Original Article

Antibacterial Effect of Aqueous and Ethanolic Extracts of Humulus Lupulus on Mycobacterium tuberculosis

Behnam Rafiee[1], Davoud Sadeghi[2*], Sepideh Ghani[1], Nader Mosavari[3], Shojaat Dashtipour[3], Seyed Amir Hosseini[2]

[1]Young Researchers & Elite club, Arak Branch, Islamic Azad University, Arak, Iran.

[2]Biology Research Center, Faculty of Basic Sciences, Imam Hossein University, Tehran, Iran.

[3]Livestock Mycobacteria Reference Laboratory, Razi Vaccine & Serum Research Institute, Agricultural Research, Education, & Extension Organization (AREEO), Karag, Iran.

***Corresponding Author:** **Davoud Sadeghi,** Biology Research Center, Faculty of Basic Sciences, Imam Hossein University, Tehran, Iran.

Email: davudsadeghi64@yahoo.com

Received: 8 Jun, 2016

Accepted: 28 Aug, 2016

Abstract

Background and Objectives: Tuberculosis (TB) infectious disease is caused by intracellular pathogen *Mycobacterium tuberculosis* and is one of the major health problems throughout the world. *Humulus lupulus* (hop) is a species of flowering plant of the Cannabaceae family, which have sedative, antioxidant, anti-inflammatory, antimicrobial, and anti-cancer activities. The aim of this study was to evaluate and compare the antimicrobial properties of aqueous and ethanolic extracts of *Humulus lupulus* on *Mycobacterium tuberculosis*.

Methods: In this semi-experimental research, the plant extract was produced by cold maceration method, then its MIC and MBC for *Mycobacterium tuberculosis*, was assessed using serial dilution.

Results: The results were indicative of strong antimicrobial activity of aqueous and ethanolic extracts of *Humulus lupulus* against *Mycobacterium tuberculosis*. The antimicrobial effect of standard strain C was more than standard strain H37RV; The MIC and MBC levels of aqueous extract of *Humulus lupulus* on *Mycobacterium tuberculosis* strains C, were 7.8µg/ml and 15.7µg/ml, respectively. This amount for the ethanol extract of *Humulus lupulus*, was 15.7µg/ml and 31.2µg/ml, respectively.

Conclusion: The findings of this study showed that *Humulus lupulus* extract can be used as antibacterial agent in development of new drugs for the treatment of tuberculosis infectious disease.

Keywords: Humulus; *Mycobacterium tuberculosis*; Plant extracts; Anti-bacterial agents.

مجله دانشگاه علوم پزشکی قم
دوره یازدهم، شماره هشتم، آبان ۹۶
صفحه ۲۲ الی ۲۸

مقاله پژوهشی
(Original Article)

اثر ضدباکتریایی عصاره‌های آبی و اتانولی گیاه رازک بر *مایکوباکتریوم توبرکلوزیس*

بهنام رفیعی[۱]، داود صادقی[۲*]، سپیده غنی[۱]، نادر مصوری[۳]، شجاعت دشتی‌پور[۳]، سیدامیر حسینی[۲]

چکیده

زمینه و هدف: بیماری عفونی سل (TB)، به‌وسیله پاتوژن داخل سلولی *مایکوباکتریوم توبرکلوزیس* ایجاد می‌شود و ازجمله مشکلات بهداشتی عمده در سراسر جهان است. *Humulus lupulus* (رازک)، یک گونه از گیاهان گلدار از خانواده شاهدانگان بوده که دارای خصوصیات آرام‌بخشی، آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی، ضدمیکروبی و ضدسرطانی است. این مطالعه با هدف ارزیابی و مقایسه خواص ضدمیکروبی عصاره‌های آبی و اتانولی گیاه رازک بر روی *مایکوباکتریوم توبرکلوزیس* انجام شد.

