مجله دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد/ دوره ۱۵، شماره ۶/ بهمن و اسفند ۱۳۹۲/ ۱۷-۱۰

مقاله پژوهشی

بررسی فیتوشیمیایی و اثرات ضد باکتریایی، ضد قارچی و هم افزایی فراکسیون های کلروفرمی عصاره ریشه گیاه کمای بیابانی

دکتر غلامرضا دهقان[1]*، دکتر غلامرضا زرینی[1]، منیژه حاجی زاده[2]

[1] گروه علوم جانوری، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران؛ [2] گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان، زنجان، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۲/۲/۲۱ اصلاح نهایی: ۹۲/۶/۱۶ تاریخ پذیرش: ۹۲/۶/۱۹

چکیده:

زمینه و هدف: **گیاه کمای بیابانی (*Ferula szowitsiana*) متعلق به خانواده چتریان و از گیاهان دارویی بومی ایران و آسیای مرکزی می‌باشد. صمغ حاصل از ریشه گیاهان جنس کما در درمان بیماری های گوارشی و روماتیسم کاربرد دارد. این مطالعه با هدف بررسی اثرات فراکسیون های عصاره کلرفرمی ریشه گیاه کمای بیابانی طراحی و اجرا شده است.**

روش بررسی: **در این مطالعه تجربی اثرات ضد باکتریایی، ضد قارچی و هم افزایی عصاره‌ی کلروفرمی و فراکسیون های فعال ریشه (CEF1-CEF15) بر روی برخی باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی و قارچ های کاندیدا کفیر و *کریپتوکوکوس نئوفورمانس* (غلظت‌های ۰/۲ تا ٤ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و با مضرب ۲) با روش انتشار در آگار و تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی بررسی گردید.**

یافته‌ها: **نتایج نشان داد که عصاره و اجزای مختلف آن ، اثرات ضد میکروبی قابل ملاحظه‌ای بر روی میکروارگانیسم‌های مورد آزمون دارند. میانگین قطر هاله‌های عدم رشد بین ۷ تا ۲۳ میلی متر برای اجزای مختلف عصاره ثبت شد. عمده‌ترین اثر ضد میکروبی از ۱۵ جزء حاصله در جزء CEF6 و روی باکتری باسیلوس سوبتیلیس و قارچ *کریپتوکوکوس نئوفورمانس* (به ترتیب با قطر هاله ۱۵/٤ و ۲۳/۱ میلی متر) دیده شد. جزء CEF5 اثر مهار کنندگی روی رشد هیچکدام از میکروارگانیسم‌ها نداشت. بیشترین اثرات هم افزایی اجزا، با آنتی‌بیوتیک‌های اریترومایسین و تتراسایکلین با اجزای CEF1، CEF9، CEF10 و CEF11 روی باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین و باسیلوس سوبتیلیس مشاهده شد.**

نتیجه گیری: **نتایج نشان داد عصاره و اجزای حاصله از گیاه کمای بیابانی خواص ضد قارچی و ضد باکتریی قابل قبولی از خود نشان می‌دهند که می‌توانند به عنوان منبع بالقوه برای ترکیبات جدید ضد باکتری در نظر گرفته شوند.**

واژه‌های کلیدی : فراکسیون های کلروفرمی، فعالیت ضد میکروبی، کمای بیابانی، هم افزایی.

مقدمه:

تعداد زیادی از آنتی بیوتیک های سنتزی با ساختارهای شیمیایی متفاوت برای کنترل عفونت های بیمارستانی و بیماری های عفونی انسان در سراسر جهان استفاده می‌شوند. استفاده طولانی مدت از این آنتی بیوتیک ها باعث ظهور مقاومت‌های چند دارویی و باکتری های مقاوم شده و از طرفی با اثرات جانبی باعث بروز مشکلات بالینی فراوانی در بیماران می‌شوند (۱)؛ از این رو بایستی تحقیقات گسترده‌ای برای کشف مواد ضد میکروبی جدید از منابع طبیعی از جمله گیاهان دارویی، جلبک ها و حتی منابع حیوانی انجام شود.

