

## Evaluating the chemical composition of the essential oil obtained from the vegetative and reproductive organs and an antimicrobial activity of essential oil and extract of two *Salvia* species in Kashan region

Batooli H<sup>1\*</sup>, Safaei-Ghomi J<sup>2</sup>, Haghiri-Ebrahim-Abadi A<sup>3</sup>, Masoomi R<sup>4</sup>

1- Isfahan Research Center of Agriculture and Natural Resources, Kashan Botanical Garden, Kashan, I. R. Iran.

2- Faculty of Chemistry, Kashan University, Kashan, I. R. Iran.

3- Institute of Essential Oils, Kashan University, Kashan, I. R. Iran.

4- Ph.D. Student of Chemistry, Faculty of Chemistry, Kashan University, Kashan, I. R. Iran.

Received October 23, 2011; Accepted October 4, 2012

### Abstract:

**Background:** Different species of *Salvia* L. genus were used for disinfection and blood glucose regulation in traditional and modern medicine. This study aimed to evaluate the chemical compositions of the essential oils of *S. sclarea* L. and *S. reuterana* Boiss. and their antimicrobial properties.

**Materials and Methods:** The species collected from the heights of Kashan mountains were dried. Volatile fractions were isolated by simultaneous distillation-extraction technique. The analysis of the essential oils was performed using the GC and GC-MS. The in-vitro antimicrobial activities against 10 bacterial strains were evaluated using the disk diffusion and micro-well dilution techniques.

**Results:** Twenty-nine and 12 compositions were identified in leaves and flowers of the essential oil of *S. sclarea*, respectively. Twenty-six compositions were identified in leaves and 31 in flowers of the essential oil of *S. reuterana*. The *S. sclarea* L. essential oil showed the highest sensitivity against *Proteus vulgaris*. Moreover, the lowest concentration of *S. reuterana* essential oil was highly effective in inhibiting the growth of *Candida albicans*. *A. niger* was the most resistant microbes against the extract of flowers and leaves of the two species of the essential oils. *Staphylococcus aureus* was highly resistant to the essential oil and extract of flowers and leaves of *S. sclarea* and also the essential oil of flowers and leaves of *S. reuterana*, but it showed sensitivity to the extract of flowers and leaves of *S. reuterana*.

**Conclusion:** Considering the relatively high antimicrobial activities of the species, the effective compounds in the flowers can be used for antibacterial purposes.

**Keywords:** *S. sclarea* L., *S. reuterana* Boiss., Essential oil, Antimicrobial, Chemical compositions

\* Corresponding Author.

Email: Ho\_Batooli@yahoo.com

Tel: 0098 913 361 1281

Fax: 0098 361 423 4999

Conflict of Interests: No

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences January, 2013; Vol. 16, No 6, Pages 536-545

Please cite this article as: Batooli H, Safaei-Ghomi J, Haghiri-Ebrahim-Abadi A, Masoomi R. Evaluating the chemical composition of the essential oil obtained from the vegetative and reproductive organs and an antimicrobial activity of essential oil and extract of two *Salvia* species in Kashan region. *Feyz* 2013; 16(6): 536-45.

# بررسی ترکیب شیمیائی اسانس اندام‌های رویشی و زایشی و خاصیت ضد میکروبی اسانس و عصاره دو گونه از جنس مریم گلی (*Salvia L.*) منطقه کاشان

حسین بتولی<sup>۱\*</sup>، جواد صفائی قمی<sup>۲</sup>، عبدالرسول حقیر ابراهیم آبادی<sup>۳</sup>، ریحانه معصومی<sup>۴</sup>

## خلاصه:

سابقه و هدف: گونه‌های مختلف جنس مریم‌گلی در طب سنتی و نوین به‌عنوان ضد عفونی‌کننده و تنظیم‌کننده قند مورد استفاده قرار می‌گیرند. هدف از این تحقیق، بررسی ترکیب شیمیائی اسانس مریم‌گلی کبیر و مریم‌گلی اصفهانی و ارزیابی ویژگی‌های ضد میکروبی آنها می‌باشد.

مواد و روش‌ها: گونه‌های یاد شده، از ارتفاعات کوهستانی کاشان، جمع‌آوری و خشک شدند. اسانس‌گیری به روش استخراج و تقطیر با بخار هم‌زمان با حلال آلی انجام شد. اجزای اسانس با استفاده از دستگاه‌های کروماتوگرافی گازی (GC) و کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC/MS)، به روش مقایسه‌ای (Match index) آنالیز و شناسائی شدند. فعالیت ضد میکروبی گیاهان در شرایط برون‌تنی بر روی ۱۰ سویه میکروبی به دو روش دیسک‌دیفیوژن و میکرودايلوشن مورد ارزیابی قرار گرفتند.

نتایج: ۲۹ ترکیب در اسانس برگ‌ها و ۱۲ ترکیب در اسانس گل‌های مریم‌گلی کبیر شناسائی شد. ۲۶ ترکیب در اسانس برگ‌ها و ۳۱ ترکیب در اسانس گل‌های مریم‌گلی اصفهانی شناسائی شدند. اسانس گل‌های مریم‌گلی کبیر دارای بیشترین حساسیت بر علیه رشد باکتری *Proteus vulgaris* نشان داد. هم‌چنین، کمترین غلظت اسانس گل‌های مریم‌گلی اصفهانی، بیشترین تاثیر بر مهار مخمر *Candida albicans* داشت. مقاوم‌ترین میکروب‌ها در برابر اسانس و عصاره برگ‌ها و گل‌های دو گونه، قارچ *A. niger* بود. مقاومت باکتری *S. aureus* در برابر تاثیر اسانس و عصاره برگ‌ها و گل‌های مریم‌گلی کبیر و اسانس برگ‌ها و گل‌های مریم‌گلی اصفهانی بالا بود، ولی نسبت به عصاره گل‌ها و برگ‌های مریم‌گلی اصفهانی، حساسیت نشان داد.

نتیجه‌گیری: با توجه به اثرات ضد میکروبی نسبتاً بالای عصاره دو گونه، می‌توان از مواد موثره گل‌های این گیاهان به‌عنوان آنتی‌باکتریال استفاده نمود.

