

## اثرات ضد باکتریایی عصاره متانولی میوه گیاه گل سفید (*Ammi majus*) بر استافیلوکوک اورئوس و اشرشیاکلی

پروین سجادی کیودی (MSc)<sup>۱</sup>، داود بخشی (PhD)<sup>۱</sup>، علی اکبر مقدم نیا (PharmD, PhD)<sup>۲\*</sup>، سیدعلی اصغر سفیدگر (PhD)<sup>۳</sup>

۱- گروه علوم باغبانی، پردیس دانشگاهی، دانشگاه گیلان  
۲- مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی بابل  
۳- گروه قارچ و انگل شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بابل

دریافت: ۹۵/۵/۲۴، اصلاح: ۹۵/۷/۶، پذیرش: ۹۵/۹/۶

### خلاصه

**سابقه و هدف:** تنوع گیاهان و گرایش استفاده از آنها در درمان موجب شده تا غربالگری عصاره ها مورد توجه قرار گیرد. گزارشات زیادی از اثرات ضد میکروبی گیاهان وجود دارد. لذا هدف از این مطالعه بررسی اثرات ضد باکتریایی عصاره متانولی میوه *Ammi majus* می باشد.

**مواد و روش ها:** این مطالعه تجربی پس از تهیه عصاره متانولی میوه گل سفید با غلظت (۲ و ۱، ۰/۵ درصد) خواص ضد باکتریایی میوه این گیاه بوسیله روش های حداقل غلظت مهارکنندگی باکتری (MIC)، حداقل غلظت کشندگی (MBC)، روش دیسک دیفیوژن (تعیین هاله عدم رشد) و چاهک بر باکتری های استافیلوکوک اورئوس و اشرشیاکلی مورد سنجش قرار گرفت.

**یافته ها:** در روش چاهک کمترین غلظت (۰/۵ درصد) قطر هاله ای برابر با  $9 \pm 0/000$  میلی متر و بالاترین غلظت (۲ درصد) قطر هاله ای برابر با  $12/3 \pm 0/57$  میلی متر ایجاد نمود ( $P < 0/001$ ). آزمون به روش فئومتری نشان داد که عصاره متانولی گیاه بر روی اشرشیاکلی در غلظت ۱-۰/۵ درصد با اختلاف میانگین  $0/04$  اثر ضد باکتری داشت ( $P < 0/001$ ). اما با افزایش غلظت (۲ درصد) اثر معکوس در جهت عدم مهارتندگی داشته است. نتایج آزمون به روش کلی کانت نشان داد که عصاره گیاه در غلظت های ۲ و ۰/۵ درصد اثر ضد باکتری بر استافیلوکوک اورئوس داشته ( $P < 0/001$ ) ولی بر روی باکتری اشرشیاکلی تنها در غلظت ۲ درصد خاصیت مهار کنندگی داشته است ( $P < 0/001$ ).

**نتیجه گیری:** نتایج تحقیق نشان داد که عصاره متانولی گیاه *Ammimajus* اثر ضد میکروبی بیشتری بر روی باکتری استافیلوکوک اورئوس نسبت به باکتری اشرشیاکلی دارد.

**واژه های کلیدی:** عصاره، گیاه گل سفید، استافیلوکوک اورئوس، اشرشیاکلی.

### مقدمه

گیاهان دارویی نه تنها اساس، بلکه در برخی موارد به عنوان تنها عامل درمان بسیاری از بیماری ها مورد استفاده قرار می گرفتند (۱-۳). آنتی بیوتیک های سنتتیک در دهه های گذشته هرچند توانسته اند نقش مهمی را در درمان بسیاری از بیماری های عفونی ایفا نمایند اما مشکلاتی که در رابطه با بروز مقاومت های میکروبی آنتی بیوتیک ها بوجود آمده سبب گرایش به مصرف بیشتر داروهای گیاهی شده است (۴-۶). وایه (گل سفید) یا *Ammimajus* گیاهی علفی، یک ساله از خانواده (Umbelliferae) Apiacea است که دارای مصارف درمانی زیادی می باشد (۷). وسعت پراکندگی آن در مصر به خصوص دلتای رود نیل، ولی در ایران در استان های کرمان، خراسان، تهران و استان لرستان می باشد (۷ و ۸). از این گیاه به عنوان یک گیاه دارویی و زینتی به ویژه در هند و مصر استفاده می شود (۹-۱۱). استافیلوکوک اورئوس باکتری گرم مثبت و فلورنرمال بینی و پوست است که می تواند سبب ایجاد عفونت های بیمارستانی به ویژه عفونت های پوست و بافت های زیرین آن در انسان شود (۱۲-۱۴). اشرشیاکلی یک باکتری گرم منفی از خانواده آنتروباکتریاسه است که عامل عفونت در مجاری ادراری می باشد و حدود ۹۰ درصد از باکتریوری در زنان را تشکیل می دهد (۱۵). Selim و همکاران طی مطالعه ای نشان دادند که کومارین های استخراج شده از گیاه