گیاهان دارویی به واسطه داشتن طیف وسیعی از ترکیبات زیستی فعال به عنوان یک منبع بالقوه از داروهای شیمی درمانی جدید مورد توجه ویژه هستند؛ زیرا داروهای گیاهی به علت داشتن منشاء طبیعی نسبت به داروهای شیمیایی دارای سازگاری بیشتری با ارگانیسم های زنده از جمله بدن انسان بوده و عوارض جانبی کمتری ایجاد می کنند (۳،۲). گیاهان طی متابولیسم ثانویه، گروه های متعددی از فراورده‌های طبیعی از قبیل آلکالوئیدها، ترکیبات پلی فنولی،

*نویسنده مسئول: تبریز، دانشگاه تبریز، گروه علوم جانوری، تلفن:۰٤۱۱-۳۳۹۲۷۳۹، E-mail:dehghan2001d@yahoo.com

www.SID.ir

ترپنوئیدها و کومارین ها را تولید می کنند، که صرف نظر از نقش آنها در خود گیاه، در درمان بیماری های انسانی مورد استفاده قرار می گیرند.

جنس کما (Ferula) بیش از ۱۳۰ گونه در سراسر دنیا دارد که ۳۰ گونه آن در ایران رشد می کنند. نیمی از این گونه ها انحصاری ایران و نیم دیگر علاوه بر ایران در آناتولی، آسیای مرکزی و افغانستان نیز می‌رویند (۴). برخی از گونه‌های جنس کما در ایران به عنوان گیاه دارویی در طب سنتی مورد استفاده قرار می گیرند. از این میان می توان به آنغوزه و باریجه اشاره کرد که صمغ حاصل از آن ها دارای اثرات ضد تشنج، قاعده آور و ضد کرم، دفع سوء هاضمه و یبوست و درمان بیماری‌های رحمی هستند. از جنس کما گونه کوهیستانیکا (Ferula kuhistanica) اثرات ضد باکتریایی قوی ای بر علیه *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین مشاهده شده است؛ همچنین از جنس کما اثرات ضد سرطانی و ضد ویروسی (ویروس ایدز) و اثرات هم افزایی نیز گزارش شده است (۵، ۶).

گیاه کمای بیابانی با نام علمی *Ferula szovitsiana* یکی از گونه‌های جنس کما است که رویشگاه اصلی آن ایران و همسایه‌های شمالی آن می باشد. مطالعات فیتوشیمیایی و زیستی این گونه نشان می‌دهد که عصاره کلرفرمی ریشه این گیاه دارای ترکیبات کومارینی و ترپنوئیدی متعدد است که فعالیت ضد سرطانی و آنتی اکسیدانی از خود نشان می‌دهند. ترپن های موجود و فعالیت ضد باکتریایی اسانس اندام های مختلف گیاه کمای بیابانی نیز قبلاً توسط گروه ما گزارش شده است (۹-۷). این مطالعه با هدف بررسی اثرات ضد میکروبی، ضد قارچی و هم افزایی عصاره کلروفرمی و اجزای کومارینی ریشه گیاه کمای بیابانی بر روی برخی میکروارگانیسم ها طراحی و اجرا شده است.

روش بررسی:

گیاه کمای بیابانی (*Ferula szovitsiana*) از خانواده چتریان، اواخر خرداد ماه ۱۳۸۹ از منطقه قطور در غرب خوی در استان آذربایجان غربی جمع آوری گردید. نمونه هرباریومی این گیاه قبلاً جمع‌آوری و در هرباریوم مرکزی دانشگاه علوم پزشکی تهران نگهداری می شود (شماره هرباریومی، THE- 6653- No). ریشه گیاه پس از جمع‌آوری، به قطعات کوچکتر تبدیل شده و در سایه و دمای ۲۵ درجه ساتی گراد به طور کامل خشک گردید. سپس قطعات خشک شده توسط آسیاب پودر شدند. سپس برای تهیه عصاره‌گیری از روش خیساندن استفاده شد؛ به همین منظور ۳۰۰-۲۰۰ گرم پودر نرم ریشه با استفاده از ۵ لیتر حلال کلروفرم به مدت یک هفته عصاره‌گیری شد. پس از تهیه عصاره و صاف کردن آن، حلال مربوطه توسط دستگاه تقطیر در خلا جداسازی گردید و عصاره غلیظ به رنگ قهوه ای تیره به دست آمد.