واژگان کلیدی: مریم‌گلی کبیر، مریم‌گلی اصفهانی، اسانس، ضد میکروبی، ترکیب‌های شیمیائی

دوماه‌نامه علمی-پژوهشی فیض، دوره شانزدهم، شماره ۶، بهمن و اسفند ۱۳۹۱، صفحات ۵۴۵-۵۳۶

## مقدمه

بنابراین بر حسب نوع و درصد اجزای تشکیل‌دهنده اسانس، در صنایع مختلف داروئی، بهداشتی، آرایشی و غذایی متفاوت به‌مصرف می‌رسند. اغلب گونه‌های متعلق به جنس مریم‌گلی، به‌صورت گیاهانی بوته‌ای چوبی و علفی بوده که دارای اندام‌های هوایی بسیار معطر می‌باشند. برگ‌ها، کامل یا دارای تقسیمات شانه‌ای هستند. گل‌آذین گرز متراکم و دارای گل‌هائی با کاسه پایا، جام دو لبه، تعداد پرچم دو عدد و میوه فندقه لعاب‌دار هستند [۴]. پزشک یونانی "دیاسکورید" از جوشانده گیاه *S. officinalis* داروئی جهت ضد عفونی‌کننده و بندآورنده خونریزی زخم‌ها به‌کار برده است [۵]. از برگ‌های گونه *S. officinalis* در تهیه داروهای تقویتی، ضد تشنج و به‌عنوان ضد عفونی‌کننده و تنظیم‌کننده قند خون استفاده می‌شود. اسانس سرشاخه‌های گل‌دار این گیاه، به‌واسطه داشتن رایحه تند، به‌عنوان معطرکننده صابون در صنایع عطرسازی کاربرد دارد [۵]. اندام‌های هوایی گونه *S. sclarea* به‌عنوان نیرودهنده و ضد تشنج توصیه شده است. سرشاخه‌های گل‌دار این گیاه جهت معطر ساختن و خوش طعم کردن شراب‌های طبی به‌کار می‌رود. اسانس حاصل از گیاه مریم‌گلی کبیر در عطرسازی و تهیه

گیاهان متعلق به خانواده نعنائیان (Labiatae) اهمیت زیادی از لحاظ کاربرد در صنایع آرایشی، غذایی و داروئی دارند [۱]. جنس مریم‌گلی (*Salvia L.*) یکی از جنس‌های بزرگ خانواده نعنائیان محسوب می‌شود که بالغ بر ۷۰۰ گونه از این جنس در جهان [۲] و ۵۸ گونه از ایران گزارش شده‌اند [۳]. گونه‌های مختلف جنس مریم‌گلی از لحاظ میزان اسانس و ترکیب‌های تشکیل‌دهنده آنها، تنوع زیادی دارند.

<sup>۱</sup>استادیار پژوهش، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان-باغ گیاه‌شناسی کاشان

<sup>۲</sup>استاد، دانشکده شیمی، دانشگاه کاشان

<sup>۳</sup>دانشیار، پژوهشکده اسانس‌های طبیعی، دانشگاه کاشان

<sup>۴</sup>دانشجوی دکتری شیمی، دانشکده شیمی، دانشگاه کاشان

\*نشانی نویسنده مسئول:

کاشان، میدان بسیج، جنب هلال احمر، ایستگاه تحقیقات مناطق خشک و بیابانی کاشان، باغ گیاه‌شناسی کاشان

تلفن: ۰۹۱۳ ۳۶۱۱۲۸۱ دورنویس: ۰۳۶۱ ۴۲۳۴۹۹۹

پست الکترونیک: ho\_batooli@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۰/۸/۱ تاریخ پذیرش نهایی: ۹۱/۷/۱۳

بررسی‌ها نشان داده‌اند، فعالیت ضداکسیدانی عصاره متانولی برگ برخی از گونه‌های جنس مریم‌گلی، نظیر *Salvia leriifolia*، با ضداکسیدان تجاری BHT و آلفا-توکوفرول برابری می‌کند [۲۲]. بر طبق بررسی‌های انجام گرفته، فعالیت ضداکسیدان عصاره ریشه گیاه نوروژک (*Salvia leriifolia*)، در غلظت‌های ۰/۱، ۰/۱۵ و ۰/۲ درصد، بالاتر از BHT و غلظت ۰/۲ درصد آلفا-توکوفرول است. خاصیت ضداکسیدانی قوی موجود در دانه گیاه نوروژک نیز به اثبات رسیده است [۲۳]. وجود برخی از ترکیب‌های فنلی نظیر شالکون‌ها در ریشه و برگ گیاه نوروژک گزارش شده است [۲۳]. شالکون‌ها از پتانسیل ضداکسیدانی بسیار بالایی برخوردارند [۲۴]. وجود چندین سسکوئی‌ترین در اسانس گیاه مریم‌گلی به اثبات رسیده است که این ترکیب‌ها عبارتند از: 2R, 5E)-2,12-epoxycaryophyll-5-en (2R, 5E)-Caryophyll-5-en-12-epoxycaryophyll-5-en، Isospathulenol، 5E)-caryophyll-5-en-12-al و 2S.al Salvia-4(14)-en- و 1R, 5R)-1,5-epoxysalial-4(14)-en 1-one [۲۵]. هم‌چنین، بر اساس تحقیقی که روی عصاره استونی گیاه *S. sclarea* صورت گرفت، چندین دی‌ترپنوئید در این گونه شناسایی شد که عبارتند از: Manool، Sclareol، Salvipisone، 2,3-7-oxoroleanone، Ferruginol، Candidissiol، dehydrosalvipisone و 7-oxoferruginol. افزون بر این، سسکوئی‌ترینوئیدهای موجود در این گیاه عبارتند از: amyrin Alpha-Spathulenol، Caryophyllene oxide و Beta-sitosterol بودند. فلاونوئیدهای موجود در این گیاه عبارتند از: 4-methylapigenin، Luteolin، Apigenin، 6-hydroxy 6-methylether 6-hydroxyluteolin-6,7,3,4-tetra methyl ether apigenin-7,4-dimethyl ether [۲۶]. فعالیت ضد میکروبی دی‌ترپنوئیدها و سسکوئی‌ترینوئیدهای این گیاه روی چندین باکتری مورد آزمایش قرار گرفت که مشخص گردید این ترکیب‌ها عمدتاً عبارتند از: 2,3-dehydrosalvipisone، 7-oxoroleanone، Caryophyllenoxide و Manool، Sclareol. افزون بر این مطالعات نشان داده، ترکیب‌های یاد شده در برابر باکتری‌های *Candida albicans*، *Proteus mirabilis* و *Staphylococcus aureus* فعال بودند [۲۶]. خاصیت ضد میکروبی اسیدفنولیک [۲۷]، پلی‌فنول‌ها [۲۸]، فلاونوئیدها [۲۹] و دی‌ترپنوئیدهای [۳۰] گیاهان مختلف گزارش شده است. در تحقیق حاضر، میزان اسانس و ترکیب‌های تشکیل‌دهنده و اثرات ضد میکروبی اسانس و عصاره دو گونه از جنس مریم‌گلی که در ارتفاعات کوهستانی کرکس کاشان رویش دارند، مورد بررسی قرار گرفته‌اند. گونه مریم‌گلی کبیر (*S. sclarea* L.)، به‌صورت گیاهی