(*Ammimajus*) دارای خاصیت ضد باکتریایی، قارچی و ویروسی هستند (۸). Duke و همکاران و Joy و همکاران نیز به اثرات ضد باکتریایی، ضد انگلی و ضد قارچی این گیاه اشاره نمودند (۱۶ و ۱۷). Al-Hadhrani و همکاران نیز طی بررسی بر روی عصاره های برگ این گیاه اثر ضد میکروبی آن را نشان دادند (۱۸). امروزه با توجه به اهمیت ویژه این گیاه در درمان بسیاری از بیماری ها به ویژه بیماری های مرتبط با انواع میکروارگانیسم ها نظیر باکتری ها، متاسفانه مطالعات در این زمینه در ایران و جهان محدود است. لذا هدف از مطالعه حاضر مقایسه اثرات ضد باکتریایی عصاره متانولی میوه گیاه *Ammimajus* بر روی باکتری های استافیلوکوک و اشرشیاکلی می باشد.

### مواد و روش ها

این مطالعه تجربی بر روی میوه گیاه *Ammimajus* انجام شد. لذا جهت انجام این پژوهش گیاه وایه از رویشگاه طبیعی خود در استان لرستان شهرستان الشتر محدوده روستای علی آباد هنام) کارخانه زاگرس دارو، با کد شناسایی هرباریومی (۱۳۵۹۴) جمع آوری و توسط مرکز تحقیقات اداره کشاورزی استان

این مقاله حاصل پایان نامه پروین سجادی کیودی دانشجوی دکتری رشته علوم باغبانی گرایش گیاهان دارویی و معطر پردیس دانشگاهی گیلان می باشد.

\*مسئول مقاله: دکتر علی اکبر مقدم نیا

آدرس: بابل، دانشگاه علوم پزشکی، پژوهشکده سلامت، مرکز تحقیقات علوم اعصاب. تلفن: ۳۲۱۹۹۵۹۶-۱۱

E-mail: moghadamnia@yahoo.com

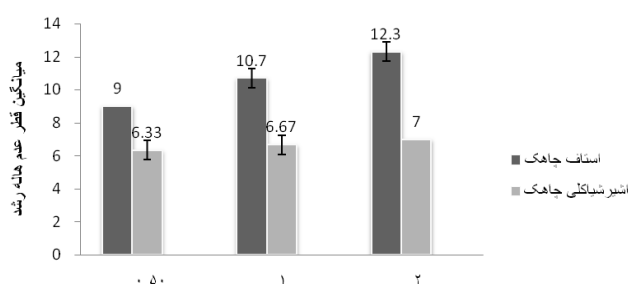
را به عنوان (MIC) و کمترین غلظتی از عصاره که میکروارگانیسم‌ها در آن رشد نکرده اند را به عنوان (MBC) گزارش گردید.

**تجزیه و تحلیل آماری:** پس از اطمینان از نرمال بودن داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS ۲۰ و روش‌های آماری Tukey ANOVA, Post-Hoc صورت گرفت و  $p < 0.05$  معنی دار در نظر گرفته شد.

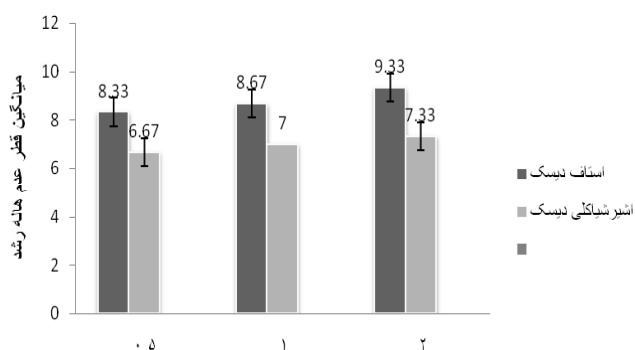
### یافته ها

نتایج به دست آمده از آزمون‌های انتشار دیسک نشان داد که غلظت‌های ۰/۵ تا ۲ درصد عصاره متانولی گیاه *Ammimajus* بر روی باکتری استافیلوکوک اورئوس اثر ضد میکروبی داشته است. کمترین غلظت (۰/۵ درصد) قطر هاله ای برابر با ۸/۳۳±۰/۵۷ میلی متر و بالاترین غلظت (۲ درصد) قطر هاله ای برابر با ۹/۳۳±۰/۵۷ میلی متر پدید آمده است هرچند که مقادیر میانگین ها اختلاف داشتند ولی این تفاوت معنی دار نبود. ولی غلظت‌های مختلف این عصاره بر روی باکتری اشیرشیاکلی هیچگونه هاله عدم رشد ایجاد نکرد (نمودار ۱).