برای جداسازی اجزای عصاره کلروفرمی ریشه از کروماتوگرافی ستونی و از سیلیکاژل استفاده شد. شستشوی ستون با غیر قطبی‌ترین حلال یعنی اتر نفت آغاز شد؛ به محض آنکه دیگر ماده‌ای از ستون خارج نشد، ۵ درصد استون به حلال شستشوی ستون اضافه گردید. این کار به تدریج (افزایش قطبیت حلال ، با هربار افزایش ۵ درصد استون) ادامه پیدا کرد تا نسبت استون به اتردوپترول ۹۵ به ۵ شد. شستشوی ستون با حلال های قطبی تر مثل متانول نیز در اواخر مرحله انجام گرفت. عمل کنترل خروج ترکیبات ریشه (به خصوص کومارین‌ها) از ستون با استفاده از کروماتوگرافی لایه نازک (TLC) انجام گرفت و اجزایی که ترکیبات مشابه داشتند با یکدیگر تلفیق شدند.

به منظور بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره تام و اجزای ریشه از سویه‌های متعدد باکتری‌های گرم مثبت (*استافیلوکوکوس اورئوس*، *میکروکوکوس لوتئوس*، *استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس*، *باسیلوس سوبتیلس*)، باکتری‌های گرم منفی (*اشرشیا کلی*، سودوموناس آئروژینوزا) و قارچ های (کاندیدا کفیر و *کریپتوکوکوس نئوفورمانس*) استفاده شد. برای این منظور از روش استاندارد انتشار از دیسک (Disk diffusion method) و روش رقت سازی در لوله (Tube dilution method) استفاده شد. در روش انتشار از دیسک مقدار مشخصی از عصاره تام و هر یک از اجزای خشک شده، توزین و دوباره به شکل محلول

Archive of SID
www.SID.ir

درآمده و روی دیسک های استاندارد قرار داده‌شد. دیسک‌های آماده شده از عصاره و اجزای مورد بررسی، پس از خشک شدن کامل حلال ترکیبات، بر روی محیط‌های کشت داده شده منتقل گردیدند. محیط کشت مولر هینتون آگار برای باکتری‌ها و سابرود دکستروز آگار برای قارچ ها استفاده شد. غلظت نیم مک فارلند (cfu/ml ۱۰۸×۱/۵) از نمونه‌های میکروبی مورد آزمون که در مرحله رشد لگاریتمی بودند تهیه گردید و در سطح محیط‌های کشت، کشت داده شد. نتایج کشت‌ها پس از ۱۸ ساعت گرماگذاری در دمای ۳۷ °C برای باکتری‌ها و ۳۶ ساعت در دمای ۲۵ °C برای قارچ‌ها و برحسب میلی‌متر قطر هاله عدم رشد اندازه‌گیری شد. مقادیر حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) بر اساس روش های موجود در متون علمی (۱۰) تعیین گردید. برای این منظور cfu/ml ۱۰۵ از میکروارگانیسم‌های مورد آزمون در لوله‌ها وارد شده و به ترتیب پس از ۲۴ و ۳۶ ساعت برای باکتری ها و قارچ ها میزان کدورت لوله‌ها مقایسه شد و کمترین غلظتی که ایجاد کدورت می کند مشخص شد. غلظت‌های به کار رفته بین ۰/۲ تا ۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و با مضرب ۲ انتخاب شدند.

آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده برای بررسی اثرات هم افزایی اجزا، آنتی بیوتیک های اریترومایسین با غلظت ۱۵ µg از گروه ماکرولیدها و تتراسایکلین با غلظت ۳۰µg از گروه آمینوگلیکوزیدها بودند. برای بررسی اثرات هم افزایی اجزا روی آنتی بیوتیک‌ها، از دو روش استفاده شد. در روش اول، ابتدا محیط کشت مولر هینتون آگار برای باکتری‌ها در پلیت‌ها تهیه گردید. سپس غلظت نیم مک فارلند از نمونه های میکروبی مورد آزمون که در مرحله رشد لگاریتمی بودند تهیه و در سطح محیط‌های کشت قرار داده شدند. سپس رقت‌های ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۵ میلی گرم بر میلی لیتر از اجزا تهیه و روی دیسک‌های آنتی بیوتیک مذکور اضافه گردید؛ سپس دیسک‌های آماده شده پس از خشک شدن کامل حلال اجزا، بر روی محیط‌های کشت شده منتقل شدند. کشت‌ها در دمای ۳۷ °C-۳۵ و مدت ۲۴-۱۸ ساعت گرماگذاری و نتایج برحسب میلی‌متر قطر هاله عدم رشد گزارش گردیدند (۱۱). در روش دیگر همانند روش قبلی، محیط کشت مولر هینتون آگار برای باکتری‌ها تهیه گردید. سپس غلظت نیم مک فارلند از نمونه‌های میکروبی مورد آزمون که در مرحله رشد لگاریتمی بودند تهیه و در سطح محیط‌های کشت داده شدند. سپس از هر کدام از اجزای ۱۶-۱ به مقدار ۰/۵ mg در هر دیسک ریخته و دیسک‌های تهیه شده از اجزا به فاصله چند میلی‌متر در اطراف هاله آنتی بیوتیک‌های مذکور قرارداده شد. کشیده شدن هاله آنتی‌بیوتیک‌ها به سمت دیسک های حاوی جزء، نشانگر اثرات هم افزایی اجزا با آنتی‌بیوتیک‌ها بود.

یافته ها:

در بررسی فیتوشیمیایی ترکیبات حاصل از شستشوی عصاره تام کلروفرمی (CE) ریشه گیاه کمای بیابانی با گرادیانی از حلال های آلی غیر قطبی-قطبی و بر اساس الگوی خروج از ستون کروماتوگرافی، ۱۵ جزء متفاوت جمع‌آوری شد. هر کدام از اجزا در کروماتوگرافی لایه نازک الگوی منحصر به فردی داشته و وجه مشترک همه آنها وجود ترکیبات کومارینی بود که به واسطه فلورسانس قوی که در زیر لامپ UV از خود نشان دادند قابل اثبات بود. اجزای حاصل به ترتیب از یک تا ۱۵ شماره‌گذاری شدند (CEF1- CEF15) که قطبیت آنها به ترتیب از یک تا ۱۵ افزایش می‌یابد.

بیشتر اجزای عصاره کلروفرمی فعالیت ضد باکتری و ضد قارچی قابل قبولی روی سویه های مورد بررسی داشتند. بیشترین اثرات ضد میکروبی مربوط به جزء شماره شش بر روی باکتری گرم مثبت باسیلوس سوبتیلیس و قارچ کریپتوکوکوس نئوفورمانس بود که قطر هاله عدم رشد به ترتیب ۱۸mm و ۲۳/۱mm و غلظت رشد مهاری ۰/۱mg/ml در هر دو میکروارگانیسم اندازه‌گیری شد و کمترین اثرات مربوط به جزء شماره پنج بود؛ همچنین از بین باکتری‌های مورد آزمایش سودوموناس آئروژینوزا بیشترین مقاومت را از خود نشان داد (جدول شماره ۱).

Archive of SID

www.SID.ir

جدول شماره ۱: مقایسه اندازه قطر هاله حاصل از اثر اجزای عصاره کلروفرمی گیاه کمای بیابانی روی میکروارگانیسم های مورد مطالعه با استفاده از روش انتشار دیسک