ادکلن کاربرد فراوان دارد [۱]. اجزای اصلی اسانس گیاه *S. reuterana*، ترانس-بتا-اوسیمین، آلفا-گورجنون، ژرماکرن-D، بتا-کاریوفیلین، بی‌سیکلوژرماکرن و اسپاتولنول هستند [۱۱-۶]. بیشترین ترکیب‌های اسانس گونه *S. sclarea*، لینالیل استات، لینالول، آلفا-تریپتول، ژرماکرن-D، بتا‌کاریوفیلین، بی‌سیکلوژرماکرن، اسکالارنول، لینالول و ژرانیل استات بودند [۱۵-۱۲]. فعالیت ضد میکروبی گیاه *S. sclarea*، منطقه ترکیه نشان داد، عصاره متانولی این گیاه بر روی ۹ سویه میکروبی تأثیر داشت [۱۵]. خاصیت ضد میکروبی اسانس سه گونه *S. sclarea*، *S. verticillata*، *S. multicaulis* بر روی ۱۱ سوش میکروبی، دارای اثرات ضد میکروبی متوسط تا بالایی را نشان دادند [۱۱]. فعالیت ضد میکروبی دو گونه *S. limbata* و *S. sclarea* رویش یافته در ترکیه نشان داد، اسانس گونه *S. limbata* نسبت به گونه *S. sclarea*، خاصیت ضد میکروبی بیشتری دارد [۱۶]. خاصیت ضدباکتریایی اسانس برگ، ساقه و گل‌های گیاه مریم‌گلی اصفهانی بر روی هفت سوش باکتری اثرات مطلوبی را نشان دادند [۹]. اغلب گیاهان متعلق به خانواده نعنائیان، بسیار غنی از ترکیب‌های فنلی هستند که خاصیت ضداکسیدانی پلی‌فنلی آنها به اثبات رسیده است. ترکیب‌های فنلی که در عصاره گونه‌های مختلف جنس مریم‌گلی گزارش شده‌اند، عبارتند از: Rosmarinic acid، Rosmanol، Salvianolic acid، Carnosic acid، Rosmadial، Epirosmanol و Methylcarnosate [۱۷]. باتوجه به مطالعات انجام گرفته در مورد ترکیب‌های اصلی اسانس گونه‌های مختلف جنس مریم‌گلی، مهمترین سسکوئی‌ترین‌های گزارش شده در اسانس گونه‌های این جنس، ترکیب‌هایی نظیر ژرماکرن-D، اسپاتولنول، ژرماکرن-B، بتا-کاریوفیلین، کاریوفیلین اکساید، بی‌سیکلوژرماکرن و ایزواسپاتولنول می‌باشند [۱۱-۱۶، ۱۴، ۱۳، ۶]. شاخص‌ترین مونوترپن‌های موجود در اسانس گونه‌های مختلف این جنس متعلق به ترکیب‌های فلاتندن، سایپین، آلفا و بتا-پینین، ترانس-بتا-اوسیمین، لیمونن، لینالیل استات، لینالول، آلفا-تریپتول و ژرانیل استات است [۱۵، ۱۴، ۱۲، ۹، ۸، ۶]. مهمترین دی‌ترپنوئیدهای موجود در برخی از گونه‌های جنس مریم‌گلی، ترکیب‌هایی نظیر فروژنیول، سالوی‌پسون، اتیوپی‌نون و ۱-اکسالاتیوپی‌نون می‌باشند که اثرات ضد میکروبی مناسبی را نشان داده‌اند [۱۸]. فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها از مهمترین ترکیب‌های ضداکسیدانی هستند که نه تنها رادیکال‌های آزاد را از بین می‌برند، بلکه از تولید بیشتر آنها در گیاه جلوگیری می‌کند [۱۹]. پلی‌فنل‌هایی نظیر کومارین و فلاونوئیدهای هم‌چون داروهای ضدالتهابی غیراستروئیدی در آزمون‌های التهابی حاد (تست کاراجینان) عمل می‌کنند [۲۰]. فلاونو-ئیدها به لحاظ ساختار فنلی، توانایی ضداکسیدانی بالایی دارند [۲۱].

استفاده از طیف‌های جرمی ترکیب‌های استاندارد و استفاده از اطلاعات موجود در کتابخانه‌های مختلف تأیید گردید. درصد نسبی هر کدام از ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس‌ها با توجه به سطح زیر منحنی آن در طیف کروماتوگرام به‌دست آمد و با مقادیری که در منابع مختلف با در نظر گرفتن اندیس کواتس منتشر شده، مقایسه گردید [۳۵-۳۷].

ج- مشخصات دستگاه‌های مورد استفاده:

۱- گاز کروماتوگرافی (GC):

برای کروماتوگرافی گازی، دستگاه GC مدل HP-6890 مجهز به شناساگر FID و ستون کاپیلاری HP-5MS به طول ستون ۳۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر که ضخامت لایه فاز ساکن در آن ۰/۲۵ میکرومتر، به‌کار گرفته شد. برنامه‌ریزی حرارتی ستون از ۶۰ درجه سانتی‌گراد شروع شد و پس از سه دقیقه توقف در همان دما، به-تدریج با سرعت ۶ درجه در دقیقه افزایش یافته تا به دمای ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد رسید. دمای شناساگر و محفظه تزریق ۲۹۰ درجه سانتی‌گراد بوده است. گاز حامل هلیوم با درجه خلوص ۹۹/۹۹۹ درصد مورد استفاده قرار گرفت. سرعت جریان گاز حامل ۱ میلی‌متر بر دقیقه بود.

