سه روش چاهک گذاری[5]، انتشار از دیسک در محیط حاوی آگار[6] و تهیه رقت‌های متوالی در محیط براث[7]، بر روی سویه‌های استاندارد باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* (PTCC 1431) و باکتری گرم منفی *اشریشیاکلی* (PTCC 1399) در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد، انجام گرفت (جدول ۱). آزمایش‌ها برای هر سویه باکتریایی سه بار تکرار شد و نتایج آن به‌صورت میانگین محاسبه گردید. برای تهیه سوسپانسیون میکروبی به لوله آزمایش استریل حاوی ۵ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی استریل، یک تا چند کلونی از میکروارگانیسم اضافه‌شده و توسط مخلوط‌کن دوار[8]، هم زده می-شود. سپس جذب نوری این سوسپانسیون در طول‌موج ۶۲۰ nm توسط دستگاه اسپکتروفتومتر[9] (Eppendorf, Germany)، در مقابل بلانک سرم فیزیولوژی تنظیم می‌شود تا کدورتی معادل استاندارد ۰/۵ مک فارلند ($1/5 \times 10^8$ CFU/mL) داشته باشد (۷، ۱۵ و ۱۶).

جهت بررسی در روش انتشار در آگار، از دیسک‌های آنتی بیوگرام (پادتن طب- ایران) به‌عنوان استاندارد مقایسه‌ای استفاده گردید (جدول ۱)؛ بدین منظور، غلظت‌های ۳۰، ۴۰ و ۵۰ میکروگرم از عصاره گیاهی (مطابق با میانگین کلی غلظت‌های استاندارد آنتی‌بیوتیک)، بر روی دیسک‌های بلانک تزریق شدند؛ سپس دیسک‌ها به مدت ۲ ساعت در زیر اشعه ماورای بنفش قرار گرفتند تا استریل شوند. سپس با پنس استریل دیسک‌های کاغذی حاوی غلظت‌های مختلف عصاره را با فاصله معین از یکدیگر (۲/۴ سانتی‌متر) و از لبه پلیت (۱/۵ سانتی‌متر) روی محیط کشت مولر هینتون آگار[10] (Merck, Germany)، قرار داده و پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون پلیت‌ها که به‌طور وارونه در گرمخانه ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داشتند (Memmert, Germany)، قطر هاله‌های عدم رشد به طور دقیق اندازه‌گیری شدند (۷، ۱۵ و ۱۶).

در روش چاهک‌گذاری، ابتدا به‌وسیله انتهای پیپت پاستور چاهک‌هایی در محیط مولر هینتون آگار، تعبیه گردید و به میزان ۳۰، ۴۰ و ۵۰ میکروگرم از عصاره گیاهان موردبررسی، در آن‌ها ریخته شد؛ با حفظ شرایط استاندارد در انجام تست‌های حساسیتی، از سوسپانسیون استاندارد ۰/۵ مک فارلند هر سویه به‌طور جداگانه به روش کشت چمنی بر روی محیط، کشت داده شد. درنهایت پلیت‌های تلقیح شده به‌طور وارونه در انکوباتور در

1. Maceration
2. Shaker device
3. Rotary Evaporator
4. Dimethyl sulfoxide (DMSO)
5. Well Established
6. Disc Diffusion Method
7. Broth dilution prepared
8. Vortex mixer
9. Spectrophotometer
10. Muller Hinton Agar

[Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2024-04-28]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2016.6.2.3.7]

جدول ۱- طیف فعالیت آنتی باکتریال آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد علیه سویه‌های استاندارد میکروبی، بر اساس دستورالعمل CLSI

Antimicrobial agent	Disc Content	Test organisms	Zone Diameter Nearest Whole mm		
			Resistance ≤	Inter-mediate	Sensitive ≥
Cephaloridine	30 µg	*Enterobacteriaceae* *Pseudomonas aeruginosa* *Staphylococcus spp.*	11	12-14	15
Amoxycillin	10 µg	All organisms	13	14	15
Tetracycline	30 µg	*Enterobacteriaceae* *Pseudomonas aeruginosa* *Staphylococcus spp.*	11	12-14	15
Tobramycin	10 µg	*Enterobacteriaceae* *Pseudomonas aeruginosa* *Staphylococcus spp.*	12	13-14	15
Ceftazidime	30 µg	*Enterobacteriaceae* *Pseudomonas aeruginosa* *Staphylococcus spp.*	14	15-17	18
Gentamicin	10 µg	*Enterobacteriaceae* *Pseudomonas aeruginosa* *Staphylococcus spp.*	12	13-14	15
Furazolidone	100 µg	All organisms	14	15-16	17
Co-Trimoxazole	25 µg	*Enterobacteriaceae* *Pseudomonas aeruginosa* *Staphylococcus spp.*	10	11-15	16
Cloxacillin	5 µg	All organisms	11	12-13	14
Ampicillin	20 µg	*Enterobacteriaceae* *Pseudomonas aeruginosa* *Staphylococcus spp*	11	12-14	15
Teicoplanin	30 µg	*Enterobacteriaceae* *Pseudomonas aeruginosa* *Staphylococcus spp*	11	11-13	14
Streptomycin	30 µg	*Enterobacteriaceae* *Pseudomonas aeruginosa* *Staphylococcus spp*	11	12-14	15
Doxycycline	30 µg	*Enterobacteriaceae* *Pseudomonas aeruginosa* *Staphylococcus spp*	12	13-14	15

دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده و بعد از ۲۴ ساعت قطر هاله‌های عدم رشد ایجادشده در اطراف چاهک‌ها با خط‌کش اندازه‌گیری شدند. برای مشخص کردن اثرات و تغییرات اسمتیک در محیط کشت بر روی باکتری‌ها، از پودر پلی‌اتیلن گلیکول، استفاده‌شده است. این ماده به‌عنوان کنترلی جهت بررسی تغییرات اسمتیک در آزمایش‌ها، به کار می‌رود (۷، ۱۵ و ۱۶).