همچنین آزمون‌ها به دست آمده از روش ایجاد چاهک بیانگر آن بود که غلظت‌های ۰/۵ تا ۲ درصد عصاره متانولی گیاه بر روی باکتری استافیلوکوک اورئوس هاله عدم رشد ایجاد نمود. ( $p < 0.001$ ) به طوریکه کمترین غلظت (۰/۵ درصد) قطر هاله ای برابر با ۹±۰/۰۰۰ میلی متر و بالاترین غلظت (۲ درصد) قطر هاله ای برابر با ۱۲/۳±۰/۵۷ میلی متر ایجاد نمود ( $p < 0.001$ ) ولی غلظت‌های مختلف این عصاره بر روی باکتری E.coli اثر ضد میکروبی نداشته است (نمودار ۲).



نمودار ۱. میانگین قطر عدم هاله رشد در غلظت‌های مختلف عصاره متانولی گیاه *Ammimajus* بر روی باکتری‌های استافیلوکوک اورئوس و اشیرشیاکلی به روش چاهک



نمودار ۲. میانگین قطر عدم هاله رشد در غلظت‌های مختلف عصاره متانولی گیاه *Ammimajus* بر روی باکتری‌های استافیلوکوک اورئوس و اشیرشیاکلی به روش دیسک

لرستان مورد شناسایی و تایید علمی قرار گرفت. جهت تهیه عصاره متانولی ابتدا ۱۰۰ گرم میوه گیاه را آسیاب، پودر نموده و برای مدت ۷۲ ساعت در ۲۰۰ سی سی حلال متانول خالص خیساندیم. بعد از گذشت ۷۲ ساعت نمونه حاصله را از روی کاغذ صافی عبور داده و حلال را در دمای مناسب و با استفاده از سیستم تبخیر در خلأ حذف نمودیم. آنگاه عصاره متانولی حاصله به با غلظت‌های ۰/۵، ۱ و ۲ درصد جهت انجام آزمایشات میکروبی تهیه شد.

**باکتری‌های مورد استفاده:** سوش‌های مورد استفاده عبارت از: باکتری گرم مثبت استافیلوکوک اورئوس (ATCC25923) و باکتری گرم منفی اشیرشیاکلی (ATCC25922) بودند که از هر کدام با استفاده از محیط مایع (Brainheartinfusionbroth=BHI) سوسپانسیون ۰/۵ مک فارلند تهیه شد (۲۰).

**روش انتشار دیسک:** با استفاده از روش انتشار دیسک (Disk diffusion method) از طریق دیسک کاغذی، حساسیت میکروارگانیسم‌ها نسبت به مواد ضد میکروبی طبق روش متداول کربی-بائر تعیین شد. ابتدا سوسپانسیون میکروبی معادل ۰/۵ مک فارلند بر اساس روش استاندارد تهیه شد. به تعداد ۳ غلظت تهیه و بر روی محیط در کنار شعله و زیر هود قرار گرفت. ۴۰ لاند از غلظت‌های یاد شده (۰/۵، ۱ و ۲ درصد) در دو مرحله و هر بار ۲۰ لاند بر روی هر دیسک گذاشته شد و از دیسک آنتی بیوتیک سفوتاکسیم به عنوان کنترل استفاده گردید (۲۱ و ۲۲).

**روش ایجاد چاهک:** در روش ایجاد چاهک در زیر هود توسط ته پیت پاستور استریل در کنار شعله و با رعایت شرایط کامل استریل به تعداد غلظت‌های مورد نظر چاهک ایجاد شد و ۴۰ لاند از غلظت‌های ۰/۵، ۱ و ۲ درصد را بر روی چاهک ریخته و برای شاهد نیز در وسط محیط داخل چاهک ایجاد شده، DMSO ریخته شد. آنگاه پلیت‌های کشت داده شده در حرارت ۳۷°C به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شده و قطر هاله‌های مهار رشد مورد سنجش قرار گرفت (۲۳).

### روش میکرودايلوشن:

**روش فتومتری:** این روش در پلیت ۹۶ خانه ای استریل انجام شد. ابتدا در دو لوله استریل از هر میکروارگانیسم یک محلول ۰/۵ مک فارلند تهیه شد (۲۴ و ۲۵). (بطوریکه در هر چاهک ۱۰۰ لاند میکروارگانیسم مورد نظر با غلظت ۰/۵ مک فارلند و سپس ۱۰۰ لاند از عصاره متانولی گیاه با غلظت‌های یاد شده اضافه گردید. در روز اول توسط دستگاه الایزا ریدر جذب نوری را خوانده و بعد از ۲۴ ساعت که داخل بن ماری در دمای ۳۷ °C قرار گرفت جذب نوری مجدداً خوانده شد و با روز قبل مقایسه گردید.