۲- گاز کروماتوگرافی متصل‌شده به طیف‌سنج جرمی (GC/MS):

برای طیف GC/MS از دستگاه گاز کروماتوگراف متصل‌شده به طیف‌سنج جرمی مدل HP-6890 مجهز به شناساگر طیف‌سنج جرمی و ستون کاپیلاری HP-5MS به طول ستون ۳۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر که ضخامت لایه فاز ساکن در آن ۰/۲۵ میکرومتر، به‌کار گرفته شد. برنامه‌ریزی حرارتی ستون از ۶۰ درجه سانتی‌گراد شروع شد و پس از سه دقیقه توقف در همان دما، به‌تدریج با سرعت ۶ درجه در دقیقه افزایش یافته تا به دمای ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد رسید. دمای شناساگر و محفظه تزریق ۲۹۰ درجه سانتی‌گراد بوده است. گاز حامل هلیوم با درجه خلوص ۹۹/۹۹۹ درصد مورد استفاده قرار گرفت. سرعت جریان گاز حامل ۱ میلی‌متر بر دقیقه بود. ضمن اینکه دمای خط انتقال ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد، ولتاژ یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت و جریان یونیزاسیون برابر ۱۵۰ میکروآمپر تنظیم گردید.

د- عصاره‌گیری:

عصاره‌گیری با استفاده از دستگاه سوکسله و حلال متانول به‌مدت ۸ ساعت انجام شد. سپس عصاره حاصله توسط تبخیر کننده دوار در فشار کاهش یافته و دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد تغلیظ شده و برای تبخیر کامل حلال، به‌مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. از عصاره آماده شده، جهت انجام آزمایش‌های میکروبی استفاده شد [۳۸].

بوته‌ای، دارای ساقه ایستا به ارتفاع تا ۱۵۰ سانتی‌متر می‌باشد. برگ‌ها متقابل، دمبرگ مشخص و پهنک بزرگ است. گل‌ها درشت، سفید متمایل به‌صورتی و بسیار معطر می‌باشد [۳۱]. این گیاه بوته‌ای اغلب در حاشیه جاده‌ها، دامنه‌های سنگلاخی و حتی در پیرامون اراضی کشاورزی، اطراف جویبارها و باغ‌های مناطق کوهستانی رویش می‌یابد [۳۲]. گونه مریم‌گلی اصفهانی (*S. reuterana* Boiss.)، به-صورت گیاهی بوته‌ای پایا، دارای برگ‌های طوقه‌ای و انشعاب‌های افراشته و ایستا می‌باشد. گل‌ها سفیدرنگ، نسبتاً درشت و معطر است [۳۱]. این گیاه اغلب در دامنه کوه‌های نیمه‌خشک و اراضی صخره‌ای و سنگلاخی می‌روید. محدوده ارتفاعی رویشگاه‌های این گونه در ارتفاعات کرکس کاشان، بین ۱۷۰۰ تا ۲۸۰۰ متر از سطح دریا متغیر است [۳۳]. هدف از اجرای این پژوهش، مقایسه ترکیب‌های شیمیایی اسانس اندام‌های رویشی و زایشی دو گونه مریم‌گلی منطقه کاشان و بررسی اثرات ضد میکروبی اسانس و عصاره آنها می‌باشند.

## مواد و روش‌ها

الف- جمع‌آوری، خشک کردن گیاه و استخراج اسانس:

اندام‌های رویشی و زایشی دو گونه از جنس مریم‌گلی منطقه کاشان در بهار و تابستان ۱۳۸۸ جمع‌آوری شدند و پس از انتقال به هرباریوم باغ گیاه‌شناسی کاشان، شناسائی گردیدند. مقدار ۱۰۰ گرم از پودر خشک شده برگ‌ها و سرشاخه‌های گل‌دار گونه-های یاد شده به‌روش استخراج و تقطیر با بخار همزمان با حلال آلی (Simultaneous distillation extraction)، اسانس‌گیری شدند. حلال آلی مورد استفاده، پنتان نرمال و مدت زمان اسانس‌گیری ۴ تا ۵ ساعت به‌طول انجامید. بازده اسانس برای نمونه-های گل و برگ مریم‌گلی کبیر و مریم‌گلی اصفهانی بر حسب درصد وزنی/وزنی برآورد شد. پس از مرحله آبگیری توسط سدیم سولفات و تبخیر شدن حلال اضافی، اسانس استحصالی تا زمان تزریق به دستگاه طیف‌سنج جرمی، در شیشه تیره و در یخچال نگهداری شد [۳۴].

ب- شناسائی ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس:

برای شناسائی ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس، از دستگاه‌های گاز کروماتوگرافی (GC) و گاز کروماتوگرافی متصل‌شده به طیف‌سنج جرمی (GC/MS) استفاده شد. شناسائی طیف‌ها به کمک محاسبه شاخص‌های بازداری کواتس (RI) که با تزریق هیدروکربن‌های نرمال (C7-C25) تحت شرایط یکسان با تزریق اسانس‌ها صورت گرفت و با مقادیری که در منابع مختلف منتشر گردیده بود، مقایسه شدند. بررسی طیف‌های جرمی نیز جهت شناسائی ترکیب‌ها انجام گرفت و شناسائی‌های صورت گرفته، با

ذ- بررسی فعالیت ضد میکروبی با روش دیسک دیفیوژن:

سویه های مختلف استاندارد از سازمان پژوهش های علمی و صنعتی ایران تهیه گردید و بعد از کشت روی محیط نوترینت آگار، از آنها سوپانسیون هایی با رقت ۰/۵ مک فارلند  $10^8 \times 1/5$  CFU/ml تهیه گردید. محلول ۰/۵ مک فارلند با افزودن ۰/۵ میلی لیتر از ۱/۱۷۵ درصد از محلول باریم کلراید دهیدرات (BaCl<sub>2</sub> , 2H<sub>2</sub>O) به ۹۹/۵ میلی لیتر سولفوریک اسید یک درصد به دست می آید [۳۹].