در روش رقیق‌سازی برای هر غلظت و هر باکتری یک سری لوله آزمایش ۹ تایی استفاده گردید؛ ۷ لوله برای رقت‌های مختلف، یک لوله کنترل مثبت (لوله شماره ۸، شامل محیط کشت حاوی باکتری، بدون عصاره) و یک لوله کنترل منفی (لوله شماره ۹، محیط کشت حاوی عصاره، بدون باکتری) بود. به لوله-های آزمایش، ۱ میلی‌لیتر محلول مولر هینتون براث اضافه‌شده و استریل گردید. سپس از غلظت عصاره (۱۰۰۰ میلی‌گرم از عصاره در ۱ میلی‌لیتر آب مقطر استریل) به لوله اول اضافه و پس از هموژن شدن یک میلی‌لیتر از مایع هموژن به لوله دوم اضافه شد به همین ترتیب رقت‌های متوالی ۵۰۰، ۲۵۰، ۱۲۵، ۶۲/۵، ۳۱/۲۵، ۱۵/۶۲ و ۷/۸ میلی‌گرم از عصاره گیاهی در هفت لوله تهیه گردید؛ مشابه با روش انتشار از دیسک و طبق استاندارد CLSI 2013 (با روش کدورت سنجی استاندارد نیم مک فارلند)، از سوسپانسیون باکتری به رقت‌های تهیه‌شده افزوده گردید. محیط‌های حاوی باکتری و عصاره گیاهی به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از آن لوله‌ها از نظر کدورت ناشی از رشد باکتری بررسی شدند، آخرین لوله‌ای که هیچ کدورتی دیده نشد به‌عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی رشد (MIC, Minimum Inhibitory Concentration) تعیین گردید (۷، ۱۵ و ۱۶).

تعیین مقدار ترکیبات فنولی تام عصاره‌ی گیاهان

جهت تعیین میزان ترکیبات فنولی تام عصاره گیاهان از تکنیک استخراج و اندازه‌گیری ترکیبات فنلی به‌صورت تام، به

[Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2024-04-28]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2016.6.2.3.7]

روش رنگ سنجی و با استفاده از معرف فولین سیوکالتو (Folin-Ciocalteu) استفاده گردید که یکی از متداول‌ترین روش‌های اندازه‌گیری ترکیبات فنولی به روش Seevers and Daly است. در این سنجش از گالیک اسید به‌عنوان استاندارد استفاده گردید و منحنی استاندارد آن رسم شد. سپس با استفاده از معادله خط حاصل، محتوای فنل کل عصاره‌ها تعیین گردید (۴۸).

نتایج

نتایج فعالیت آنتی باکتریال عصاره‌ی هیدروالکلی گیاهان موردمطالعه در جدول ۲ نشان داده‌شده است؛ مقایسه مربوط به ۲۶ گیاه دارویی به‌صورت جداگانه برای هر یک از سویه‌های باکتریایی انجام‌شده است. با توجه به نتایج، قطر هاله عدم رشد باکتری *استافیلوکوس اورئوس*، با افزایش غلظت عصاره‌ها افزایش می‌یابد به‌طوری‌که بیشترین قطر هاله در هر دو روش چاهک گذاری و انتشار از دیسک مربوط به گیاه آویشن شیرازی به ترتیب ۳۲ و ۲۲ میلی‌متر است. کمترین قطر هاله مربوط به عصاره گیاه اسفرزه در روش چاهک گذاری (صفر) و در روش انتشار از دیسک مربوط به عصاره گیاهان مرزنجوش و اسفرزه (صفر) گزارش‌شده است. هم‌چنین در بالاترین غلظت عصاره، مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری بین اثر ضدمیکروبی عصاره گیاه آویشن شیرازی نسبت با سایر گیاهان وجود دارد؛ این تفاوت بین نتایج دو روش نیز معنی‌دار می‌باشد ($p<۰/۰۵$). با توجه به نتایج عملکرد خاصیت آنتی باکتریال عصاره گیاهان بر باکتری *اشریشیاکلی* نیز می‌توان این گونه بیان کرد که عصاره گیاهان آویشن شیرازی در هر دو روش چاهک گذاری و انتشار از دیسک، نسبت با سایر گیاهان دارای تفاوت معنی‌دار است. بیشترین قطر هاله عدم رشد در هر دو روش چاهک گذاری و انتشار از دیسک در گیاه آویشن شیرازی ۲۳ و ۱۶ میلی‌متر می‌باشد. در عصاره مرزه، دارچین، افسنطین، گزنه، زیره سیاه، زیره سبز، بومادران، بابونه، زنجفیل، مرزنجوش و اسفرزه قطر هاله عدم رشد، کمتر از ۱۵ گزارش شد و کمترین تأثیر علیه هر دو سویه باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیاکلی* داشته‌اند.

