

*Evaluation of Antibacterial Effect of Ethanolic Extract of *Foeniculum Vulgare* Mill*

Majid Saeedi¹, Mohammad Ali Ebrahimzadeh², Katayoun Morteza-Semnani², Azra Akha³, Khadijeh Rabiei⁴

¹ Department of Pharmaceutics, Faculty of Pharmacy, Pharmaceutical Sciences Research Center Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

² Department of Medicinal Chemistry, Faculty of Pharmacy, Pharmaceutical Sciences Research Center Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

³ Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Traditional and Complementary Medicine Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

⁴ Traditional and Complementary Medicine Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received 14 June, 2010 ; Accepted 21 August, 2010)

Abstract

Background and purpose: Evaluation of medicinal plants has shown potential antimicrobial effects which introduced many drugs with antibiotic properties. As there were controversies about antimicrobial action in the literature, this study evaluates the antibacterial effect of ethanolic (80%) extract of the seeds of *Foeniculum vulgare* plant.

Materials and methods: The disc diffusion method and determination of minimum inhibitory concentration (MIC) of the extract against *Staphylococcus aureus* PTCC 1112, *Bacillus subtilis* PTCC 1023, *Escherichia coli* PTCC 1330, and *Salmonella typhi* PTCC 1639 were employed and Gentamycin and Amikacin were used as standards.

Results: The hydroalcoholic extract of the seeds of *Foeniculum vulgare* showed concentration-dependent antibacterial activity against all tested bacteria. The hydroalcoholic extract was more effective against *E. coli* and less effective on *B. subtilis*. The MICs were 3.2 mg/ml and 12.8 mg/ml for quoted bacteria respectively.

Conclusion: The results concluded that the ethanolic extract of *Foeniculum vulgare* is a potential natural antibacterial agent, however its effect is dependent on the source and extraction method.

Key words: Antibacterial activity, *foeniculum vulgare*, paper disc method, MIC

J Mazand Univ Med Sci 2010; 20(77): 88-91 (Persian)

بررسی اثر ضدباکتری عصاره اتانولی دانه گیاه رازیانه

مجید سعیدی^۱ محمدعلی ابراهیم زاده^۲ کتایون مرتضی سمنانی^۲ عذرا اخی^۳ خدیجه ربیعی^۴

چکیده

سابقه و هدف: بررسی بر روی اثر ضد میکروبی عصاره‌های گیاهی و ترکیبات طبیعی نشان داده است که گیاهان منابع بالقوه‌ای از عوامل ضد عفونت می‌باشند که این امر معرفی ترکیبات جدیدی را بدنبال داشته است. با توجه به اثرات ضد میکروبی گزارش شده متفاوت و گاه متناقض از گیاه رازیانه، اثر ضد باکتری عصاره اتانولی دانه آن بررسی گردید.

مواد و روش ها: پس از تهیه دانه گیاه، عصاره‌گیری به روش خیساندن توسط حلال اتانول ۸۰ درصد انجام شد، سپس عصاره، تغلیظ و خشک گردید. بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره‌های حاصل با روش دیسک کاغذی و روش رقت‌های متوالی در لوله (Serial dilution) بر روی میکروارگانیزم‌های استافیلوکوک ارئوس، باسیلوس سوبتیلیس، اشیریشیاکلی و سالمونلا تیفی و مقایسه با جنتامایسین و آمیکاسین انجام پذیرفت و MIC (حداقل غلظت مهاری) تعیین گردید.

یافته ها: عصاره هیدرو الکلی دانه رازیانه در بررسی به روش انتشار و دیسک کاغذی، تاثیر اندکی بر مهار رشد باسیلوس سوبتیلیس نشان داد و بیشترین اثر مهار رشد بر روی اشیریشیاکلی مشاهده گردید. این نتایج به گونه مشابهی در داده‌های آزمون رقت‌های متوالی در لوله مشاهده گردید. کمترین MIC در مورد اشیریشیاکلی با میزان ۳/۲ میلی گرم بر میلی لیتر و بیشترین MIC در باکتری باسیلوس سوبتیلیس با میزان ۱۲/۸ میلی گرم بر میلی لیتر مشاهده شد.