روش بررسی: در این پژوهش نیمه‌تجربی، عصاره گیاهی به‌وسیله روش ماسرسیون سرد تولید شد، سپس میزان MIC و MBC آن به روش رقت سریالی در *مایکوباکتریوم توبرکلوزیس* مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج، نشان‌دهنده فعالیت ضدمیکروبی قوی عصاره‌های آبی و اتانولی رازک علیه *مایکوباکتریوم توبرکلوزیس* بود. میزان این تأثیرات ضدمیکروبی در سویه استاندارد C نسبت به سویه استاندارد H37RV، بیشتر بود؛ به‌طوری‌که میزان MIC و MBC ناشی از عصاره آبی رازک بر روی سویه C *مایکوباکتریوم توبرکلوزیس* به ترتیب ۷/۸ میکروگرم برمیلی‌لیتر و ۱۵/۷ میکروگرم برمیلی‌لیتر به دست آمد. این میزان برای عصاره اتانولی رازک معادل ۱۵/۷ میکروگرم برمیلی‌لیتر و ۳۱/۲ میکروگرم برمیلی‌لیتر بود.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد عصاره گیاه رازک می‌تواند به‌عنوان عامل آنتی‌باکتریال جهت توسعه داروهای جدید برای درمان بیماری عفونی سل به‌کار رود.

کلید واژه‌ها: رازک؛ *مایکوباکتریوم توبرکلوزیس*؛ عصاره‌های گیاهی؛ عوامل آنتی‌باکتریال.

[۱]باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد اراک، دانشگاه آزاد اسلامی، اراک، ایران.

[۲]مرکز تحقیقات زیست‌شناسی، دانشکده و پژوهشکده علوم پایه، دانشگاه امام حسین (ع)، تهران، ایران.

[۳]آزمایشگاه رفرانس مایکوباکتریوم‌های بیماریزای دام، مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی (تات)، کرج، ایران.

[*]نویسنده مسئول مکاتبات:
داود صادقی، مرکز تحقیقات زیست‌شناسی، دانشکده و پژوهشکده علوم پایه، دانشگاه امام حسین (ع)، تهران، ایران؛

آدرس پست الکترونیکی:
davudsadeghi64@yahoo.com

تاریخ دریافت:۹۵/۳/۱۸

تاریخ پذیرش:۹۵/۶/۶

لطفاً به این مقاله به‌صورت زیر استناد نمایید:

Rafiee B, Sadeghi D, Ghani S, Mosavari N, Dashtipour Sh, Hosseini SA. Antibacterial effect of aqueous and ethanolic extracts of humulus lupulus on *Mycobacterium tuberculosis*. Qom Univ Med Sci J 2017;11(8):22-28. [Full Text in Persian]

مقدمه

مایکوباکتریوم توبرکلوزیس، باکتری میله‌ای شکل و از خانواده مایکوباکتریاسه می‌باشد. این باکتری عامل بیماری سل بوده که به‌دلیل وجود مقدار زیاد مواد چربی در دیواره آن، به‌سادگی به‌وسیله روش رنگ‌آمیزی گرم رنگ نمی‌گیرد (۱). این باکتری همانند سایر اعضای خانواده مایکوباکتریوم، بسیار کند رشد بوده و زمان تکثیر آن بین ۲۱-۲۰ ساعت است، همچنین دمای رشد آن بین ۳۸-۲۴ درجه سانتیگراد و کلنی‌های آن نیز بر روی محیط کشت لونشتاین- جنسن گلیسیرین‌دار، بعد از ۶-۲ هفته قابل‌مشاهده است (۲). *مایکوباکتریوم توبرکلوزیس*، توانایی تولید بسیاری از عوامل کلاسیک ایجادکننده عفونت مانند توکسین، کپسول و فیمبریا را ندارد و در عین‌حال این باکتری، متفاوت از دیگر باکتری‌های گرم مثبت و منفی، دارای لیپیدها و گلیکولیپیدهای خاص خود می‌باشد. این ترکیبات منحصر به فرد شامل: مایکولیک اسید، لیپوآرابینومانان، تری هالوز دی مایکولات و فیوسرول دی مایکوسروزات هستند (۵-۳). در بیماری سل، معمولاً بی‌توجهی به مصرف صحیح داروها و ناآگاهی بیمار، آن را از یک بیماری صددرصد قابل‌کنترل تبدیل به یک بیماری کشنده می‌کند. در حقیقت، سل مقاوم به دارو یا Extensively Drug Resistance و Multi Drug Resistance در حال تبدیل‌شدن به یک معضل بهداشتی است و در شروع قرن ۲۱ نیز مقاومت دارویی به‌عنوان یکی از عوامل مهم مرگ‌ومیر در بیماران مسلول به شمار می‌آید (۸-۶).