نتایج MIC نیز بر اساس حداقل غلظت ممانعت از رشد دلالت بر مؤثرترین اثرات ضدباکتریایی گیاهان آویشن شیرازی، زنیان، رزماری و برگ بو، علیه باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* (۷/۸ میکروگرم در میلی‌لیتر) و تنها آویشن شیرازی و برگ‌بو علیه باکتری *اشریشیاکلی* (۱۵/۶۲ میکروگرم) بوده است؛ مقایسه دقیق این نتایج در جدول ۳ قیدشده است.اطلاعات حاصل از مطالعات فیتوشیمیایی در جدول ۴ آورده شده است. مطابق این جدول، مقادیر به‌دست آمده برای فنل تام در هر گرم عصاره خشک بین ۱/۹±۶۶/۵۱ تا ۲/۳±۲۲۳/۵۵ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم نمونه متغیر بود.

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج کلی حاصل از این تحقیق در بین ۲۶ گیاه دارویی، بیانگر خاصیت آنتی باکتریال عصاره‌ی هیدروالکلی آویشن شیرازی، بادرنجبویه، کاکوتی، رزماری، برگ‌بو، مورد، زنیان، نعناع، اسطوخودوس، سیاه دانه و بوزیدان بر باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی است (با در نظر گرفتن قطر هاله عدم رشد باکتری بالاتر از ۱۵ میلی‌متر). البته آویشن شیرازی در بین تمام این گیاهان اثرات ضدباکتریایی بسیار خوبی در همه مقادیر عصاره داشت؛ میانگین قطر هاله عدم رشد آن در مقایسه با میانگین قطر هاله عدم رشد سویه‌های مختلف در برابر آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد که به‌عنوان کنترل در نظر گرفته‌شده بودند، بیشتر بود که اختلاف معنی‌داری را با سایر گیاهان موردتحقیق و آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد داشت ($p<۰/۰۵$). همچنین نتایج نشان می‌دهد که فعالیت آنتی باکتریال نمونه‌ها رابطه مستقیم با مقدار ترکیبات فنلی کل دارد؛ در واقع نتایج فعالیت ضدمیکروبی عصاره گیاهان کاملاً منطبق با مقدار ترکیبات فنلی عصاره گیاهان بوده است که به روش فولین سیوکالتیو استخراج گردیده است. در مقایسه با استاندارد آنتی-بیوتیکی، در مورد اثرات آنتی‌باکتریال علیه *استافیلوکوس اورئوس*، بیشترین قطر هاله در هر دو روش چاهک‌گذاری و انتشار از دیسک به ترتیب مربوط به گیاه آویشن شیرازی ۳۲ و ۲۲ میلی‌متر و در مورد اثرات آنتی باکتریال علیه *اشریشیاکلی*، مربوط به گیاه آویشن شیرازی ۲۳ و ۱۶ میلی‌متر است. در عصاره مرزه، دارچین، افسنطین، گزنه، زیره سیاه، زیره سبز، بومادران، بابونه، زنجفیل، مرزنجوش و اسفرزه قطر هاله عدم رشد، کمتر از ۱۵ گزارش شد و کمترین تأثیر علیه هر دو سویه باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیاکلی* را داشتند. مؤثرترین اثرات ضدباکتریایی در نتایج MIC مربوط به گیاهان آویشن شیرازی، زنیان، رزماری و برگ‌بو، علیه باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* (۷/۸ میکروگرم) و آویشن شیرازی و برگ‌بو علیه *اشریشیاکلی* (۱۵/۶۲ میکروگرم) بوده است.

[Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2024-04-28]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2016.6.2.3.7]

جدول ۲- مقایسه اثر تیمارها بر قطر هاله عدم رشد دو سویه باکتری در روش انتشار از دیسک و چاهک گذاری

			قطر هاله/ اشرشیاکلی		قطر هاله/ استافیلوکوکوس اورئوس	
گیاه	اندام موردمطالعه	تیره	دیسک	چاهک	دیسک	چاهک
آویشن شیرازی	سرشاخه‌ها و برگ خشک‌شده	Labiatae	۱۶^{i}	۲۳^{g}	۲۲^{i}	۳۲^{ij}
بادرنجبویه	سرشاخه‌ها و برگ	Labiatae	۱۴^{fg}	۱۷^{e}	۲۳^{ij}	۳۰^{i}
کاکوتی	سرشاخه‌ها و برگ خشک‌شده	Labiatae	۱۰^{bc}	۱۹^{ef}	۲۰^{gh}	۳۰^{i}
رزماری	برگ	Labiatae	۹^{b}	۱۵^{d}	۲۲^{i}	۲۹^{h}
برگ بو	برگ	Lauraceae	۰^{a}	۱۶^{d}	۱۵^{cd}	۲۷^{h}
مورد	برگ	Myrtaceae	۱۵^{gh}	۱۶^{d}	۲۰^{gh}	۲۲^{g}
زنیان	میوه	Apiaceae	۱۵^{gh}	۱۵^{d}	۱۶^{e}	۲۱^{g}
بوزیدان	ریشه	Solanaceae	۰^{a}	۱۳^{d}	۱۵^{cd}	۲۱^{g}
اسطوخودوس	گل‌های خشک بدون پایه	Labiatae	۱۰^{bc}	۰^{a}	۱۵^{cd}	۲۰^{g}
سیاه دانه	بذر	Ranunculaceae	۹^{b}	۱۳^{d}	۱۵^{cd}	۲۰^{g}
نعناع	پیکره رویشی	Labiatae	۱۳^{ef}	۱۵^{d}	۱۸^{efg}	۲۰^{g}
اسپند	دانه	Zygophyllaceae	۱۴^{fg}	۱۵^{d}	۱۷^{ef}	۱۹^{g}
پونه	برگ	Labiatae	۱۲^{de}	۱۱^{c}	۱۵^{cd}	۱۷^{ef}
شیرین بیان	ریشه	Fabaceae	۹^{b}	۱۰^{bc}	۱۳^{bc}	۱۷^{ef}
زوفا	گل و قسمت‌های هوایی	Labiatae	۰^{a}	۰^{a}	۱۲^{bc}	۱۷^{ef}
مرزه	برگ	Labiatae	۱۱^{cd}	۱۱^{c}	۱۳^{bc}	۱۵^{ef}
دارچین	پوست درختچه	Lauraceae	۱۰^{bc}	۹^{b}	۱۳^{bc}	۱۴^{e}
افسنطین	گل و قسمت‌های هوایی	Asteraceae	۰^{a}	۰^{a}	۱۱^{b}	۱۵^{ef}
گزنه	برگ‌ها، سرشاخه‌های گل‌دار	Urticaceae	۰^{a}	۰^{a}	۱۲^{bc}	۱۴^{e}
زیره سیاه	میوه	Apiaceae	۰^{a}	۰^{a}	۱۲^{bc}	۱۴^{e}
زیره سبز	میوه	Apiaceae	۰^{a}	۰^{a}	۱۰^{b}	۱۱^{bc}
بومادران	گل‌ها و پیکره رویشی	Asteraceae	۰^{a}	۰^{a}	۱۱^{b}	۱۱^{bc}
بابونه	گل‌های خشک‌شده	Asteraceae	۰^{a}	۱۱^{c}	۱۱^{b}	۱۱^{bc}
زنجفیل	ساقه متورم شده زیرزمینی	Zingiberaceae	۰^{a}	۱۰^{bc}	۱۰^{b}	۱۰^{b}
مرزنجوش	سرشاخه‌های گل‌دار	Labiatae	۰^{a}	۰^{a}	۰^{a}	۱۲^{bcd}
اسفرزه	بذر و برگ‌ها	Plantaginaceae	۰^{a}	۱۰^{bc}	۰^{a}	۰^{a}