استنتاج: نتایج حاصل بیانگر اثر ضد باکتری عصاره هیدرو الکلی دانه رازیانه بر روی برخی از میکروارگانیزم‌ها می‌باشد. این نتایج حکایت از تاثیر منطقه رویش گیاه و بویژه نوع عصاره مورد استفاده دارد.

واژه‌های کلیدی: اثر ضد باکتری، رازیانه، روش دیسک کاغذی، حداقل غلظت مهاری

مقدمه

طبیعی در چند دهه اخیر بسیار فراوان می‌باشد از جمله در تحقیقات متعددی اثرات ضد میکروبی گیاهان مختلف به اثبات رسیده است (۱). گیاه رازیانه (*Foeniculum vulgare Mill.*) گیاهی است علفی و معطر از تیره جعفری (*Umbelliferae*) که ظاهری شبیه به شوید با گل‌های چتری زرد رنگ دارد، که دارای

بی شک توسط به گیاهان دارویی کهن ترین رهیافت بشر برای درمان بیماری‌ها بوده است و در خلال توسعه تمامی تمدن‌های بشری همواره ارتباطی تنگاتنگ و نزدیک میان آدمی و گیاه وجود داشته است. با توجه به مقاومت دارویی و عوارض جانبی داروهای آنتی‌باکتریال شیمیایی، رویکرد تحقیقات علمی به منابع

E-mail: majsaeedi @ yahoo.com

مؤلف مسئول: مجید سعیدی - ساری: کیلومتر ۱۸ جاده خزرآباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم، دانشکده داروسازی

۱. گروه فارماسیوتیکس، دانشکده داروسازی و مرکز تحقیقات علوم دارویی دانشگاه علوم پزشکی مازندران

۲. گروه شیمی دارویی، دانشکده داروسازی و مرکز تحقیقات علوم دارویی دانشگاه علوم پزشکی مازندران

۳. گروه داخلی، دانشکده پزشکی و مرکز تحقیقات طب سنتی و مکمل دانشگاه علوم پزشکی مازندران

۴. مرکز تحقیقات طب سنتی و مکمل دانشگاه علوم پزشکی مازندران

تاریخ دریافت: ۸۹/۳/۲۴ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۸۹/۴/۱۵ تاریخ تصویب: ۸۹/۵/۳۰

مصارف خوراکی و درمانی می‌باشد (۲).

بررسی‌های گوناگونی بر روی اثر ضد میکروبی اسانس و عصاره گیاه رازیانه صورت پذیرفته است. در یک مطالعه در ترکیه، بیشترین اثر ضد میکروبی اسانس گیاه فوق بر روی استافیلوکوک طلائی مشاهده شده است (۳). در مقابل در پژوهش دیگری که در پرغال به انجام رسید، فعالیت ضد میکروبی بسیاری کمی برای اسانس گیاه رازیانه گزارش گردید (۴). در مطالعه دیگری که بر روی عصاره رازیانه در ترکیه انجام پذیرفت، فعالیت ضد میکروب کمی برای گیاه گزارش گردید (۵). در گزارش دیگری که بر روی چندین گیاه انجام پذیرفت، اثر ضد باکتری عصاره رازیانه تنها بر روی باسیلوس سرئوس مشاهده گردید (۶). در مطالعه‌ای که در کرمان انجام پذیرفت نیز، اثر عصاره متانولی بر روی باسیلوس سرئوس و استافیلوکوک طلائی گزارش شد (۷). با توجه به تفاوت‌های موجود در خصوص عملکرد ضد میکروبی این گیاه، در این مطالعه به بررسی اثر ضد باکتری عصاره اتانولی ۸۰ درصد میوه رازیانه پرداخته شد.