**روش Colonicount:** این روش نیز همانند روش قبلی در پلیت ۹۶ خانه ای استریل انجام شد. در هر چاهک ۱۰۰ لاند از میکروارگانیسم مورد نظر با غلظت ۰/۵ مک فارلند و ۱۰۰ لاند عصاره متانولی گیاه با غلظت‌های یاد شده اضافه شد. آنگاه با استفاده از آنس استریل کالبره شد، ۴ لاند از محلول رقیق شده (غلظت ۱ به ۲۰۰) را بر روی محیط مولر هیتون آگار برای میکروب‌های (استافیلوکوک اورئوس و اشیرشیاکلی) به طور جداگانه در شرایط کاملاً استریل کشت داده و در داخل انکوباتور با دمای ۳۷ °C قرار گرفت. در همین حال پلیت ۹۶ خانه ای پس از گذشت ۲۴ ساعت تعداد کلنی‌های رشد کرده بر روی محیط‌ها شمارش گردید. در روز دوم نیز همین کار مجدداً انجام و مقدار کلنی‌ها شمارش و نتایج با یکدیگر مقایسه شد. سپس با مقایسه تعداد کل کلنی‌های این دو مرحله با هم کمترین غلظتی از عصاره که میکروارگانیسم‌ها در آن رشد کرده‌اند

نتایج بدست آمده از آزمون های میکرو دایلوژن بروش فتومتری نشان داد که گیاه عصاره متانولی گیاه مورد مطالعه در غلظت های مختلف ۰/۵ تا ۲ درصد بر روی باکتری استافیلوکوک اورئوس اثر ضد باکتری نداشته است ولی بر روی باکتری اشرشیاکلی در غلظت ۰/۵ تا ۱ درصد دارای اثر ضد باکتری ( $p < 0.001$ ) بود، اما با افزایش غلظت (۲ درصد) با اثر معکوس در جهت عدم مهار کنندگی نشان داده

است (جدول ۱). بررسی نتایج آزمون های میکرو دایلوژن بروش (Colonicount) بیانگر آن بود که عصاره متانولی گیاه در غلظت های مختلف ۰/۵ تا ۲ درصد اثر ضد باکتری بر روی باکتری استافیلوکوک اورئوس داشته ( $p < 0.001$ ). ولی بر روی باکتری اشرشیاکلی تنها در غلظت ۲ درصد خاصیت مهار کنندگی نشان داده است ( $p < 0.001$ ) (جدول ۲).

جدول ۱. حداقل غلظت مهار کنندگی عصاره متانولی میوه گیاه *Ammimajus* بر روی میکروارگانیسم های مختلف به روش فتومتری

| میکروارگانیسم      | غلظت عصاره | Mean    | MD       | SE      | P-value       |
|--------------------|------------|---------|----------|---------|---------------|
| استافیلوکوک اورئوس | ۰/۵        | ۰/۰۵۱۸۳ | ۰/۰۳۷۱۶  | ۰/۰۳۶۸۵ | ۰/۹۷۰         |
|                    | ۱          | ۰/۰۵۲۸۳ | ۰/۰۳۶۱۶  | ۰/۰۳۶۸۵ | ۰/۹۷۵         |
|                    | ۲          | ۰/۰۷۶۵۰ | ۰/۰۱۲۵۰۰ | ۰/۰۳۶۸۵ | ۰/۹۹          |
| اشرشیاکلی          | ۰/۵        | ۰/۰۴۵۸۳ | ۰/۰۴۶۶۶  | ۰/۰۰۴۷۵ | $*** < 0.001$ |
|                    | ۱          | ۰/۰۴۳۶۷ | ۰/۰۴۸۸۳  | ۰/۰۰۴۷۵ | $*** < 0.001$ |
|                    | ۲          | ۰/۱۶۴۳۳ | -۰/۰۷۱۸۳ | ۰/۰۰۴۷۵ | $*** < 0.001$ |

جدول ۲. حداقل غلظت کشندگی عصاره متانولی میوه گیاه *Ammimajus* بر روی میکروارگانیسم های مختلف به روش ColoniCount

| میکروارگانیسم      | غلظت عصاره | Mean       | MD         | SE       | P-value       |
|--------------------|------------|------------|------------|----------|---------------|
| استافیلوکوک اورئوس | ۰/۵        | ۵۴۱۶۶۶/۶۷  | ۵۲۵/۰۰۰۰۰  | ۶۲۱۹۳/۶۹ | $*** < 0.001$ |
|                    | ۱          | ۱۲۵۰۰۰/۰۰  | ۹۴۱۶۶۶/۶۶  | ۶۲۱۹۳/۶۹ | $*** < 0.001$ |
|                    | ۲          | ۵۰۰۰۰/۰۰   | ۱۰۱۶۶۶۶/۶۶ | ۶۲۱۹۳/۶۹ | $*** < 0.001$ |
| اشرشیاکلی          | ۰/۵        | ۱۱۱۶۶۶۶/۶۷ | ۲۰۸۳۳۳/۳۳  | ۸۴۸۶۰/۹۹ | ۰/۲۴۴         |
|                    | ۱          | ۱۱۳۳۳۳۳/۳۳ | ۱۹۱۶۶۶/۶۶  | ۸۴۸۶۰/۹۹ | ۰/۳۴۱         |
|                    | ۲          | ۱۰۰۰۰۰/۰۰  | ۳۲۵۰۰۰/۰۰  | ۸۴۸۶۰/۹۹ | $*** < 0.001$ |