میکروارگانیسم ها / فراکسیون ها	*Staphylococcus aureus*	*Staphylococcus epidermidis*	*Bacillus subtilis*	*Micrococcus luteus*	*Escherichia coli*	*Pseudomonas aeruginosa*	*Candida kefyr*	*Cryptococcus neoformans*
CE	۱۰/۵	۱۲	۱۱	۹/۵	۹/۳	–	–	–
CEF_1	۹	۱۰	–	–	–	–	–	۱۲/۵
CEF_2	۹	۹	–	–	–	–	–	۱۱
CEF_3	۱۰	۱۰	۸	۸/۵	۸	–	–	۹
CEF_4	۹/۷	۱۰	۷/۹	۸	–	–	–	–
CEF_5	–	–	–	–	–	–	–	۸/۵
CEF_6	۱۳	۱۵	۱۸	۱۵/۴	۹/۴	–	۱۲	۲۳/۱
CEF_7	۱۱/۵	۱۲	۱۲/۸	۱۱/۹	۸	–	۸/۷	۱۶/۴
CEF_8	۱۱/۴	۱۲	۱۲	۱۱/۸	۸/۵	–	۹/۸	۲۲/۲
CEF_9	۱۰/۵	۱۰/۵	۱۱/۲	–	–	–	۷/۵	۱۵/۲
CEF_{10}	۱۱/۴	۱۱/۶	۹/۸	۱۲	۸	–	–	۱۱
CEF_{11}	۱۴	۱۵/۳	۱۱	۱۰/۴	۸/۷	–	۱۳	–
CEF_{12}	۹	۱۰/۵	۱۰/۵	۹/۱	۹/۲	–	–	–
CEF_{13}	۸/۵	۸/۷	۸/۷	–	۷/۳	–	–	–
CEF_{14}	۸	۸/۷	۸	–	۸/۲	–	–	–
CEF_{15}	۱۵	۱۵/۵	۱۰/۵	۹/۷	۸/۷	–	۱۴/۹	–

CEF (Chloroform extract fraction): فراکسیون عصاره کلروفرمی؛ مقادیر بر حسب میلی متر بیان شده اند؛ علامت منفی نشان دهنده عدم تشکیل هاله رشد می باشد.

در تست MIC به عمل آمده از میکروارگانیسم‌های مورد آزمایش، توقف رشد اکثراً در غلظت ۰/۲ – ۰/۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر مشاهده شد (جدول شماره ۲).

بررسی اثرات هم افزایی بر روی میکروارگانیسم‌ها نشان داد که عصاره و اجزای گیاه کمای بیابانی، اثرات آنتی بیوتیک‌ها را تقویت کرده و باعث افزایش اثرات آنها در باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین و *باسیلوس سوبتیلیس* شده است (حداقل میزان عصاره mg ۰/۵ بود). بیشترین اثرات هم افزایی عصاره، با آنتی‌بیوتیک‌های اریترومایسین و تتراسایکلین با اجزای CEF1، CEF9، CEF10 و CEF11 روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین و باسیلوس سوبتیلیس مشاهده شد (جدول شماره ۳ و تصویر شماره ۱).

Archive of SID

www.SID.ir

جدول شماره ۲: مقایسه حداقل غلظت بازدارندگی رشد حاصل از اثر اجزای عصاره کلروفرمی گیاه کمای بیابانی روی میکروارگانیسم های مورد مطالعه با استفاده از روش ریز رقت

میکروارگانیسم ها / فراکسیون ها	*Staphylococcus aureus*	*Staphylococcus epidermidis*	*Bacillus subtilis*	*Micrococcus luteus*	*Escherichia coli*	*Pseudomonas aeruginosa*	*Candida kefyr*	*Cryptococcus neoformans*
CE	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۴	–	–
CEF_1	۴	۲	۴	۲	–	۴	–	–
CEF_2	۱	۰/۵	۲	۱	۲	–	–	–
CEF_3	۰/۵	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۵	–	–	–
CEF_4	۱	۱	۱	۰/۲	۲	–	–	–
CEF_5	–	–	–	–	–	–	–	–
CEF_6	۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱	۲	۰/۱	۰/۱
CEF_7	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۴	۱	۱
CEF_8	۰/۵	۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱	۱	۰/۲	۰/۲
CEF_9	۰/۵	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲	–	–	–
CEF_{10}	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۲	–	–
CEF_{11}	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۵	۰/۵	۰/۵
CEF_{12}	۰/۵	۰/۲	۰/۲	۰/۵	۰/۲	–	–	–
CEF_{13}	۰/۵	۰/۲	۱	۰/۲	۲	۲	–	–
CEF_{14}	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۵	۱	۱
CEF_{15}	۰/۲	۰/۱	۰/۲	۰/۵	–	–	۱	۱

CEF (Chloroform extract fraction): فراکسیون عصاره کلروفرمی؛ مقادیر بر حسب میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بیان شده اند؛ علامت منفی نشان دهنده عدم تاثیر عصاره می باشد.