در سالهای اخیر، خصوصیات ویژه دارویی گیاهان و جایگزینی آنها با داروهای شیمیایی، بسیار مدنظر قرار گرفته است. گیاه رازک (*Humulus lupulus*)، گیاهی است که در ایران به‌صورت خودرو رشد می‌کند، متأسفانه تحقیقات زیادی بر روی عصاره‌های آبی و الکلی گلبرگ گیاه رازک برای تعیین ترکیب مؤثر موجود در آن از نظر خواص ضدمیکروبی انجام نشده است؛ ولی مشخص شده ترکیبات مختلفی از قبیل رزین‌ها، بتامیرسن، هومولون، تانن، اسید هموتانیک، مواد پکتینی، املاح پتاسیم، کولین و آسپاراژین در آن وجود دارد (۱۰،۹). گیاه رازک طی قرن‌های متمادی به‌عنوان مسکن، آرام‌بخش، تب‌بر، تنظیم‌کننده عادت ماهیانه زنان، درمان تورم و سختی رحم، کاهش‌دهنده التهابات و عوارض دیابت، بازکننده عروق کبد، طحال و تصفیه‌کننده خون، همچنین درمان بیماری سیفلیس کاربرد داشته است (۱۳-۱۱). علاوه بر این خصوصیات، فعالیت ضدمیکروبی این گیاه به‌خاطر داشتن ترکیبات فنلی و سینئولی علیه باکتری‌های مختلف نیز به اثبات رسیده است. امروزه، فعالیت ضدمیکروبی مؤثر عصاره رازک در شرکت‌های داروسازی بسیاری از کشورها به ثبت رسیده است. بنابراین، طبق مطالعات انجام‌شده، گیاه مذکور دارای خاصیت ضدمیکروبی بالایی بوده که استفاده از عصاره این گیاه می‌تواند به‌عنوان فرآورده‌های ضدمیکروبی در درمان عفونت‌های باکتریایی به‌کار گرفته شود (۱۴). دو ماده شیمیایی ضدعفونت به‌نام‌های هومولون و لوپولون موادی هستند که باکتری‌های مولد فساد در مواد غذایی را از بین می‌برند (۱۵). در این مطالعه اثر ضدمیکروبی عصاره آبی و اتانولی این گیاه برعلیه باکتری عامل بیماری سل (*مایکوباکتریوم توبرکلوزیس*) بررسی گردید.

روش بررسی

در این مطالعه نیمه‌تجربی، از دو سویه *مایکوباکتریوم توبرکلوزیس* C (ATCC35808) و H37RV (ATCC25618) که به‌صورت کشت تازه بر روی محیط اختصاصی جامد لونشتاین- جنسن گلیسیرین‌دار (محیط مناسب جهت رشد *مایکوباکتریوم توبرکلوزیس*) رشد کرده بودند، استفاده شد. این سویه‌ها از مؤسسه واکسن و سرم‌سازی رازی کرج تهیه گردید.

گیاه رازک (*Humulus lupulus*)، از اطراف شهرستان گرگان در فاصله بین ماه‌های اردیبهشت تا تیر، جمع‌آوری و توسط کارشناس گیاه‌شناس، تعیین گونه شد. گلبرگ‌های گیاه مذکور در شرایط سایه، خشک و پس از جداسازی، گلبرگ‌ها آسیاب شده و به پودر تبدیل شدند. سپس ۱۰ گرم پودر خشک گیاه مورد نظر در ۸۰ میلی‌لیتر آب و اتانول به‌طور جداگانه مخلوط شده و عصاره آبی و اتانولی آنها به روش ماسراسیون سرد تهیه گردید (۱۶). قابل‌ذکر است قبل از مرحله رقت‌سازی عصاره‌های گیاهی، با استفاده از فیلتر ۰/۲۲ میکرون، عصاره‌ها استریل و از وجود میکروارگانیسم‌های احتمالی پاکسازی شده و تا زمان استفاده در دمای یخچال نگهداری شدند.

برای به‌دست آوردن وزن مخصوص عصاره، ۵ میلی‌لیتر از عصاره به‌دست‌آمده در یک پلیت خشک شد و وزن عصاره خشک، اندازه‌گیری و درصد عصاره خشک محاسبه گردید (۱۸-۱۶).

در این مطالعه جهت تهیه سوسپانسیون *مایکوباکتریوم توبرکلوزیس*، ۳ -۲ کلنی از کشت ۴ هفته‌ای این باکتری از روی محیط لونشتاین- جنسن گلیسرین‌دار برداشته شد و به ۴ میلی‌لیتر محیط میدل بروک (Middle brook 7H9 Broth) اضافه گردید. سپس چند گلوله شیشه‌ای داخل آن انداخته و به مدت ۲ دقیقه ورتکس انجام شد.