MD اختلاف میانگین نیم مک فارلند نسبت به غلظت های مختلف عصاره متانولی، \*\*: آزمون آماری ANOVA, post-hocTukey سطح معنی دار ( $p < 0.05$ ). P-value مربوط به مقایسه میانگین غلظت های مختلف عصاره متانولی با میانگین نیم مک فارلند است

## بحث و نتیجه گیری

یافته های بدست آمده در پژوهش حاضر از طریق آزمون های انتشار دیسک نشان داد که غلظت های ۰/۵ تا ۲ درصد عصاره متانولی بر روی باکتری استافیلوکوک اورئوس اثر ضد میکروبی داشته ولی غلظت های مختلف این عصاره بر روی باکتری اشرشیاکلی هیچگونه عدم هاله رشد ایجاد نکرد. هرچند که این تفاوت معنی دار نبود. Duke و همکاران نیز به اثرات ضد باکتریایی، ضد قارچی، ضد ویروسی و ضد لاروی روی این گیاه اشاره نمودند (۱۶). Semyari و همکاران با مطالعه بر روی گونه های مختلف باکتریهای گرم مثبت مانند استرپتوکوک نشان دادند که عصاره گیاه *Ammivisnaga* دارای اثرات ضد میکروبی بر روی برخی از گونه های این باکتری به روش دیسک فیوژن می باشد (۲۶). مطالعه دیگری که توسط Jalali و همکاران بر روی باکتری استافیلوکوک اورئوس و اشرشیاکلی به روش دیسک فیوژن انجام شد، نشان داد که عصاره متانولی گیاه حتی در غلظت های بالا بر روی باکتری های استافیلوکوک اورئوس

و اشرشیاکلی اثر ضد میکروبی و هاله عدم رشد تشکیل نداد (۲۷). این نتایج، مخالف یافته های بدست آمده در بررسی حاضر بود شاید یکی از دلایل این اختلاف بعلت ناکافی بودن مواد موثر این گیاه با گیاه *Ammimajus* می باشد. در این بررسی نتایج حاصل از آزمون به روش ایجاد چاهک بیانگر آن بود که غلظت های مختلف عصاره متانولی بر روی باکتری استافیلوکوک اورئوس هاله عدم رشد ایجاد نمود. ولی غلظت های مختلف این عصاره بر روی باکتری های *Ecoli* هیچگونه اثر مهار کنندگی نداشته است. Al-hadidi و همکاران نیز طی تحقیقی بر روی عصاره های مختلف گیاه *Ammimajus* بر روی برخی از باکتریهای جدا کننده در محیط invitro به روش دیسک فیوژن نشان دادند که عصاره اتانولی گیاه بر روی باکتری گرم مثبت (استافیلوکوک اورئوس) اثر مهار کنندگی داشته و هاله عدم رشد نشان داد در حالیکه بر روی باکتری گرم منفی اشرشیاکلی هیچگونه اثر مهار کنندگی مشاهده نگردید (۲۸). با توجه به اینکه

مطالعه بر روی اثرات ضد میکروبی این گیاه در ایران و جهان محدود است لذا به بررسی موارد مشابه بر روی گیاهان دیگر پرداختیم. Khosravi و همکاران با بررسی خواص ضد باکتریایی عصاره آبی و الکلی گیاه لاوندولا استوکاس بر روی استافیلوکوک اورئوس، اشرشیاکلی و سودوموناس نشان دادند که عصاره آبی و الکلی این گیاه بر روی اکثر باکتری های مورد مطالعه موثر بوده که این با نتایج مطالعه ما همخوانی دارد (۲۹).

نتایج بدست آمده از آزمونهای میکروداپلوشن به روش فتومتری نشان داد که گیاه مورد مطالعه در غلظت های مختلف ۰/۵ تا ۲ درصد بر روی باکتری استافیلوکوک اورئوس اثر ضد باکتری نداشته ولی بر روی باکتری گرم منفی اشرشیاکلی در غلظت ۰/۵-۱ درصد دارای اثر ضد باکتری بوده ولی با افزایش غلظت، یعنی ۲ درصد یک اثر معکوس در جهت عدم مهارکنندگی داشته است. HafezGhoran و همکاران در طی مطالعه ای تحت عنوان اثر ضد میکروبی عصاره های کلروفرمی، اتیل استاتی و هیدروالکلی پیاز گیاه سنبل کوهی با استفاده از روش رقت لوله ای بر باکتری های اشرشیاکلی (گرم منفی)، استافیلوکوک اورئوس (گرم مثبت) نشان دادند که اثر ضد میکروبی عصاره های کلروفرمی و اتیل استاتی پیاز گیاه سنبل کوهی بر روی اشرشیاکلی و استافیلوکوک اورئوس بیشتر بوده و این در واقع مغایر با یافته های بدست آمده از بررسی حاضر در مورد باکتری استافیلوکوک اورئوس می باشد (۳۰).