میانگین‌هایی که در هر ستون، دارای یک حرف مشترک لاتین هستند، در سطح ۱٪ آزمون دانکن اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.

[Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2024-04-28]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2016.6.2.3.7]

جدول ۳- نتایج MIC عصاره گیاهان برحسب میکروگرم در میلی‌لیتر

	رزماری	اسطوخودوس	بومادران	برگ بو	بوزیدان	مرزه	گزنه
استافیلوکوکوس اورئوس	۷/۸[a]	۳۱/۲۵[c]	۵۰۰[j]	۷/۸[a]	۱۵/۶۲[b]	۶۲/۵[d]	۱۲۵[e]
اشریشیاکلی	۳۱/۲۵[c]	۱۲۵[e]	۵۰۰[j]	۱۵/۶۲[b]	۳۱/۲۵[c]	۲۵۰[f]	۲۵۰[f]
	زنیان	آویشن شیرازی	زیره سیاه	بابونه	پونه	مورد	زنجفیل
استافیلوکوکوس اورئوس	۷/۸[a]	۷/۸[a]	۲۵۰[f]	۵۰۰[j]	۶۲/۵[d]	۱۵/۶۲[b]	۵۰۰[j]
اشریشیاکلی	۳۱/۲۵[c]	۱۵/۶۲[b]	۲۵۰[f]	۵۰۰[j]	۱۲۵[e]	۳۱/۲۵[c]	۵۰۰[j]
	اسپند	کاکوتی	زیره سبز	اسفرزه	دارچین	نعناع	شیرین بیان
استافیلوکوکوس اورئوس	۳۱/۲۵[c]	۱۵/۶۲[b]	۵۰۰[j]	۵۰۰[j]	۶۲/۵[d]	۳۱/۲۵[c]	۶۲/۵[d]
اشریشیاکلی	۶۲/۵[d]	۳۱/۲۵[c]	۵۰۰[j]	۵۰۰[j]	۲۵۰[f]	۶۲/۵[d]	۱۲۵[e]
	سیاه دانه	افسنطین	بادرنجبویه	زوفا	مرزنجوش		
استافیلوکوکوس اورئوس	۳۱/۲۵[c]	۶۲/۵[d]	۱۵/۶۲[b]	۶۲/۵[d]	۵۰۰[j]		
اشریشیاکلی	۶۲/۵[d]	۲۵۰[f]	۳۱/۲۵[c]	۶۲/۵[d]	۵۰۰[j]		

میانگین‌هایی که در هر ستون، دارای یک حرف مشترک لاتین هستند، در سطح ۱٪ آزمون دانکن اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.

محتوای فنلی برای نمونه‌ها بین ۱/۹±۶۶/۵۱ تا ۵/۱±۲۳۳/۱۵ میلی‌گرم در گرم عصاره بود. بیشترین مقدار ترکیبات فنلی در گیاه آویشن‌شیرازی با ۲/۳±۲۲۳/۵۵ و در بادرنجبویه با ۹/۴±۲۰۹/۶۷ میلی‌گرم در هر گرم عصاره و کم‌ترین آن در گیاه مرزنجوش با ۲/۱±۷۹/۰۶ و اسفرزه با ۱/۹±۶۶/۵۱ میلی‌گرم در هر گرم عصاره به دست آمد.