در ادامه، سوسپانسیون به مدت ۳۰ دقیقه به حال خود گذاشته شد، سپس به لوله‌های درپیچ‌دار منتقل گردید. کدورت حاصله برابر ۱ مک‌فارلند (۳×۱۰^{۸}CFU/ml) بود که ۱۰۰۰ بار با محیط میدل بروک، رقیق شد و سوسپانسیون میکروبی با غلظت نهایی (۳×۱۰^{۵}CFU/ml) به دست آمد. در مرحله بعد، در داخل لوله‌های درپیچ‌دار، مقدار ۱۰ میلی‌لیتر محیط میدل بروک براث غنی‌شده با OADC (Oleic Acid Albumin Dextrose Catalase) در ۱۰ لوله آزمایش ریخته شد و پس از آن مقدار ۱۰ میلی‌لیتر از عصاره‌های آبی و اتانولی (با غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر) به‌طور جداگانه به روش رقت سریالی به لوله شماره یک اضافه گردید، پس از مخلوط کردن آنها، مقدار ۱۰ میلی‌لیتر از لوله اول به لوله دوم و به‌همین ترتیب رقت‌سازی تا لوله آخر انجام گرفت.

در ادامه، مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون میکروبی به هر لوله، اضافه و به مدت ۴ هفته در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد (۱۰-۵٪ گاز CO_2) در انکوباتور CO_2دار قرار گرفت. در مرحله بعدی با توجه به نتایج حاصل برای MIC، میزان MBC عصاره‌ها با استفاده از کشت سطحی روی محیط جامد لونشتاین- جنسن گلیسرین‌دار به‌دست آمد؛ به‌طوری‌که برای دقت بیشتر، از تمام لوله‌های رقت سریالی در پایان مرحله اندازه‌گیری، بر روی محیط جامد لونشتاین- جنسن گلیسرین‌دار کشت داده و به مدت ۴ هفته در ۳۷ درجه سانتیگراد گرماگذاری شدند (۲۰-۱۸).

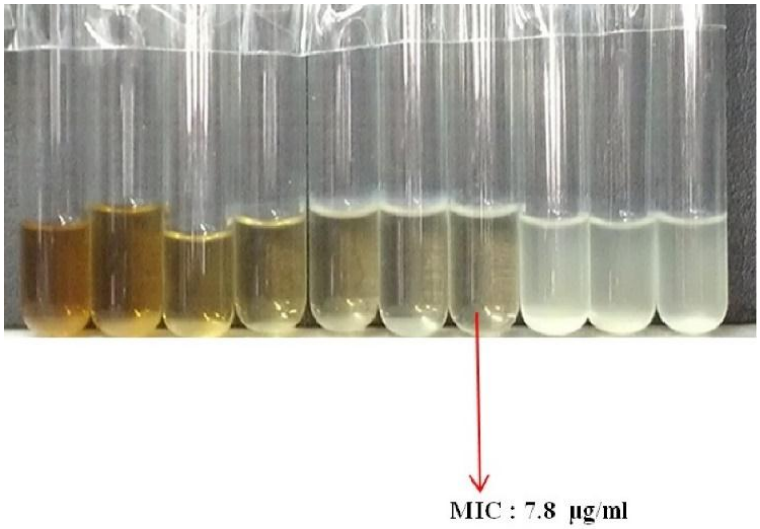
یافته‌ها

در این مطالعه جهت تهیه عصاره گیاه رازک، از روش ماسراسیون سرد استفاده شد. از مزایای این روش، تهیه یک عصاره گیاهی با میزان مواد مؤثره یکنواخت بدون نیاز به دستگاه‌ها و ابزار پیچیده می‌باشد. پس از تهیه عصاره گیاه رازک، به روش رقت سریالی، کمترین غلظت مهارکنندگی (MIC) و کمترین غلظت کشندگی (MBC) این عصاره در ارتباط با *مایکوباکتریوم توبرکلوزیس* به دست آمد و مشخص گردید عصاره آبی رازک، اثر آنتی‌باکتریال قوی‌تری علیه باکتری *مایکوباکتریوم توبرکلوزیس* در مقایسه با عصاره اتانولی این گیاه دارد. همچنین سویه *مایکوباکتریوم توبرکلوزیس* H37RV، مقاومت بیشتری نسبت به عصاره‌های فوق در مقایسه با سویه C این باکتری از خود نشان داد (جدول).