سویه های میکروبی مورد استفاده:

میکروارگانسیم های مورد مطالعه در این پژوهش شامل یک سویه مخمر به نام *Candida albicans* ATCC10231، یک گونه قارچ *Aspergillus niger* ATCC16404 سه نوع باکتری گرم منفی به نام های *Bacillus* *Escherichia coli* ATCC10536 *Proteus vulgaris* PTCC1182، *subtilis* ATCC6633 پنج نوع باکتری گرم مثبت به نام های *Staphylococcus aureus* ATCC29737، *Klebsiella pneumoniae* ATCC-10036، *Salmonella Shigella dysenteriae* ATCC1188، *paratyphi-A serotype* ATCC5702-*Staphylococcus epidermidis* ATCC122289 می باشند.

تعیین اثرات ضد میکروبی عصاره گیاهان مورد مطالعه:

این روش طبق استاندارد های (NCCLS) National Committee for Clinical Laboratory Standard سال ۱۹۷۷ انجام گرفت. برای این منظور پلیت حاوی محیط کشت مولر هیتون آگار تهیه شد. محیط کشت برای قارچ *Candida albicans* از محیط سابورو دکستروز آگار استفاده شد. سپس ۱۰۰ میکرو لیتر از سوپانسیون های میکروبی با کدورت معادل ۰/۵ مک فارلند در شرایط یکنواخت در سطح محیط کشت، کشت داده شد. عصاره گونه های مورد مطالعه با غلظت ۳۰ میلی گرم در میلی لیتر دی متیل سولفید اکساید (DMSO)، حل شده و با کمک میلی پور فیلتر سرنگی (۰/۴۵ میکرو متر) که DMSO آن را نمی سوزاند (مثل PTFE)، استریل گردید. از حلال DMSO ۲ درصد به عنوان کنترل منفی و از آنتی بیوتیک های تتراسایکلین و جنتامایسین به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. سپس مقدار ۱۰ میکرو لیتر از محلول عصاره ۳۰ میلی گرم در میلی لیتر (معادل ۳۰۰ گرم در دیسک عصاره)، روی دیسک های کاغذ صافی به قطر ۶ میلی متر گذاشته شد تا کاملاً جذب کاغذ صافی شوند. پلیت به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور با حرارت ۳۷ درجه سانتی گراد قرار گرفت. فعالیت ضد میکروبی عصاره گیاه برای هر میکروارگانسیم با اندازه گیری هاله عدم رشد، تعیین گردید. برای

صحت نتایج اثر دارو روی نمونه های میکروب، باید نمونه ها در شرایط دما و محیط مناسب در مدت زمان یاد شده (در شرایط برون تنی) قرار گیرند تا بهترین پاسخ را به نمونه های گیاهی نشان دهند.

تعیین اثرات ضد میکروبی اسانس گیاه:

اساس کار این روش همانند شیوه قبلی می باشد با این تفاوت که در مورد اسانس، از حلال استفاده نمی شود و به طور مستقیم ۱۰ میکرو لیتر از اسانس را روی دیسک قرار داده تا کاملاً جذب کاغذ صافی شوند. پس از انکوباسیون به مدت زمان و درجه حرارت مشابه عصاره، با اندازه گیری هاله عدم رشد، فعالیت ضد میکروبی اسانس، تعیین گردید. به دلیل راندمان بسیار پائین اسانس و محدودیت مقدار اسانس استحصالی، اثرات ضد میکروبی اسانس روی ۴ سوش باکتری بررسی گردید.

تعیین حداقل غلظت مهار کنندگی رشد:

در این روش حداقل غلظت مهار کنندگی رشد برای میکروارگانسیم های حساس به اسانس و عصاره های گیاهی به روش میکرو دایلوشن (Micro-well dilution assay) محاسبه گردید [۴۰].

## نتایج

بازدهی اسانس برگ های مریم گلی کبیر، ۰/۰۵ درصد (وزنی/وزنی) به دست آمد. ترکیب در اسانس برگ های گیاه مریم گلی کبیر شناسایی شد که اجزای اصلی اسانس شامل: ژرمارکون-D (۲۰/۸۳ درصد)، بتا-کاروفیلین (۱۷/۲۴ درصد)، کاروفیلین اکساید (۱۰/۴۲ درصد)، اسپاتولول (۹/۹۸ درصد) و بی-سیکلو ژرمارکون (۸/۷۶ درصد) بودند. بازدهی اسانس گل های گیاه مریم گلی کبیر، ۰/۰۸ درصد (وزنی/وزنی) به دست آمد. ترکیب در اسانس گل های گیاه مریم گلی کبیر شناسایی شد که اجزای اصلی آن شامل: ژرمارکون-D (۲۰/۸۸ درصد)، آلفا-بالنسن (۱۲/۲۶ درصد)، لیمونن (۱۲/۲۹ درصد)، لینالول (۷/۱۹ درصد)، بتا-کاروفیلین (۹/۶۹ درصد) بودند. هم چنین بازدهی اسانس برگ های گیاه مریم گلی اصفهانی، ۰/۰۳۷ درصد (وزنی/وزنی) به دست آمد. تعداد ۲۶ ترکیب در اسانس برگ های گیاه مریم گلی اصفهانی شناسایی شد که اجزای اصلی اسانس: ژرمارکون-D (۲۱۰/۲۲ درصد)، ایپی-لارنن (۹/۵۳ درصد)، SA و ۱۳-سدران دیول (۹/۸۶ درصد)، بی سیکلو ژرمارکون (۸/۱۸ درصد) و لیمونن (۵/۲۴ درصد) بودند. بازدهی اسانس گل های گیاه مریم گلی اصفهانی، ۰/۱۵ درصد

(وزنی/وزنی) به‌دست آمد. ۳۱ ترکیب در اسانس گل‌های گیاه مریم‌گلی اصفهانی شناسایی شد، بیشترین ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس این گیاه به‌ترتیب شامل: بنزوئیک اسید هگزیل استر (۱۶/۹۶ درصد)، بتا-گورجنون (۷/۵۱ درصد)، بتا-اودسمول (۶/۸۶ درصد) و ایشوارن (۶/۰۴ درصد) می‌باشند (جدول شماره ۱).