با توجه به نتایج حاصل و تحقیقات گذشته، می‌توان اذعان داشت که ترکیبات فنلی عامل مهمی جهت فعالیت آنتی باکتریال عصاره‌های استخراج‌شده گیاهان دارویی هستند؛ همچنین، ترکیبات فنلی که به‌صورت گسترده در قسمت‌های مختلف گیاهان نظیر ریشه، برگ، جوانه‌ها، نهال و پوست گیاهان یافت می‌شوند (۴۹) و قدرت آنتی باکتریال بالایی دارند بیشتر از طریق عصاره‌های گیاهی در مقایسه با اسانس آن‌ها قابل استخراج می‌باشند (۵۰). شایان‌ذکر است علی‌رغم این که بادرنجبویه اثر محتوای فنلی بالایی داشت اما بر روی نمونه‌های استاندارد باکتریایی موردمطالعه در این تحقیق اثر ضدباکتریایی نداشت که جای بررسی دقیق و بیشتری دارد. مکانیسم‌هایی که به‌واسطه آن ترکیبات فنلی برای میکروارگانیسم‌ها سمیت ایجاد می‌کنند شامل جذب سطحی و شکستن غشای سلول، تداخل در عمل غشاء سیتوپلاسمی و پروتئین‌های غشایی، واکنش با آنزیم‌ها و کاهش یون‌های فلزی موردنیاز باکتری‌ها و درنتیجه مرگ سلول باکتری توسط ترکیبات فنلی است (۵۱).

در این مطالعه نیز درمجموع، گیاهانی که ترکیبات فنلی آن‌ها بالاتر بوده‌اند دارای فعالیت آنتی باکتریال بیشتری بوده‌اند.

جدول ۴- میزان ترکیبات فنلی تام عصاره گیاهان

نتایج برحسب میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم نمونه						
اسطوخودوس	آویشن شیرازی	برگ بو	بوزیدان	زیره سیاه	کاکوتی	زنیان
۱۲۱/۳±۴۱/۵	۲۲۳/۲±۵۵/۳	۱۶۱/۱±۴۵/۲	۱۲۴/۲±۶۵/۵	۹۲/۴±۲۱/۲	۱۹۳/۳±۱۸/۵	۱۲۲/۸±۸۵/۷
مورد	شیرین بیان	نعناع	پونه	اسپند	بابونه	مرزه
۱۲۵/۲±۲۵/۹	۱۱۵/۶±۵۵/۹	۱۲۲/۱±۴۷/۳	۱۱۵/۸±۰۹/۸	۱۲۰/۲±۸۵/۹	۸۴/۸±۶۵/۲	۱۰۶/۸±۰۹/۸
زیره سبز	زنجفیل	بومادران	اسفرزه	رزماری	دارچین	گزنه
۸۸/۷±۵۷/۶	۸۰/۱±۲۴/۵	۸۵/۴±۲۹/۳	۶۶/۱±۵۱/۹	۱۸۲/۶±۸۷/۵	۱۰۴/۱±۵۵/۹	۹۶/۸±۸۵/۶
سیاه دانه	زوفا	افسنطین	بادرنجبویه	مرزنجوش		
۱۲۰/۴±۰۲/۷	۱۱۳/۳±۱۵/۱	۱۰۷/۶±۲۵/۲	۲۰۹/۹±۶۷/۴	۷۹/۲±۰۶/۱		

[Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2024-04-28]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2016.6.2.3.7]

نتایج سایر مطالعات نیز نشان داده‌اند که گیاهانی که ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی بالاتری دارند فعالیت آنتی باکتریال بالاتری را نشان می‌دهند. در مطالعه‌ای بر روی عصاره‌ی چند گیاه دارویی، میزان فلاونوئید و فنل عصاره‌های گیاهی موردبررسی قرارگرفته است. در این مطالعه نشان داده‌اند که ارتباط معناداری بین فعالیت آنتی باکتریال و ترکیبات پلی فنلی گیاهان موردمطالعه وجود داشته است (۷). البته در برخی از موارد نتایج نشان می‌دهد که علی‌رغم بالا یا پایین‌تر بودن ترکیبات فنلی، خواص آنتی باکتریال متناسب با این ترکیبات نیست که نشان‌دهنده عوامل تأثیرگذار دیگر است که در این گیاهان وجود دارد و طی واکنش‌هایی بر روی خواص آنتی باکتریال تأثیر می‌گذارد. در راستای توجیه این مسئله عوامل بی‌شماری را می‌توان عنوان نمود؛ شرایط اقلیمی ازجمله آب، هوا، خاک و ارتفاع، از عوامل تأثیرگذار بر روی رشد گیاه است، همچنین تغییر در میزان ترکیبات شیمیایی آن‌ها و سایر عوامل محیطی نیز منجر به تغییر در میزان و تنوع مواد مؤثره گیاهان دارویی می‌گردد (۵۲). همچنین، اختلاف در گونه‌های مختلف گیاه بیانگر تفاوت‌های اشاره‌شده است. از عوامل بسیار مهم دیگر می‌توان به روش‌های خشک‌کردن، استخراج و تهیه عصاره و نوع حلال مورداستفاده (آبی، اتانولی و متانولی)، نوع محیط کشت و مواد موجود در آن و غلظت عصاره اشاره نمود (۵۴- ۵۳). روش‌های متنوع اندازه‌گیری ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی یکی دیگر از عوامل توجیه‌کننده اختلاف در نتایج مطالعات می‌باشد (۵۵). بر همین اساس، علی‌رغم انطباق نتایج MIC بر نتایج چاهک و دیسک، برخلاف انتظار، در بیشترین دوزهای مصرفی در دو روش دیسک و چاهک، نتایج مشابه و منطبق بر هم نبودند؛ علت این امر می‌تواند ناشی از انتشار بیشتر و تسهیل شده تر عصاره‌ها به درون محیط کشت در روش چاهک نسبت به انتشار عصاره به محیط کشت در روش انتشار از دیسک و همچنین مشکل تکنیکی آغشته سازی کامل دیسک‌ها با عصاره گیاهی بوده باشد (۵۶).