مواد و روش‌ها

پس از تهیه گیاه (جمع‌آوری شده از اطراف همدان)، عصاره‌گیری دانه به روش خیساندن توسط حلال اتانول ۸۰ درصد صورت پذیرفت. مجموعه توسط کاغذ واتمن شماره ۱ صاف گردید و بخش آلی درخلاء توسط دستگاه تقطیرکننده چرخان حذف گردید. به بخش آبی، به منظور حذف کامل کلروفیل و مواد چربی، کلروفرم اضافه شده و مجموعه ۱۰ دقیقه بهم زده شد. فاز آلی توسط دکانتور جدا شد و فاز آبی در خلاء توسط دستگاه تقطیرکننده چرخان حذف گردید و بدین ترتیب عصاره مورد نظر بدست آمد. بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره حاصل با دو روش دیسک کاغذی و Serial dilution بر روی میکروارگانیزم‌های استافیلوکوک ارئوس PTCC ۱۱۱۲ (*Staphylococcus aureus*)، باسیلوس سوبتیلیس PTCC ۱۰۲۳ (*Bacillus subtilis*)،

اشریشیاکلی PTCC ۱۰۷۴ (*Escherichia coli*)، و سالمونلا تیفی PTCC ۱۶۳۹ (*Salmonella typhi*)، تهیه شده از مرکز پژوهش‌های علمی صنعتی ایران) و مقایسه با جنتامایسین و آمیکاسین و تعیین MIC (حداقل غلظت مهاری) انجام گرفت (۸). در روش دیسک کاغذی، میزان هاله عدم رشد از طریق اندازه‌گیری قطر هاله مطالعه شد و بر این اساس در مقایسه با شاهد منفی (حلال)، MIC تعیین گردید. در این روش از غلظت‌های ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰، ۴۰۰۰ و ۸۰۰۰ میکروگرم بر دیسک استفاده شد. پس از تهیه محیط‌های کشت آغشته به میکروارگانیزم مربوطه، دیسک‌ها در جای مشخص شده قرار گرفت و تاثیر آن بر رشد میکروارگانیزم بررسی و قطر هاله عدم رشد تعیین گردید. در روش رقت‌های مکرر نیز رشد یا عدم رشد میکروارگانیزم در محیط مایع جهت تعیین MIC بکار رفت. در این روش از غلظت‌های ۰/۲، ۰/۴، ۰/۸، ۱/۶، ۳/۲، ۶/۴ و ۱۲/۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر استفاده شد. از جنتامایسین و آمیکاسین بترتیب با غلظت‌های ۵۰ و ۳ میکروگرم در دیسک و غلظت‌های ۱، ۲، ۴، ۸، ۱۶، ۳۲، ۶۴ و ۱۲۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر برای آزمون MIC، به عنوان شاهد مثبت استفاده گردید.

یافته‌ها و بحث

نتایج حاصل از اثر مهار رشد عصاره هیدرو الکلی دانه رازیانه بر باکتری‌های مورد مطالعه در جداول شماره ۱ و ۲ مشاهده می‌گردد. همان‌گونه که در جدول شماره ۱ مشاهده می‌گردد، عصاره دانه رازیانه در بررسی به روش انتشار و دیسک کاغذی، تاثیر اندکی بر مهار رشد باسیلوس سوبتیلیس داشته است و بیشترین اثر مهار رشد بر روی اشریشیاکلی مشاهده گردید. این نتایج به گونه مشابهی در داده‌های جدول شماره ۲ دیده می‌شود. کمترین MIC در مورد اشریشیاکلی با میزان ۳/۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و بیشترین MIC در باکتری باسیلوس سوبتیلیس با میزان ۱۲/۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر مشاهده شد.

بررسی گردید که اثر مهار رشد تنها بر روی باسیلوس سرئوس مشاهده گردید و این عصاره‌ها فاقد اثر مهارکننده رشد بر روی استافیلوکوک طلایی و اشیریشیاکلی بودند (۶). این نتایج حکایت از تاثیر منطقه رویش گیاه و بویژه نوع عصاره مورد استفاده دارد، که بدنبال آن تفاوت در مواد موجود در عصاره را سبب می‌گردد.

جدول شماره ۱: نتایج حاصل از اثر مهار رشد عصاره هیدروالکلی دانه رازیانه بر میکروارگانیسم های مورد مطالعه