جدول شماره ۱- ترکیب‌های شیمیایی و مقادیر آنها در اسانس برگ‌ها و گل‌های دو گونه از جنس مریم‌گلی (*S. sclarea* L., *S. Reuterana* Boiss.) منطقه کاشان

| ردیف                              | نام ترکیب                    | شاخص بازداري | میزان ترکیب (حجمی/وزنی) |        |                   |        |
|-----------------------------------|------------------------------|--------------|-------------------------|--------|-------------------|--------|
|                                   |                              |              | <i>S. reuterana</i>     |        | <i>S. sclarea</i> |        |
|                                   |                              |              | گل‌ها                   | برگ‌ها | گل‌ها             | برگ‌ها |
| ۱                                 | limonene                     | ۱۰۲۹         | ۳/۵۸                    | ۵/۲۴   | ۱۲/۲۹             | ۲/۱۲   |
| ۲                                 | Hexyl isovalerate            | ۱۲۴۴         | ۵/۲۳                    | -      | -                 | -      |
| ۳                                 | Dehydro-elsholtzia ketone    | ۱۳۰۳         | -                       | -      | ۴/۳۳              | -      |
| ۴                                 | $\alpha$ -Ylangne            | ۱۳۷۵         | -                       | -      | ۵/۰۲              | -      |
| ۵                                 | $\alpha$ -Copaene            | ۱۳۷۷         | ۰/۴۸                    | ۱/۴۸   | -                 | ۶/۷۹   |
| ۶                                 | $\beta$ -Cubebene            | ۱۳۸۸         | -                       | -      | -                 | ۲/۲۶   |
| ۷                                 | $\beta$ -Elemene             | ۱۳۹۱         | ۳/۵۷                    | ۲/۶۸   | -                 | -      |
| ۸                                 | $\beta$ -Longipinene         | ۱۴۰۱         | -                       | -      | ۵/۵۲              | -      |
| ۹                                 | $\beta$ -Funebrene           | ۱۴۱۵         | -                       | ۲/۸۱   | -                 | -      |
| ۱۰                                | $\beta$ -Caryophyllene       | ۱۴۱۹         | -                       | -      | ۹/۶۹              | ۱۷/۲۴  |
| ۱۱                                | $\beta$ -Gurjunene           | ۱۴۳۴         | ۷/۵۱                    | ۰/۸۸   | -                 | ۰/۵۷   |
| ۱۲                                | Aromadendrene                | ۱۴۴۱         | ۱/۴۵                    | ۱/۹۳   | ۳/۲۹              | ۰/۹۱   |
| ۱۳                                | Ishwarene                    | ۱۴۶۷         | ۶/۰۴                    | ۱/۵۸   | -                 | -      |
| ۱۴                                | $\gamma$ -Himachalene        | ۱۴۸۳         | ۴/۵۲                    | -      | -                 | -      |
| ۱۵                                | Germacrene-D                 | ۱۴۸۵         | ۳/۱۹                    | ۲۱/۲۲  | ۲۰/۸۸             | ۲۰/۸۳  |
| ۱۶                                | $\delta$ -Selinene           | ۱۴۹۳         | ۵/۰۵                    | -      | -                 | -      |
| ۱۷                                | Bicyclogermacrene            | ۱۵۰۰         | -                       | ۸/۱۸   | ۳/۳۷              | ۸/۷۶   |
| ۱۸                                | $\alpha$ -Bulnesene          | ۱۵۱۰         | -                       | -      | ۱۲/۲۶             | -      |
| ۱۹                                | Cubebol                      | ۱۵۱۵         | ۲/۵۵                    | ۱/۵۳   | -                 | -      |
| ۲۰                                | 10-epi-Italicene ether       | ۱۵۱۶         | -                       | ۲      | -                 | -      |
| ۲۱                                | $\beta$ -Cadinene            | ۱۵۳۰         | -                       | -      | -                 | ۲/۵۶   |
| ۲۲                                | 10-epi- Cubebol              | ۱۵۳۵         | ۳/۹۴                    | ۱/۱    | -                 | -      |
| ۲۳                                | Spathulenol                  | ۱۵۷۸         | ۰/۵۵                    | ۴/۱۸   | ۹/۷۴              | ۹/۹۸   |
| ۲۴                                | Benzoic acid, hexyl ester    | ۱۵۸۰         | ۱۶/۹۶                   | -      | -                 | -      |
| ۲۵                                | Caryophyllene oxide          | ۱۵۸۳         | ۴/۵۵                    | ۳/۱۳   | -                 | ۱۰/۴۲  |
| ۲۶                                | Epoxy-allo-Alloaromadendrene | ۱۶۴۱         | ۴/۹                     | -      | -                 | -      |
| ۲۷                                | $\beta$ -Eudesmol            | ۱۶۵۱         | ۶/۸۶                    | -      | -                 | -      |
| ۲۸                                | Occidenol                    | ۱۶۷۸         | -                       | ۴/۳۹   | -                 | -      |
| ۲۹                                | Eudesm-7(11)-en-4-ol         | ۱۷۰۰         | -                       | -      | ۹/۹۵              | ۲/۱۷   |
| ۳۰                                | Mayurone                     | ۱۷۱۰         | ۴/۷۹                    | -      | -                 | -      |
| ۳۱                                | Cedroxyde                    | ۱۷۱۴         | -                       | ۳/۲۱   | -                 | -      |
| ۳۲                                | Longifolor                   | ۱۷۱۵         | -                       | ۳/۸۲   | -                 | -      |
| ۳۳                                | 8s,13-cedranediol            | ۱۸۹۸         | -                       | ۹/۸۶   | -                 | ۲/۷۱   |
| ۳۴                                | Epi-laurenene                | ۱۹۰۲         | -                       | ۹/۵۳   | -                 | -      |
| ۳۵                                | Isohibaene                   | ۱۹۳۴         | ۲/۴۲                    | -      | -                 | -      |
| ۳۶                                | Canllal                      | ۲۰۴۶         | -                       | ۳/۹۸   | -                 | -      |
| Other components (in low amounts) |                              |              |                         |        |                   |        |
|                                   | Monoterpen hydrocarbons      |              | ۱۴/۳۲                   | ۱۵/۷۵  | ۰                 | ۱۴/۱۵  |
|                                   | Oxygenated monoterpens       |              | ۶/۵                     | ۶/۶۴   | ۱۵/۶۴             | ۲/۶۱   |
|                                   | Monoterpen hydrocarbons      |              | ۸/۹۱                    | -      | ۴/۳۳              | ۰/۶۷   |
|                                   | Oxygenated sesquiterpens     |              | ۳۳/۹۲                   | ۴۴/۵   | ۶۰/۰۳             | ۶۶/۴۵  |
|                                   | جمع کل                       |              | ۵۰/۶۵                   | ۴۸/۸۴  | ۱۹/۶۹             | ۲۹/۶۹  |
|                                   |                              |              | ۹۹/۹۸                   | ۹۹/۹۸  | ۹۹/۹۸             | ۹۹/۴۲  |