با توجه به اثرات ضد باکتریایی گیاهان دارویی موردمطالعه، شناسایی و بررسی میزان ترکیبات مؤثره این گیاهان امری ضروری محسوب می‌شود. نظر به این که میزان ترکیبات موجود در گیاهان دارویی نسبت به شرایط مختلف آب و هوایی و در بخش‌های مختلف گیاه متفاوت است، لازم است طی آزمایش های متعدد میزان این ترکیبات در مناطق مختلف بررسی شود. همچنین با توجه به اثرات مؤثر آنتی باکتریال عصاره گیاهان موردمطالعه، پیشنهاد می‌شود که اسانس این گیاهان نیز موردبررسی قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان، کمال تشکر را از کارشناسان و همکاران آزمایشگاه گیاهان دارویی و آزمایشگاه میکروب‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی فسا دارند. نتایج این مطالعه حاکی از طرح تحقیقاتی مصوب معاونت تحقیقات و فن‌آوری دانشگاه علوم پزشکی فسا می‌باشد.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ گونه تعارض منافعی را اعلام نکرده اند.

References

1. Kunle OF, Egharevba HO, Ahmadu PO. Standardization of herbal medicines-A review. Int J Biodivers Conserv. 2012; 4(3):101-112.
2. Fabricant DS, Farnsworth NR. The Value of Plants Used in Traditional Medicine for Drug Discovery. Environ Health Perspect. 2001; 109(1):69-75.
3. Kinghorn AD. Pharmacognosy in the 21st century. J Pharm Pharmacol. 2001; 53(2):135–148.
4. Cowan MM. Plant products as antimicrobial agents. Clin Microbiol Rev. 1999; 12(4):564-582.
5. Savithramma N, Linga Rao M, Suhrulatha D. Screening of Medicinal Plants for Secondary Metabolites. Middle East J Sci Res. 2011; 8(3):579-584.
6. Bourgaud F, Gravot A, Milesi S, Gontier E. Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. Plant science. 2001; 161(5):839-851.
7. Zakerin AR, Ahmadi E, Fasihi Ramandi M, Abdollahi S, Molazadeh AR, Jafari S, et al. The Effects of Ecologic Condition on Antimicrobial Activity of Endemic Herbal Extracts in Fars Province. JFUMS. 2015; 5(1):111-119. [In Persian]
8. Yadegarinia D, Gachkar L, Rezaei MB, Taghizadeh M, Astaneh SA, Rasooli I. Biochemical activities of Iranian Mentha piperita L. and Myrtus Communis L. essential oils. Phytochemistry. 2006; 67(12):1249-1255.
9. Behzadian Nejad Q, Abdollahi A, Najar Peerayeh SH,

[Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2024-04-28]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2016.6.2.3.7]