شاید یکی از دلایل این اختلاف تفاوت در نوع عصاره ها باشد که در مطالعه ما با توجه به نوع عصاره که متانولی است، به علت وجود مواد گلیکوزیدی در این عصاره فاقد خاصیت ضد میکروبی می باشد. Sharifi و همکاران نیز با بررسی اثرات ضد باکتریایی عصاره الکلی گیاه جوهر گزارش کردند که حساس ترین باکتری، اشرشیاکلی با داشتن بالاترین قطر هاله عدم رشد بود یعنی عصاره گیاه اثر مهارکنندگی بیشتری بر روی باکتری های گرم منفی نسبت به باکتری های گرم مثبت نشان داد که با کاهش غلظت عصاره خاصیت ضد میکروبی آن نیز کاهش یافت که این مسئله مشابه یافته های بدست آمده در بررسی حاضر می باشد (۳۱). در بررسی حاضر نتایج آزمون های میکروداپلوشن به روش (Colonicount) نشان داد که عصاره متانولی در غلظت های مختلف ۰/۵ تا ۲ درصد اثر ضد باکتری بر روی استافیلوکوک اورئوس داشته ولی بر روی

باکتری اشرشیاکلی فقط در غلظت ۲ درصد اثر مهارکنندگی نشان داده است. Abdul-Jalil و همکاران وجود دو فلاونوئید از میوه این گیاه شامل کوئرتستین و کامفرول را گزارش نمودند (۳۲). Nayebi و همکاران نیز با بررسی بر روی اسانس میوه گیاه *Ammimajus* وجود بزرگترین گروه از متابولیت های ثانویه به نام ترپنوتیدها را گزارش نمودند (۳۳). لذا از مجموع این مطالعات می توان استنباط نمود که فورانوکومارین ها، فلاونوتیدها و ترپنوتیدهای موجود در این گیاه دارای خاصیت ضدباکتریایی و ضدقارچی می باشد. بطوریکه فلاونوتیدها که ترکیبات هیدروکسیله فنلی هستند به صورت یک گروه C3-C6 متصل به یک حلقه آروماتیک مشاهده می گردد که طبق بررسی های انجام شده، این ترکیبات توسط گیاهان در پاسخ به عفونت های میکروبی ساخته می شوند. فعالیت آن ها احتمالاً به علت اتصال شان به پروتئین های خارج سلولی و محلول و اتصال به دیواره سلولی باکتری ها، همانند مکانیسم عملکرد کینون هاست. فلاونوتیدهایی که حالت چربی دوستی بیشتر دارند، می توانند موجب متلاشی شدن غشاهای میکروبی شوند. فعالیت مهارکنندگی ترپنوتیدها بر علیه باکتری ها، قارچ ها و ویروس ها مورد شناسایی قرار گرفته اما مکانیسم عملکرد آنها به طور کامل شناخته نشده است (۳۴-۳۶).

نتایج تحقیق نشان داد که عصاره متانولی گیاه *Ammimajus* اثر ضد میکروبی بالاتری بر باکتری های گرم مثبت نسبت به باکتری های گرم منفی دارد. شاید این مسئله به علت ساختار غشای پلاسمایی و دیواره سلولی اینگونه از باکتری ها (گرم منفی) باشد که ورود مواد موثره عصاره گیاهی را به داخل سلول محدود می نماید. لذا با توجه به گسترش وسیع این گیاه در نقاط مختلف کشورمان تحقیقات بیشتری در زمینه شناسایی خصوصیات بیولوژیکی و فارماکولوژیکی این گیاه توصیه می شود.

### تقدیر و تشکر

بدینوسیله از زحمات حوزه معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی بابل و دانشکده پردیس دانشگاهی، دانشگاه گیلان و آقای دکتر سهراب کاظمی، تشکر و قدردانی می گردد.

## The Antibacterial Effects of Methanol Extract of *Ammi majus* on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*

P. Sajadi Kaboodi (PhD)<sup>1</sup>, D. Bakhshi (PhD)<sup>1</sup>, A.A. Moghadamnia (PharmD, PhD)<sup>\*2</sup>, A. Sefidgar (PhD)<sup>3</sup>

1.Department of Horticultural Scienc, University Campus2, University of Guilan, Rasht, I.R.Iran

2.Neuroscience Research Center, Health Research Institute, Babol University of Medical Sciences, Babol, I.R.Iran

3.Department of Mycology and Parasitology, Faculty of Medicine, Babol University of Medical Sciences, Babol, I.R.Iran

J Babol Univ Med Sci; 19(1); Jan 2017; PP: 36-42

Received: Aug 14<sup>th</sup> 2016, Revised: Sep 27<sup>th</sup> 2016, Accepted: Nov 26<sup>th</sup> 2016.