ایجاد کردند. در این میان، اسانس گل این گیاه تنها قادر به مهار دو سوش میکروبی؛ مخمر *Candida albicans* و باکتری *Proteus vulgaris* به ترتیب با هاله ممانعت رشد ۱۲ و ۱۷ میلی‌متر و حداقل غلظت مهارکنندگی ۷/۸۱ و ۱۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر شدند. در این میان اثر ضد مخمری اسانس گل این گیاه به خوبی نمایان است که با کمترین غلظت (۷/۸۱) میکروگرم بر میلی‌لیتر (قادر به مهار مخمر *Candida albicans* بود. هم‌چنین، تاثیر این نمونه اسانس روی باکتری *Proteus vulgaris* در میان کل نمونه‌های این گیاه، در مرتبه دوم قرار داشت. اسانس برگ این گیاه تنها قادر به مهار باکتری *Proteus vulgaris* با هاله عدم رشد ۱۳ میلی‌متر و حداقل غلظت مهارکنندگی ۱۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر شد.

از بین ۱۰ سوش میکروبی مورد آزمایش، ۸ سوش به نمونه‌های اسانس و عصاره گیاه *S. sclarea* حساسیت نشان دادند و هاله ممانعت رشد در حد ۷ تا ۲۰ میلی‌متر ایجاد کردند. هیچ یک از این نمونه‌ها قادر به مهار باکتری *Staphylococcus aureus* نشدند. هم‌چنین اسانس گل این گیاه بیشترین اثر و حساسیت را برای متوقف کردن رشد باکتری *Proteus vulgaris* با هاله ممانعت رشد ۲۰ میلی‌متر و حداقل غلظت مهارکنندگی ۱۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر نشان داد. از طرف دیگر، حساسیت کمتر، مربوط به اسانس برگ این گیاه نسبت به مهار رشد مخمر *Candida albicans* با هاله ممانعت رشد کمتر از ۷ و حداقل غلظت مهارکنندگی رشد آن ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. از بین ۱۰ سوش میکروبی، تنها ۹ سوش به نمونه‌های اسانس و عصاره گیاه *S. Reuterana* حساسیت نشان دادند و هاله ممانعت رشد در حد ۷ تا ۱۷ میلی‌متر

جدول شماره ۲- نتایج اندازه‌گیری هاله عدم رشد (بر حسب میلی‌متر) و حداقل غلظت مهارکنندگی رشد (بر حسب میکروگرم بر میلی‌لیتر) به روش میکروبراس دایلوژن مربوط به اسانس و عصاره برگ‌ها و گل‌های گیاه مریم‌گلی اصفهانی و مریم‌گلی کبیر منطقه کاشان

| سوش‌های میکروبی             |     | <i>S. aureus</i> |      | <i>S. epidermidis</i> |      | <i>K. pneumoniae</i> |      | <i>Sh. dysenteriae</i> |      | <i>S. paratyphi</i> |      | <i>B. subtilis</i> |      | <i>C. albicans</i> |      | <i>A. niger</i> |      | <i>P. vulgaris</i> |      | <i>E. Coli</i> |      |
|-----------------------------|-----|------------------|------|-----------------------|------|----------------------|------|------------------------|------|---------------------|------|--------------------|------|--------------------|------|-----------------|------|--------------------|------|----------------|------|
| نمونه‌های گیاهی             |     | هاله             | مهار | هاله                  | مهار | هاله                 | مهار | هاله                   | مهار | هاله                | مهار | هاله               | مهار | هاله               | مهار | هاله            | مهار | هاله               | مهار | هاله           | مهار |
| اسانس                       | گل  | •                | -    | •                     | -    | •                    | ۲۵۰  | •                      | -    | •                   | ۱۲۵  | •                  | -    | •                  | -    | •               | •    | •                  | ۱۲۵  | •              | -    |
|                             | برگ | •                | -    | •                     | ۵۰۰  | •                    | ۲۵۰  | •                      | -    | •                   | ۵۰۰  | •                  | -    | •                  | <۵۰۰ | •               | -    | •                  | -    | •              | ۵۰۰  |
| <i>S.sclarea</i><br>عصاره   | گل  | •                | -    | •                     | ۲۵۰  | •                    | ۲۵۰  | •                      | ۵۰۰  | •                   | ۲۵۰  | •                  | ۵۰۰  | •                  | -    | •               | -    | •                  | ۲۵۰  | •              | ۵۰۰  |
|                             | برگ | •                | -    | •                     | ۵۰۰  | •                    | ۲۵۰  | •                      | -    | •                   | -    | •                  | ۵۰۰  | •                  | -    | •               | -    | •                  | -    | •              | -    |
| اسانس                       | گل  | •                | -    | •                     | -    | •                    | -    | •                      | -    | •                   | -    | •                  | -    | •                  | ۷/۸۱ | •               | -    | •                  | •    | ۱۲۵            | •    |
|                             | برگ | •                | -    | •                     | -    | •                    | -    | •                      | -    | •                   | -    | •                  | -    | •                  | -    | •               | -    | •                  | •    | ۱۲۵            | •    |
| <i>S.reuterana</i><br>عصاره | گل  | •                | ۵۰۰  | •                     | ۲۵۰  | •                    | ۵۰۰  | •                      | ۲۵۰  | •                   | ۲۵۰  | •                  | ۵۰۰  | •                  | -    | •               | -    | •                  | ۵۰۰  | •              | ۵۰۰  |
|                             | برگ | •                | ۲۵۰  | •                     | -    | •                    | ۵۰۰  | •                      | -    | •                   | ۵۰۰  | •                  | ۵۰۰  | •                  | -    | •               | -    | •                  | -    | •              | ۵۰۰  |
| آنتی‌بیوتیک جنتامایسین      |     | •                | ۵۰۰  | •                     | ۵۰۰  | •                    | ۲۵۰  | •                      | ۵۰۰  | •                   | ۵۰۰  | •                  | ۵۰۰  | •                  | NA   | NA              | NA   | NA                 | •    | ۵۰۰            | •    |
| آنتی‌بیوتیک ریفاپین         |     | •                | ۲۵۰  | •                     | ۲۵۰  | •                    | ۲۵۰  | •                      | ۲۵۰  | •                   | NT   | •                  | ۱۵/۶ | •                  | NA   | NA              | NA   | NA                 | •    | ۱۲۵            | •    |
| آنتی‌بیوتیک نیستاتین        |     | NA               | NA   | NA                    | NA   | NA                   | NA   | NA                     | NA   | NA                  | NA   | NA                 | NA   | NA                 | NA   | NA              | NA   | NA                 | NA   | NA             | NA   |