Forouhesh H. Evaluation of bla-ctx-m-type gene in multi drug resistance Klebsiella pneumonia species isolated from clinical samples. RJMS. 2009; 15(60):37-45. [In Persian]
10. Jafari S, Najafipour S, Kargar M, Abdollahi A, Mardaneh J, Abdollahi S. Phenotypical Evaluation of Multi-Drug Resistant Acinetobacter Baumannii. JFUMS. 2013; 2(4):254-258. [In Persian]
11. Abdollahi A, Najafipour S, Kouhpayeh SA, Meshkibaf MH, Naghdi M. Salmonella enterica: Serotyping, Drug Resistance & Extended Spectrum of β-Lactamase (ESBLs). JFUMS. 2011; 1(1):38-44. [In Persian]
12. Abdollahi Kheirabadi S, Najafipour S, Kafilzadeh F, Abdollahi A, Jafari S. Evaluation of Drug Resistance Pattern of Escherichia coli Strains Isolated from Fasa Vali-e-Asr Hospital Patients JFUMS. 2014; 2(4):273-278. [In Persian]
13. Abdollahi A, Koohpayeh SA, Najafipoor S, Mansoori Y, Abdollahi S. Evaluation of drug Resistance and Staphylococcal cassette chromosome (SCCmec) types among methicillin-Resistant Staphylococcus aureus(MRSA) J Alborz Health. 2013; 1(1):47-52. [In Persian]
14. Abdollahi A, Mohammadi A, Fasihi M, Shayan R, Radmanesh R. Emergence of bla-CTX-M-type gene in Salmonella enterica serotypes isolated from patients stool. JIMS. 2011; 28(116):987-996. [In Persian]
15. Meshkibaf MH, Abdollahi A, Fsihi Ramandi M, Adnani Sadati SJ, Moravvej A. Antibacterial effects of hydro-alcoholic extracts of Ziziphora tenuior, Teucrium polium, Barberis corcorde and Stachys inflate. Koomesh. 2011; 11(4):240-245. [In Persian]
16. Abdollahi A, Fasihi-Ramandi M, Kouhpayeh A, Najafipour A, Meshkibaf MH, Naghdi M, et al. Antimicrobial Effect of 15 Medicinal Plant Species and their Dependency on Climatic Conditions of Growth in Different Geographical and Ecological Areas of Fars Province. ZJRMS. 2012; 14(5):34-37. [In Persian]
17. Zargari A. Medicinal Plants. 7th Edition. Tehran: Tehran University publication; 2012, p121.
18. Capecka E, Mareczek A. Antioxidant activity of fresh and dry herbs of some Lamiaceae species. Food Chem. 2005; 93(5):223-226.
19. Mehrabian S, Mollabashi Z, Majd A. Evaluation antimicrobial effects of three species of Lamiaceae (Ziziphora, sage and mint) on fifteen species of food spoilage and tract pathogenic bacteria. JMP. 1996; 23(3):1-11. [In Persian]
20. Sokmen M, Serkedjieva J, Daferera D, Gulluce M, Polissiou M, Tepe B, et al. In Vitro Antioxidant, Antimicrobial, and Antiviral Activities of the Essential oil and Various Extracts from Herbal Parts and Cullus Cultures of Origanum acutidens. J Agric food Chem. 2004; 52(11):3309-3312.
21. Fazly Bazzaz BS, Harirzadeh G. Screening of Iranian plants for antimicrobial activity. Pharm Biol. 2003; 41(2):573-583.
22. Sadraei H, Asghar G, Hekmatti AA. Antispusmodic effect of three fractions of hydroalcholic extract of Pycnocycla spinosa. J Ethnopharmacology. 2003; 86:187-190.
23. Fathi H, Lashtoo Aghaee B, Ebrahimzadeh MA. Antioxidant activity and phenolic contents of Achillea wilhelmsii. Pharm online. 2011; 2:942-949.
24. Evans WC. Trease and Evans pharmacognosy. 15th edition. UK: W.B. Saunders; 2002, P: 87.
25. Nemeth E, Bernath J. Biological activities of yarrow species (Achillea spp). Current Pharmaceutical Design. 2008; 14(29):3151- 3167.
26. Jain NK, Kulkarni SK. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of Tanacetum parthenium L. extract in mice and rats. J Ethnopharmacol. 2001; 68(1-3):251-259.
27. Nascimento G, Locatell J, Freitas C. Antibacterial activity of plant extract and phytochemical on antibiotic resistant bacteria. Braz J Microbiol. 2000; 31(2):347-351.
28. Rani M, Ozguven M, Kirici A. The effects of some Herb's essential oils on some microbes. J Med Plants. 2011; 6(20):3525-3529.
29. Saharkhiz M, Sattari M, Goodarzi GH, Omidbaigi R. Assessment of antibacterial properties of Tanacetum parthenium L. essential oil. J Med Aromatatic Plants. 2008; 24(1):47-55. [In Persian]
30. Mahmoudian M, Jalipour H, Dardashti PS. Toxicity of Peganum harmala: review and a case report. Iran J Pharmacol Ther. 2002; 1(1):1-4. [In Persian]
31. Ranasinghe L, Jayawardena B, Abeywickrama K. Fungicidal activity of essential oils of Cinnamomum zeylanicum (L.) and Syzygium aromaticum (L.) Merr et L.M. Perry against crown rot and anthracnose pathogens isolated from banana. Lett Appl Microbiol. 2002; 35(3):208-211.
32. Gurib-Fakim A. Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. Molecular Aspects of Medicine. 2006; 27(1):1-93.
33. Garg SC, Denger SL. Antifungal activity of the essential oil of Myrtus communis var. microphylla. Herba Hungarica. 1998; 27(2-3):123-124.
34. Amensour M, Bouhdid S, Fernandez-Lopez J, Abrini J. Antibacterial activity of extracts of Myrtus communis against food-borne pathogenic and spoilage bacteria. Int J Food Proper. 2010; 13(6):1215-1224.
35. Chen HC, Chang MD, Chang TJ. Antibacterial properties of some spice plants before and after heat treatment. Chinese journal of microbiology and immunology. 1985; 18(3):190-195.
36. Momeni L, Zamanzad B. Evaluation of antimicrobial effects of onion and ginger extracts on some bacteria and Candida albicans isolated infected urinary systems. JShKUMS. 2010; 11(4):81-87. [In Persian]
37. Naderi Hagibaghercandi M, Sefidkon F, Poorherave MR, Mirza M. Extraction, identification and comparison of chemical composition of the stem, leaf and flower essential oil from Laurus nobilis L. Iran J Med Aroma Plants. 2009; 25(2):15-21. [In Persian]

[Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2024-04-28]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2016.6.2.3.7]