| نمونه | غلظت (µg/disc) | قطر هاله عدم رشد (میلی متر) | | |
|-------|----------------|-----------------------------|------------------|--------------------------|
| | | استافیلوکوک ارئوس | باسیلوس سوبتیلیس | اشیریشیاکلی سالمونلاتیفی |
| ۲۵۰ | - | - | ۷/۱۵±۰/۵ | - |
| ۵۰۰ | ۷/۵±۰/۷ | - | ۸/۳±۰/۷۵ | ۷/۹±۰/۵ |
| ۱۰۰۰ | ۹/۱±۰/۱ | - | ۱۱/۴±۰/۱ | ۸/۹±۰/۹ |
| ۲۰۰۰ | ۱۱/۶±۰/۱ | - | ۱۲/۹±۰/۶ | ۱۱/۴±۰/۹ |
| ۴۰۰۰ | ۱۲/۹±۰/۴ | ۷/۴±۰/۴ | ۱۴/۱±۰/۷ | ۱۲/۷±۰/۴ |
| ۸۰۰۰ | ۱۴/۳±۰/۳ | ۸/۲±۰/۵ | ۱۶/۷±۰/۸ | ۱۴/۵±۰/۳ |
| ۵۰ | ۳۷/۳±۰/۲ | ۲۴±۰/۱ | ۳۱/۶±۰/۲ | ۳۱±۰/۳ |
| ۳ | ۱۶/۷±۰/۴ | ۱۹/۹±۰/۳ | ۲۳/۸±۰/۹ | ۱۵/۸±۰/۳ |

جدول شماره ۲: نتایج حاصل از تعیین MIC عصاره هیدروالکلی دانه رازیانه به روش رقت های مکرر (برحسب میلی گرم بر میلی لیتر)

| میکروارگانیسم | ماده مورد آزمایش | | |
|-------------------|------------------|------------|----------|
| | دانه رازیانه | جنتامایسین | آمیکاسین |
| استافیلوکوک ارئوس | ۶/۴ | ۰/۰۰۸ | ۰/۰۰۴ |
| باسیلوس سوبتیلیس | ۱۲/۸ | ۰/۰۳۲ | ۰/۰۰۴ |
| اشیریشیاکلی | ۳/۲ | ۰/۰۱۶ | ۰/۰۰۲ |
| سالمونلاتیفی | ۶/۴ | ۰/۰۳۲ | ۰/۰۰۸ |

سپاسگزاری

بدینوسیله از حمایت مالی حوزه پژوهشی دانشگاه از این طرح تحقیقاتی تشکر می‌گردد.

References

- Morteza-Semnani K, Saeedi M, Mahdavi MR, Rahimi F. Antibacterial studies on extracts of three species of Phlomis, Pharm Biol 2006; 44 (6): 426-429.
- Zargari A. Medicinal Plants, Vol.2, 5th ed. Tehran: Tehran University publication, 1991.
- Soylu S, Soylyu EM, Evrendilek GA. Chemical composition and antibacterial

- activity of essential oils of bitter fennel (*Foeniculum vulgare*) and dill (*Anethum graveolens*) against the growth of food-borne and seed-borne pathogenic bacteria. *Italian J Food Sci* 2009; 21(3): 347-355.
4. Miguel MG, Cruz C, Faleiro L, Simoes MT, Figueiredo AC, Barroso JG, et al. *Foeniculum vulgare* essential oils: chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities. *Natur Prod Commun* 2010; 5(1): 319-328.
 5. Sagdic O, Yasar S, Kisioglu AN. Antibacterial effects of single or combined plant extracts. *Annal Microbiol* 2005; 55(1): 67-71.
 6. Alzoreky NS, Nakahara K. Antibacterial activity of extracts from some edible plants commonly consumed in Asia. *Int J Food Microbiol* 2003; 80: 223-230.
 7. Shahidi Bonjar GH. Antibacterial screening of plants used in Iranian folkloric medicine. *Fitoterapia* 2004; 75(2): 231-235.
 8. Morteza-Semnani K, Saeedi M, Mahdavi MR. Antibacterial studies on extracts of three species of *Glaucium* from Iran. *Pharm Biol* 2005; 43(3): 234-236.
 9. Arora DS, Kaur GJ. Antibacterial activity of some Indian medicinal plants. *J Nat Med* 2007; 61(3): 313-317.
 10. Kaur GJ, Arora DS. Antibacterial and phytochemical screening of *Anethum graveolens*, *Foeniculum vulgare* and *Trachyspermum ammi*. *BMC Complement Alternat Med* 2009; 9(30): 1-10.
 11. Sagdic O, Ozcan M. Antibacterial activity of Turkish spice hydrosols. *Food Contr* 2003; 14(3): 141-143.