### ABSTRACT

**BACKGROUND AND OBJECTIVE:** Diversity of plants and the increasing tendency to use them for therapies has increased the significance of screening herbal extracts. Several researches have reported the antibacterial effects of plants. Therefore, the present study aims to investigate the antibacterial effects of methanol extract of *Ammi majus*.

**METHODS:** After preparing methanol extract (0.5, 1 and 2%), the antibacterial effects of the plant were measured according to minimum inhibitory concentration (MIC), minimum bactericidal concentration (MBC), disk diffusion method (determining the zone of inhibition) and well diffusion method on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*.

**FINDINGS:** In well diffusion method, the lowest concentration (0.5%) created a  $9 \pm 0.000$  mm inhibition zone diameter, while the highest concentration (2%) created a  $12.3 \pm 0.57$  mm inhibition zone diameter ( $p < 0.001$ ). The photometric tests revealed that the methanol extract of the plant (0.5 to 1%) with mean difference of 0.04 had antibacterial effects on *Escherichia coli* ( $p < 0.001$ ). However, as the concentration increased (2%), adverse non-inhibitory effects could be observed. The tests based on colony counting method demonstrated that *Ammi majus* extract 0.5, 1 and 2% have antibacterial effect on *Staphylococcus aureus* ( $p < 0.001$ ). However, only the 2% extract had inhibitory effects on *Escherichia coli* ( $p < 0.01$ ).

**CONCLUSION:** Results of the study demonstrated that methanol extract of *Ammi majus* has more antibacterial effect on *Staphylococcus aureus* compared with *Escherichia coli*.

**KEY WORDS:** Extract, *Ammi majus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*.

### Please cite this article as follows:

Sajadi Kaboodi P, Bakhshi D, Moghadamnia AA, Sefidgar A. The Antibacterial Effects of Methanol Extract of *Ammi majus* on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. J Babol Univ Med Sci. 2017;19(1):36-42.

\*Corresponding author: A.A. Moghadamnia (PhD)

Address: Neuroscience Research Center, Health Research Institute, Babol University of Medical Sciences, Babol, I.R.Iran

Tel: +98 11 32919596

E-mail: moghadamnia@yahoo.com

## References

1. Bahmani M, Zargaran A, Rafieian-Kopaei M. Identification of medicinal plants of Urmia for treatment of gastrointestinal disorders. *Revista Brasil Farmacog.* 2014;24(4):468-80..
2. Safarzadeh E, Sandoghchian Shotorbani S, Baradaran B. Herbal medicine as inducers of apoptosis in cancer treatment. *Adv Pharm Bull.* 2014;4(Suppl 1):421-7.
3. Fatima N, Kaur Z. A review on potential of novel vesicular carriers for carrying herbal drugs in the treatment of dermatological disorders. *J Atoms Mol.* 2016;6(3):987-1003.
4. Wong CS, Jelacic S, Habeeb RL, Watkins SL, Tarr PI. The risk of the hemolytic-uremic syndrome after antibiotic treatment of *Escherichia coli* O157: H7 infections. *N Engl J Med.* 2000;342(26):1930-6.
5. Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. *Int J food Microbiol.* 2004;94(3):223-53.
6. Ayfer DT. Antimicrobial activities of various medicinal and commercial plant extracts. *Turk J boil vol.* 2003;27(2003):157-62.
7. Króllicka A, Staniszewska I, Bielawski K, Malinski E, Szafraniek J. Establishment of hairy root cultures of *ammimajus*. *Plant Sci.* 2001;160(2):259-64.
8. Selim Y, Ouf NH. Anti-inflammatory new coumarin from the *ammimajus*. *Med Che.* 2012;2:1-4.
9. Al-Snafi AE. Chemical constituents and pharmacological activities of *Ammi majus* and *Ammi visnaga*. A review. *Int J Pharm Indust Res.* 2013;3(3):257-65.
10. Hani M, Elgamal A, NagwaM. Coumarins and coumarin glycosides from the fruit of *ammimajus*. *Phytochemis.* 1993;34(3):819-23.
11. Ramadan S. *Ammi majus* plant. *Hamdard.* 1982;25(1-4):32-35.
12. Davies J, Davies D. Origins and evolution of antibiotic resistance. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2010; 74(3): 417-33.
13. Rohd H, Kalitzky M, Kroger N, Scherpe S, Horstkotte MA, Knobloch Jk, et al. Detection of virulence-associated gene not useful for discriminating between invasive and commensal *staphylococcus epidermidis* strains from abone marrow transplant. *Unit J Clin Microbiol.* 2004;42(12):5614-9.
14. Monniri R, Mosayebi Z, Movahedian AH, Mossavi GH A. Increasing trend of antimicrobial drug resistance in *pseudomonas aeruginosa* causing septicemia. *Iran J Public Health.* 2006;35(1):58-62.
15. Pollak M. *pseudomonasaerogina*. *MandellC: Bennett JE, Dolin R. principal. practice of infectious Diseases.* 5<sup>th</sup> ed. Newyork: Chrchill Livingstone. 2000;p.231-70.
16. Duke JA. Bishop's Weed (*Ammi majus* L., *Apiaceae*). *Econ Bot.* 1988;42(3):442-45.
17. Joy PP, Thomas J, Mathew S, Skaria BP. *Medicinal plants.* 1<sup>st</sup> ed. India: Kerala Agricultural Univ;1998.p.40-47.
18. Al-Hadhrami RM, Al Muniri RM, Hossain MA. Evaluation of antimicrobial and cytotoxic activities of polar solvent extracts from leaves of *Ammi majus* used by the omanis. *Pacific Sci Rev.* 2016;18(1):62-5.
19. Kubas J. Investigations on known or potential antitumoral plants by means of microbiological tests. III. Biological activity of some cultivated plant species in *Neurospora crassa* test. *Acta Biol Cracov Bot.* 1972;5(2):87-100.
20. Eloff JN. Which extraction should be used for the screening and isolation of antimicrobial components from plants. *J Ethnopharmacol.* 1998; 60(1):1-8.
21. Baron EJ, Finegold SM. *Biele and scotts diagnostic microbiology.* 8<sup>th</sup> ed: St Louis: Mosby; 1990. p. 508-28.
22. Block JH, Beale JM. *Wilson and Gisvold.s text book of organic medicinal and pharmaceutical chemistry.* 11<sup>st</sup>. Baltimore: Lippincott william's and wilkin 's. 2004;p. 663-57.
23. Mahar CR, ManusclisG, Editors. *Diognostic microbiology.* London: W.B. Sanders. 1995. P.58-96.
24. Zgoda LR, PorterJR. A convenient microdultion method for screening natural products against bacteria and fungi. *Pharmaceut Boil.* 2001;39(3):221-5.