جدول شماره ۳: مقایسه اثر هم افزایی اجزای عصاره کلروفرمی گیاه کمای بیابانی با آنتی بیوتیک‌های اریترومایسین و تتراسایکلین، روی باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *باسیلوس سوبتیلیس*

باکتری ها / فراکسیون ها	*Staphylococcus aureus*		*Bacillus subtilis*	
	TE	E	TE	E
CEF_1	+	+	+	+
CEF_2	±	±	–	–
CEF_3	+	+	+	–
CEF_4	+	+	–	±
CEF_5	+	+	+	±
CEF_6	±	–	–	–
CEF_7	+	+	±	–
CEF_8	–	+	+	+
CEF_9	+	+	+	+
CEF_{10}	+	+	+	+
CEF_{11}	+	+	+	+
CEF_{12}	+	+	+	±
CEF_{13}	±	+	+	+
CEF_{14}	+	+	–	–
CEF_{15}	–	–	+	+
CEF_{16}	+	±	±	±

CEF (Chloroform extract fraction): فراکسیون عصاره کلروفرمی؛ TE (Tetracycline): آنتی بیوتیک تتراسایکلین؛ E (Erythromycin): آنتی بیوتیک اریترومایسین؛ علامت مثبت نشان دهنده وجود هم افزایی و علامت منفی نشان دهنده عدم وجود هم افزایی می باشد.

Archive of SID

www.SID.ir

بحث:

با توجه به اهمیت گیاهان دارویی در عرصه پزشکی و سلامت، گیاهی‌از جنس کما به نام کمای بیابانی که همانند سایر گونه‌های این جنس سرشار از ترکیبات کومارینی می باشد در این تحقیق مورد استفاده قرار گرفت. تحقیقات انجام شده در مورد گیاه کمای بیابانی و سایر گونه‌های این گیاه نشان می دهد که این گیاهان پتانسیل‌های خوبی در زمینه درمان بیماری‌های مختلف از جمله صرع، تشنج، HIV، سرطان، اثرات آنتی‌باکتریایی و اثرات هم افزایی دارند (۹-۷). احتمالاً کومارین‌ها مسئول اثر ضد باکتریایی این گیاهان باشند (۷،۶، ۱۰).

امروزه مطالعات زیادی در مورد اثرات ضد باکتریایی عصاره‌های آبی و آلی گیاهان دارویی مختلف روی باکتری های استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سوبتیلیس انجام شده است. در مطالعه‌ی هامون نورد و همکاران دیده شده که عصاره آبی برگ و گل گیاه دارویی خرزهره روی *استافیلوکوکوس اورئوس* اثر مهاری خوبی از خود نشان می‌دهد (۱۲). در پژوهش حاضر نیز عصاره کلروفرمی و اجزای ریشه گیاه کمای بیابانی اثر خوبی بر مهار رشد باکتری *استافیوکوکوس اورئوس* داشته‌است. همچنین یافته‌های ناصح و همکاران نشان می‌دهد که عصاره و آب میوه انار در مقایسه با آب میوه و عصاره کدو قلیانی، اثر مهاری خوبی بر رشد باکتری های *باسیلوس سوبتیلیس* دارند (۱۳). البته این داده‌ها در مقایسه با یافته‌های پژوهش حاضر ناچیز به نظر می‌رسند؛ به طوری که در بین شش باکتری مورد مطالعه در این پژوهش *باسیلوس سوبتیلیس* بیشترین حساسیت را نسبت به عصاره و اجزای کومارینی آن از خود نشان داده است. در مورد قارچ های مورد مطالعه نیز قارچ *کریپتوکوکوس نئوفورمانس* بیشترین حساسیت را به اجزای عصاره کلروفرمی نشان داده است که این اثر نیز به حضور کومارین ها در گیاه مربوط می شود. در برخی مطالعات نیز اثرات کومارین ها در مهار رشد قارچ ها گزارش شده است (۱۴).

هم افزایی عصاره‌های گیاهی یا ترکیبات استخراج شده از آنها اساس کاربرد تعداد زیادی از گیاهان دارویی در طب سنتی می‌باشد. این نوع واکنش ها به خصوص در مقاومت های دارویی میکروارگانیسم‌های باکتریایی به آنتی بیوتیک های مرسوم اهمیت زیادی دارند. در تحقیق حاضر بیشترین اثرات هم افزایی مربوط به باکتری های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین و باسیلوس سوبتیلیس با CEF1، CEF9، CEF10 و CEF11 بوده است. در برخی مطالعات نیز اثر هم افزایی عصاره برخی از گیاه دارویی با آنتی بیوتیک های مختلف از جمله تتراسایکلین گزارش شده است (۱۵) که مطالعه حاضر هم خوانی دارد.