38. UZ-Zaman R, Akhtar MS, Khan MS. In vitro antibacterial screening of Anethum graveolens *L* Fruit, Cichorium intybus L leaf. Plantago ovata L. Seed husk and Polygonum viviparum L. Root extracts against Helicobacter pylori. Int J Pharmacol. 2006; 2():674-677.
39. Anjana S, Rani V, Padmini R. Antibacterial activity of some medicinal plants used by tribals against uti causing pathogens. World Appl Sci J. 2009; 7(3):332-339.
40. Gupta V, Fatima A, Faridi U, Negi AS, Shanker K, Kumar JK. Antimicrobial potential of Glycyrrhiza glabra root. J Ethnopharmacol. 2008; 116(2):377-380.
41. Fukai T,Morumo A, kaitou K, Kanada T, Teradas Normura T. Anti-Helicobacter pylori flavonoids from licorice extract. Life sci. 2002; 71(12):1449-1463.
42. Rakhshandehroo F, Modarresi Chahardehi A, 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. Iran J Med Aroma Plants. 2009; 25(3):403-413. [In Persian]
43. Modarresi Chahardehi A, Ibrahim D, Sulaiman SF. Antioxidant activity and total phenolic content of some medicinal plants in Urticaceae family. J Appl Biol Sci. 2009; 3(2):27-31.
44. Akbarsha MA, Vijendrakumar S, Kadalmani B, Girija R, Faridha A. Curative property of Withania somnifera Dunal root in the context of carbendazim-induced histopathological changes in the liver and kidney of rat. Phytomedicine J. 2000; 7(6):499-507.
45. Dulger B, Ceylan M, Alitsaous M, Ugurlu E. Antimicrobial Activity of Artemisia absinthium L. Turk J Biol. 1999; 23(3):377-384.
46. Hanafy MS, Hatem ME. Studies on the antimicrobial activity of Nigella sativa seed (black cumin). J Ethnopharmacol. 1991; 34(2-3):275-278.
47. Abdollahi A, Ahmadi E, Zakerin AR. The importance of Standardization in evaluation of herbal antimicrobial effect methods. JFUMS. 2014; 2(4):141-142. [In Persian]
48. Seevers PM, Daly JM. Studies on wheat stem rust resistance control at sr6 locus. 1- The role of phenolic compounds. Phytopathology. 1970; 6(10):1322-1328.
49. Yadav RNS, Agarwala M. Phytochemical analysis of some medicinal plants. J Phytology. 2011; 3(12):10-14.
50. Kahkonen MP, Hopia AI, Vuorela HJ, Rauha JP, Pihlaja K, Kujala TS, et al. Antioxidant Activity of Plant Extracts Containing Phenolic Compounds. J Agric Food Chem. 1999; 47(10):3954-3962.
51. Negi PS. Review Plant extracts for the control of bacterial growth: Efficacy, stability and safety issues for food application. Int J Food Microb. 2012; 156(1):7-17.
52. Srivastava AW, Shym S. Citrus: Climate and soil. Edition 1st. Delhy, India: International Book Distributing Company; 2002, p151.
53. Mahmoodi H, Rahnama K, Arabkhani M. evaluation of antibacterial activity of essential oil and hydro extract of herbal plants on Bacteria. JMP. 2011; 9(4):34-45. [In Persian]
54. Naderi Hagibaghercandi M, Sefidkon F, Azizi A. Affect of various methods of distillation on quantity and quality of Lauris nobilis essential oil. JMP. 2012; 38(1):78-84. [In Persian]
55. Haji Mehdi Poor H, Khanavi M, Shekarchi M, Abedi Z, Pir Ali Hamedani M. Evaluation and defining of best methods to extract phenol compounds in plants. JMP. 2010; 4(32):145-152. [In Persian]
56. Khosravi A, Malecan M. Effects of lavandula stoechas extracts on staphylococcus aureus and other gram negative bacteria. JQUMS. 2004; 29(3):3-8. [In Persian]

[Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2024-04-28]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2016.6.2.3.7]

Original Article

Surveying the Effect of the Phenol Compounds on Antibacterial Activity of Herbal Extracts: In vitro Assessment of Herbal Extracts in Fasa-Fars Province

Ahmadi E[1,2] , Abdollahi A[1,2] *, Najafipour S[1,2] , Meshkibaf MH[1,3], Fasihi-Ramandi M[4], Namdar N[1,2] Abdollahi S[1], Mousavi SM[1], SamiZadeh B[1] , Allahverdi GH[3]

1- Herbal Plants Laboratory, Fasa University of Medical Sciences, Fasa, Iran
2- Department of Microbiology, Fasa University of Medical Sciences, Fasa, Iran
3- Department of Biochemistry, Fasa University of Medical Sciences, Fasa, Iran
4- Molecular Biology Research Center, Baqiyatallah University Of Medical Sciences, Fasa, Iran

Received: 19 Jan 2016 Accepted: 24 Apr 2016

Abstract

Background & Objectives: Due to increase in bacterial drug resistance, discovering new antibacterial compounds is really important. The objective of this study is to evaluate the phenol compounds effect on antibacterial activity of herbal extracts of Fasa-Fars province *in vitro*.

Materials & Methods: The antibacterial activity of 26 plants was studied by disk diffusion, well, and MIC methods in compare with 13 standard antibiotics against *S. aureus* and *E. coli* as control bacteria. Measurement of phenol compounds were performed by Seevers and Daly colorimetric methods using Folin-ciocalteu indicator.

Results: Inhibition zone of bacterial growth against *S. aureus* in well and disk methods were 32 and 22 mm in using *Zataria multiflora,* respectively .And there were 23 and 16 mm against *E. coli* in *Zataria multiflora,* respectively. Less effects and inhibition zones, less than 15mm on both strains, were seen in using *Saturina hortensis, Cinamomum zeylanicum, Artemisia absinthium, Urtica dioica, Carum carvi* L. *cyminum Cuminum, Achillea fragrantissimia, Marticaria chamomilla, Zingiber officinale, Origanum majorana,* and *Plantago psyllium.* Most effective MIC results, 7.8 µg/ml, were related to the extracts of *Zataria multiflora, Carum copticum* L. *Rosmarinus officinalis* L., and *Laurus nobilis* L. Phenol compound amounts were approximately between 66.51±1.9 and 233.15±5.1 mg/gr extract in *Zataria multiflora* and *Plantago psyllium*, respectively.

Conclusion: Results of antibacterial activity of extracts and relation with phenol compound amounts indicate the antibacterial effect of phenol compounds in herbal extracts.

Keywords: Herbal plants, Drug resistance, Antibacterial Effects, Phenol compounds

***Corresponding author: Abbas Abdollahi,** Herbal Plants Laboratory, Fasa University of Medical Sciences, Fasa, Iran
Email: a.abdollahi@fums.ac.ir.

[Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2024-04-28]

[DOR: 20.1001.1.22285105.2016.6.2.3.7]

Journal of Fasa University of Medical Sciences (2016) 6: 210-220