- 25.Koletars SL. Concepts in antimicrobial therapy. In: Mahon CR Manoselis G. Textbook of Diagnostic Microbiology. Chapters. Second ED. Philadelphia: W.B Saunders. 2000.p.62-95.
- 26.SemyariH,OwliaP,Farhadi S and MogadamiTabrizi S. Evaluation of antimicrobial effect of Ammivisnaga against oral streptococci. J Microbiol Antimicrobiol. 2011;3(5):126-29.
- 27.Jalali M, AbediD, AsghariG,Rezaie Z. Antimicrobial effects of ethanol extracts of some medicinal plants against *Listeria monocytogenes*. J Mazandran Univ Med Sci. 2007;17(59):76-85.[In Persian]
- 28.Al-Hadidi AK, Al-Numan YA, Al-Daody CA. Interaction between some phenolic compounds in ammi majus herb:(khillah) extracts and antibiotics against some selected bacterial isolates in vitro. Raf J Sci. 2013;24(2):17-30.
- 29.Khosravi A, Malecan M. Effects of lavandulastoechas extracts on staphylococcus aureus and other gram negative bacteria. J Qazvin UnivMedSci. 2004;7(5):3-9.[In Persian]
- 30.Hafez Ghoran S, Mighani H, Ebrahimi P. In-vitro anti- bacterial activity of chloroform, ethyl acetate and hydroalcoholic extracts of scilla Persica Hausskn. J Gorgan Univ Med Sci. 2014;16(1):106-13.[In Persian]
- 31.Sharifi A, Seifi T, Mohammadzadeh A, Hammounavard S. Pajohialamotim Antibacterial activity of alcoholic extract of ferulagoangolata. Sci J Ilam Univ Med Sci. 2015;23(4):202-8.[In Persian]
- 32.Abdul-Jalil TZ, Saour K, Nasser A. Phyto chemical study of some flavonoids present in the fruits of two Ammi species wildy grown in Iraq. J Pharm Sci. 2010;19(1):48-57.
- 33.Nayebi SH, Kakeshpour T, Hassanvand A, Nadri M, Rashidi Monfared S. Composition of volatile compounds of Ammi majus from Iran by GC-MS. J Sci Islamic Repub Iran. 2013;24(4):335-38..[In Persian]
- 34.Dholwani KK, Saluja AK, Gupta AR, Shah DR. A review on plant-derived natural products and their analogs with anti-tumor activity. Indian J Pharmacol. 2008;40(2):49-58.
- 35.Kandaswami C, Middleton E. Free radical scavenging and antioxidant activity of plant flavonoids. Adv Exp Med Biol. 1994; 366:351-76.
- 36.Serafini M, Ghiselli A, Ferro Luzzi AF, Melville CAS. Red wine, tea and anti-oxidant. Lancet .1994;(8922):344-626.