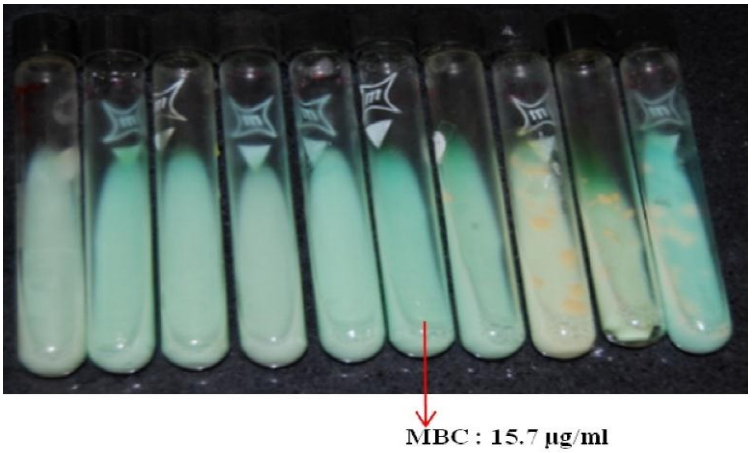
جدول: نتایج حاصل از بررسی میزان MIC و MBC عصاره‌های آبی و اتانولی گیاه رازک بر روی سویه‌های C و H37RV *مایکوباکتریوم توبرکلوزیس* برحسب میکروگرم برمیلی‌لیتر

عصاره گیاهی / سویه *مایکوباکتریوم توبرکلوزیس*	MIC عصاره آبی	MBC عصاره آبی	MIC عصاره اتانولی	MBC عصاره اتانولی
C strain	۷/۸	۱۵/۷	۱۵/۷	۳۱/۲
H37RV strain	۱۵/۷	۳۱/۲	۳۱/۲	۱۲۵

در شکل شماره ۱، MIC ناشی از عصاره آبی گیاه رازک بر *مایکوباکتریوم توبرکلوزیس* (سویه C) در محیط کشت مایع میدل بروک و در شکل شماره ۲، MBC ناشی از عصاره آبی گیاه رازک بر روی *مایکوباکتریوم توبرکلوزیس* (سویه C) بر روی محیط کشت جامد لونشتاین- جنسن گلیسرین‌دار نشان داده شده است.



شکل شماره ۱: MIC ناشی از عصاره آبی گیاه رازک بر روی *مایکوباکتریوم توبرکلوزیس* (سویهC) در محیط کشت مایع میدل بروک.



شکل شماره ۲: MBC ناشی از عصاره آبی گیاه رازک بر روی *مایکوباکتریوم توبرکلوزیس* (سویهC) بر روی محیط کشت جامد لونشتاین- جنسن گلیسیرین‌دار.

بحث

یکی از مباحثی که امروزه در مبحث بهداشتی برای باکتری سل مدنظر است، مسئله مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری سل نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های رایج می‌باشد که پژوهش جهت به دست آوردن مواد ضدمیکروبی علیه این باکتری و دیگر باکتری‌ها از منابعی مانند گیاهان، امری ضروری به‌نظر می‌رسد (۲۱). تا به حال تحقیقات گسترده‌ای از اثرات ضدمیکروبی عصاره‌های گیاهان بر روی باکتری‌های مختلف در دنیا، به‌خصوص کشور ایران صورت گرفته است، ولی مطالعات اندکی بر روی اثرات ضدمیکروبی عصاره گیاهان بر روی باکتری *مایکوباکتریوم توبرکلوزیس* عامل بیماری سل انجام شده که این موضوع می‌تواند به‌علت خطرات ناشی از تحقیق بر روی این باکتری، رشد بسیار کند، شرایط نگهداری متفاوت نسبت به دیگر باکتری‌ها و هزینه‌های بالای تحقیقات باشد. در این مطالعه از عصاره‌های آبی و اتانولی گیاه رازک با غلظت‌های سریالی استفاده شد تا اثرات ضدمیکروبی این عصاره بر روی باکتری *مایکوباکتریوم توبرکلوزیس* بررسی گردد. مطالعه بر روی دو سویه باکتری سل نشان داده است میزان MIC و MBC برای سویه‌های مختلف، متفاوت است. همچنین عصاره‌های آبی، اثر ضدمیکروبی قوی‌تری در مقایسه با عصاره‌های اتانولی داشته‌اند که این می‌تواند از خصوصیات شیمیایی و میزان قطبیت حلال با توجه به ترکیبات موجود در گیاه رازک ناشی گردد. تحقیقات نشان داده‌اند ماده مؤثره رازک از ترکیبات آلفارزینی و بتارزینی به‌نام هومولون و لوپولون تشکیل شده که خاصیت ضدمیکروبی دارند و ترکیب بتا اسیدهای