نتیجه‌گیری:

با توجه به اثرات قابل ملاحظه اجزای جداسازی شده از گیاه کمای بیابانی بر روی باکتری‌های *باسیلوس سوبتیلس*، *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین، *استافیلوکوکوس اپیدرمیس*، *میکروکوکوس لوتئوس* و قارچ های کاندیدا کفیر و *کریپتوکوکوس نئوفورمانس*، به نظر می‌رسد که با بررسی‌های بیشتر روی ترکیبات موثره در اجزا بتوان ساختار این ترکیبات را مشخص نمود که در مراحل بعد با آگاهی از ساختار آنها به طور دقیق‌تر روی مکانیسم احتمالی این ترکیبات در ایجاد اثرات هم افزایی با آنتی‌بیوتیک‌ها بحث کرد.

تشکر و قدردانی:

این مقاله مستخرج از گزارش نهایی طرح پژوهشی با عنوان بررسی اثرات ضد باکتری و سمیت سلولی عصاره و ترکیبات خالص شده گیاه فرولا زویتسیانا می باشد که از محل اعتبارات پژوهشی دانشگاه تبریز اجرا شده است؛ لذا نویسندگان بدین وسیله از دانشگاه تبریز به ویژه معاونت و مدیریت محترم پژوهشی دانشگاه تبریز که در تامین منابع مالی این پژوهش شرکت داشته‌اند، تشکر می‌نمایند.

Archive of SID
www.SID.ir

منابع:

1. Moniri R, Mosayebi Z, Movahedian AH, Mossavi GhA. Increasing trend of antimicrobial drug-resistance in *Pseudomonas aeruginosa* causing septicemia. Iranian J Pub Health. 2006; 35(1): 58-62.

2. Toyang NJ, Verpoorte R. A review of the medicinal potentials of plants of the genus Vernonia (Asteraceae). J Ethnopharmacol. 2013; 146(3): 681-723.

3. Ghaderi S, Falahati-HosseinAbad A, Sarailoo MH, Ghanbari V. Investigation of the components and antibacterial effects of three plant's essential oil *Coriandrum sativum*, *chillea millefolium*, *Anethum graveolens* in vitro. J Shahrekord Univ Med Sci. 2012 Dec, Jan; 14(5): 74-82.

4. Mozaffarian V. A dictionary of Iranian plant names. Tehran: Farhang Moaser.1996; 228-30.

5. Tamemoto K, Takaishi Y, Chen B, Kawazoe K, Shibata H, Higuti T, et al. Sesquiterpenoids from the fruits of *Ferula kuhistanica* and antibacterial activity of the constituents of *F. kuhistanica*. Phytochemistry. 2001 Nov; 58(5): 763-7.

6. Shahverdi AR, Iranshahi M, Mirjani R, Jamalifar H, Amin G, Shafiee A. Bioassay-guided isolation and identification of an antibacterial compound from Ferula persica Var. Persica roots. DARU J Pharm Sci. 2005; 13(10): 17-19.

7. Shahverdi A, Fakhimi A, Zarini G, Dehghan G, Iranshahi M. Galbanic acid fram *Ferula szowitiana* enhanced the antibacterial activity of penicillin G and cephalexin against *Staphglococcus aureus*. Biol Pharm Bull. 2007; 36(9): 1805-7.

8. Dehghan G, Solaimanian R, Shahverdi AR, Amin A, Abdollahi M, Shafiee A. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of *Ferula szovitsiana DC.* Flavour Fragrance J. 2007; 22(3): 224-7.

9. Dehghan G, Shafiee A, Ghahremani MH, Ardestani SK, Abdollahi M. Antioxidant potential of various extracts from *Ferula szovitsiana* in relation to their phenolic contents. Pharm Biol. 2007; 45(9): 1-9.

10. Simone M, de Souza, Franco Delle Monache, Artur Smania Jr. Antibacterial activity of coumarins. Z Naturforsch C. 2005 Sep-Oct; 60(9-10): 693-700.