موجود در عصاره گیاه رازک به‌میزان ppm۵۰-۶ می‌تواند رشد *لیستریا منوسایتوژنز* را متوقف کند. سفیدگر و همکاران (سال ۱۳۹۴) در مطالعه‌ای با مقایسه اثر ضدمیکروبی عصاره‌های آبی و اتانولی گیاه رازک بر روی چند سویه ازجمله سویه *کاندیدا آلبیکانس* با عصاره بلوط، نشان دادند عصاره رازک دارای اثر ضدمیکروبی قوی‌تری نسبت به عصاره گیاه بلوط می‌باشد (۲۲). همچنین در تحقیق کرمانشاهی و همکاران از عصاره اتانولی رازک استفاده شد که مشخص گردید عصاره اتانولی گیاه مذکور روی *سودوموناس آئروژینوزا* و *اشرشیاکلی* اثر قابل‌ملاحظه‌ای ندارد، ولی اثر این عصاره بر روی *استافیلوکوکوس اورئوس* و *باسیلوس سوبتیلیس* قابل‌توجه بود (۱۶). در تحقیق Haas و همکاران (سال ۲۰۰۳)، بررسی ارتباط اثر عصاره رازک بر *استرپتوکوکوس موتانس* و سایر استرپتوکوک‌های دهانی نشان داد عصاره رازک با غلظت ۵۰-۲ میکروگرم برمیلی‌لیتر با روش MIC از رشد این میکروارگانیسم‌ها جلوگیری می‌کند (۲۳).

همچنین ایمانی فولادی و همکاران در تحقیقی با بررسی اثرات ضدباکتریایی سیر بر روی *مایکوباکتریوم توبرکلوزیس* نشان دادند پس از مجاورت عصاره سیر با مایکوباکتریوم‌ها در طی ۲۴ ساعت و مجاورت سویه استاندارد H37RV با ۴ آنتی‌بیوتیک در غلظت‌های مختلف عصاره سیر، این باکتری نسبت به تمامی آنها حساس می‌شود (۲۴). همچنین Stavri و همکاران نشان دادند رازک بر روی مایکوباکتریوم‌های سریع‌الرشد مانند *مایکوباکتریوم فورتوئیتوم*، اثرات ضدباکتریایی دارد (۲۵).

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به‌دست‌آمده در تحقیق حاضر، مشخص گردید عصاره گیاه رازک دارای قابلیت ضدمیکروبی خوبی علیه هر دو سویه باکتری استاندارد *مایکوباکتریوم توبرکلوزیس* می‌باشد. این مطلب نویدبخش آن است که می‌توان از عصاره این گیاه علیه سویه‌های *مایکوباکتریوم توبرکلوزیس* که نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های رایج مقاوم هستند، استفاده کرد.

References:

1. Mortal M, Rep W, Rep R. Targeted tuberculin testing and treatment of latent tuberculosis infection. Am J Respir Crit Care Med 2000;161(4 Pt 2):S221-47.
2. Kerr J. Manual of clinical Micobiology. 8th ed. Washington D.C: ASM press; 2003. p. 532-59. (Vol 1)
3. Seelig J. Thermodynamics of lipid-peptide interactions. Biochim Biophys Acta 2004;1666(1-2):40-50.
4. Killian JA. Synthetic peptides as models for intrinsic membrane proteins. FEBS Lett 2003;555(1):134-38.
5. Renshaw PS, Lightbody V, Veverka FW, Muskett FW, Kelly G, Frenkiel TA, et al. Structure and function of the complexformed by the tuberculosis virulence factors CFP-10 and ESAT-6. EMBO J 2005;24(14):2491-8.
6. Espinal MA, Laszlo A, Simonsen L, Boulahbal F, Kim SJ, Reniero A, et al. Global trends in resistance to antituberculosis drugs. N Engl J Med 2001;344(17):1294-303.
7. Fleischmann RD, Alland D, Eisen JA, Carpenter L, White O, Peterson J, et al. Whole-genome comparison of mycobacterium tuberculosis clinical and laboratory strains. J Bacteriol 2002;184(19):5479-90.
8. Jassal M, Bishai WR. Extensively drugresistant tuberculosis. Lancet Infect Dis 2009;9(1):19-30.
9. Tahmasebi P, Farnia P, Sheikholslami FM, Velayati AA. Rapid identification of extensively and extremely drug resistant tuberculosis from multidrug resistant strains; using PCR-RFLP and PCR-SSCP. Iran J Microbiol 2012;4(4):165–70.