11. Zarrini G, Rasooli I, Abazari M, Ghasemi Y. Investigation of antimicrobial activity of Cyanobacteria isolated from Urmia lake Catchment area. J Ardebil Med Univ. 2011; 11(4): 329-36.

12. Hamon-Navard S, Bahrami AM, Razmjou M, Asadi-Samani M, Hatami-Lak M. Evaluation of *Nerium oleander* aqueous extract effect on *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermis*. J Shahrekord Univ Med Sci. 2013 Apr, May; 15(1): 46-54.

13. Naseh G, Hassanpour-Fard M, Bodhankar S, Dikshit M. Evaluation of antibacterial activity of fruit juices and whole fruit powder extract of pomegranate and bottle gourd on gram positive and negative bacterias. J Birjand Univ Med Sci. 2011; 17(4): 257-64.

14. Kumar R, Saha A, Saha D. A new antifungal coumarin from *Clausena excavata*. Fitoterapia. 2012; 83(1): 230-3.

15. Ahmad I, Aqil F. In vitro efficacy of bioactive extracts of 15 medicinal plants against ES*β*L-producing multidrug-resistant enteric bacteria. Microbiol Res. 2007; 162(3): 264-75.

Archive of SID

www.SID.ir

Journal of Shahrekord University of Medical Sciences
(J Shahrekord Univ Med Sci) 2014 Feb, March; 15(6): 10-17.

Original article

Phytochemical investigation and antimicrobial, antifungal and synergistic activities of chloroform fractions of the root of *Ferula szovitsiana*

Dehghan GR (PhD)[1]*, Zarini G R (PhD)[1], Hajizadeh M (MSc)[2]
[1] Biology Dept., University Tabriz, Tabriz, I.R. Iran; [2]Biology Dept., Islamic Azad University, Zanjan Branch, Zanjan, I.R. Iran.
Received: 11/May/2013 Revised: 7/Sep/2013 Accepted: 10/Sep/2013

Background and aims: *Ferula szovitsiana* belongs to Umbelliferae family and is an endemic medicinal herb distributed throughout the Iran and Central Asia. The gum obtained from the roots of genus Ferula has been used in folk medicine for the treatment of digestive disorders and rheumatism. In this research, antibacterial and synergistic activities of chloroform fractions of root extract of *Ferula szovitsiana* have been studied.
Methods: In this experimental study, antibacterial, antifungal and synergistic effects of chloroform and methanol extract and active fractions (CEF_1-CEF_{15}) on gram-positive and gram-negative bacteria (concentrations; 0.2-4 mg/ml, the multiple of 2) have been studied using disc diffusion and micro-dilution methods.
Results: The results revealed that the extracts and the fractions had notable anti-microbial effect on the tested microorganism. The mean inhibition zone diameter between 7 to 23 mm was observed for the various fractions of the extract. Between 15 produced fractions, CEF6 has the most significant anti-microbial and anti-fungal effect against *Bacillus subtilis* and *Cryptocccus neoformans* (zone diameters; 15.4 mm and 23.1 mm respectively). Fraction CEF5 has no effect on the growth of microorganisms. Potent synergistic effect of the fractions with Erythromycin and Tetracycline were detected for CEF1, CEF9, CEF10 and CEF11 against Methicilin resistant *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis.*
Conclusion: Results obtained from this study revealed that total extract and fractions from *F. szovitsiana* have anti-bacterial and anti-fungal properties. Species of genus Ferula are rich sources of coumarin compounds with antimicrobial activity against many microorganisms and findings from the present study were based on the same potential of the fractions.

Keyword: **Anti-microbial activity, Chloroform fractions, *Ferula szovitsiana*, Synergistic effects.**

Cite this article as: Dehghan Gh, Zarini Gh, Hajizadeh M. Phytochemical investigation and antimicrobial, antifungal and synergistic activities of chloroform fractions of the root of *Ferula szovitsiana*. J Shahrekord Univ Med Sci. 2014 Feb, March; 15(6): 10-17.

*Corresponding author:
Biology Dept., Tabriz University, Tabriz, I.R. Iran. Tel: 00984113392739, E-mail: dehghan2001d@yahoo.com

www.SID.ir