10. Khosravi A, Malecan M. Effects of lavandula stoechas extracts on staphylococcus aureus and other gram negative bacteria. J Qazvin Univ Med Sci 2004;29:3-9. [Full Text in Persian]

11. Van Cleemput M, Cattoor K, De Bosscher K, Haegeman G, De Keukeleire D, Heyerick A.. Hop (Humulus lupulus)-derived bitter acids as multipotent bioactive compounds. J Nat Prod 2009;72(6):1220-30.

12. Hosseini SE. Effect of Aalcoholic Extract of Hop Flowers on Serum Level Pituitary-Thyroid Hormones in Adult Male Rats. J Birjand Univ Med Sci 2014;21(4):425-31. [Full Text in Persian]

13. Ghasemi Dehkordi NL, Ebrahimi S, Ganadi AR, Amenzadeh Y, Azadbakht MR, et al. Iranian Herbal Pharmacopoeia (IHP). 2003;6(3):63-70. [Full Text in Persian]

14. Collie ME, Higgins JC. Hope for hops? Arch Intern Med 2002;162(3):364-5.

15. Nojafi A, Khakpour S, Hadipour Jahromy M. Antibacterial effects of Humulus lupulus L. extract on topical Staphylococcal infection in Balb/C mice cornea. 14th International Congress Infection Disease (ICID) Abstracts. Elsevier Ltd Pub; 2010.

16. Kermanshahi R, Nasr Esfahani B, Pour babaie A, Asghari G, Esmi Serkani J. The study of antibacterial effect of Humulus lupulus on some of gram positive & gram negative bacteria. J Med Plants 2009;2(30):92-7. [Full Text in Persian]

17. Shapouri R, Rahnema M. Evaluation of antimicrobial effect of hops extracts on intramacrophages Brucella abortus and B, melitensis. Repository Res Invest Inf (Ahvaz Jundishapur Univ Med Sci) 2011;4(5):51-8.

18. Eloff JN. Which extracting should be used for the screening and isolation of antimicrobial component from plants? J Ethnopharmacol 1998;60(1):1-8.

19. Esmi Serkani J, Isfahani BN, Safaei HGh, Kasra Kermanshahi R, Asghari G. Evaluation of the effect of Humulus lupulus alcoholic extract on rifampin-sensitive and resistant isolates of Mycobacterium tuberculosis. Res Pharm Sci 2012;7(4):235–42.

20. Chimponda T, Mukanganyama S. Antimycobacterial activities of selected medicinal plants from Zimbabwe against Mycobacterium aurum and Corynebacterium glutamicum. Trop Biomed 2010;27(3):595-610.

21. Neu HC. The crisis of antibiotic resistance. Science 1992;257(5073):1064-73.

22. Sefidgar AA, Taghizadeh Armaki M, Pournajaf A, Ardebili A, Omidi S, Abdian Asl A. Evaluation of antimicrobial activity of alcoholic and aqueous extracts from common hop (Humulus lupulus) and oak (Quercus castaneifolia). Arak Med Univ J 2015;17(93):39-46. [Full Text in Persian]

23. Bhattacharya S, Virani S, Zavro M, Haas GJ. Inhibition of Streptococcus mutans andother oral streptococci by Hope (Humulus lupulus) constituents. Econ Bot 2003;57(1):118-25.

24. Imani Fouladi AA, Sattari M, Ghazi Saeedi K. Morphologic changes of Mycobacterium tuberculosis after exposure with choloformic garlic extract. J Gorgan Univ Med Sci 2008;10(3):11-18. [Full Text in Persian]

25. Stavri M, Schneider R, O'Donnell G, Lechner D, Bucar F, Gibbons S. The antimycobacterial components of hops (Humulus lupulus) and their dereplication. Phytother Res 2004;18(9):774-6.