NA: Not Applicable (•) میلی‌متر را مقاوم در نظر گرفته شده

NT: Not Tested (°) میلی‌متر را نیمه‌حساس در نظر گرفته شده

A dash (-) indicate no antimicrobial activity (\*) میلی‌متر به بالا را حساس در نظر گرفته شده

## بحث

اصفهانی بود که تنها روی یک سویه باکتری اثر مثبت گزارش گردید. این در حالی که اسانس برگ‌های گونه مریم‌گلی کبیر روی ۷ سویه میکروبی تاثیر داشت. در مجموع اثرات ضد میکروبی اسانس گونه مریم‌گلی اصفهانی نسبت به عصاره این گیاه، کمتر بود. بنابراین توصیه می‌گردد، از عصاره گل‌ها و برگ‌های این گیاه

در این پژوهش بیشترین تاثیر ضد میکروبی، مربوط به عصاره گل‌های دو گونه به‌دست آمد که به ترتیب در گونه‌های مریم‌گلی کبیر و اصفهانی، روی ۷ و ۸ سویه میکروبی اثر داشتند. کمترین اثر ضد میکروبی مربوط به اسانس برگ‌های گونه مریم‌گلی

مشخص شده اسانس *S. limbata* از بین ۱۹ سوش میکروبی، به ۱۱ سوش حساسیت دارند و هاله عدم رشد ۴۶-۲۴ میلی‌متر ایجاد کردند و حداقل غلظت مهارکنندگی رشد آن ۶۲/۵-۱۵/۶۲ میکرولیتر بر میلی‌لیتر گزارش شد. در همین شرایط، اسانس *S. sclarea* به هیچ‌یک از سوش‌های میکروبی حساسیت نشان ندادند (در این نمونه هاله‌های عدم رشد کمتر از ۷ میلی‌متر ایجاد شدند که نمایانگر خاصیت ضد میکروبی پائین این اسانس می‌باشد). با توجه به داده‌های این تحقیق، می‌توان نتیجه گرفت که خاصیت ضد میکروبی اسانس *S. limbata* نسبت به اسانس *S. sclarea* بالاتر باشد [۱۶]. بر اساس نتایج حاصل از این تحقیق، هیچ‌یک از نمونه‌های اسانس و عصاره گیاه مریم‌گلی کبیر، قادر به مهار باکتری *Staphylococcus aureus* نشدند. این در حالی است که بر اساس مطالعه‌ای که پیرامون اثرات ضد میکروبی عصاره کلروفومی و استونی همین گیاه در ترکیه نشان داد، از بین ۱۶ سوش میکروبی مورد مطالعه، عصاره کلروفومی به ۹ سوش میکروبی حساسیت نشان دادند و هاله عدم رشدی در حدود ۷ تا ۹ میلی‌متر را ایجاد کردند. هم‌چنین عصاره استونی گیاه نیز به ۹ سوش میکروبی با هاله عدم رشد بین ۷ تا ۲۲ میلی‌متر پاسخ دادند. همه عصاره‌ها خاصیت ضد باکتری قوی علیه باکتری *Staphylococcus aureus* را نشان دادند. اما هیچ‌یک از این عصاره‌ها، خاصیت ضد میکروبی علیه باکتری‌های *Escherichia coli* و *Listeria monocytogenes* را نشان ندادند [۱۵]. مقایسه ترکیب‌های شیمیایی اسانس اندام‌های زایشی و رویشی دو گونه مریم‌گلی منطقه کاشان نشان داد، عمده ترکیب‌های اصلی و مشترک اسانس گونه‌های مورد مطالعه شامل: سزکونی‌ترین‌های ژرماکرن-D، بتا-کاروفیلین، کاریوفیلین-اکساید، بی‌سیکلو ژرماکرن و اسپاتولنول می‌باشد. به استناد نتایج حاصل از این تحقیق، مجموع سزکونی‌ترین‌های موجود در اسانس اندام‌های رویشی و زایشی دو گونه مورد مطالعه، بین ۸۰ تا ۹۵ درصد از کل اسانس برآورد شد. با توجه به اثرات ضد میکروبی نسبتاً بالای عصاره نسبت به اسانس دو گونه یاد شده، به نظر می‌رسد تنها عامل ضد میکروبی این گیاهان، مربوط به سسکونی‌ترین‌ها نباشد و به-واسطه حضور سایر ترکیب‌های موجود در عصاره‌ها، اثر هم‌افزایی ضد میکروبی عصاره‌ها بیشتر از اسانس گونه‌های جنس مریم‌گلی باشند.

#### نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق، عصاره متانولی اندام‌های زایشی دو گونه از جنس مریم‌گلی منطقه کاشان در

جهت بررسی‌های میکروبیولوژی استفاده گردد. افزون بر این، اگرچه اثرات ضد میکروبی اسانس برگ‌های گیاه مریم‌گلی کبیر در مقایسه با اسانس گل‌های این گیاه بیشتر است، با وجود این بیشترین اثر ضد میکروبی روی سویه‌های مورد مطالعه، مربوط به عصاره گل‌ها و برگ‌های این گیاه بود. بنابراین همانند گیاه مریم‌گلی اصفهانی، تاکید می‌گردد برای فعالیت‌های ضد میکروبی از عصاره این گیاه استفاده گردد. براساس نتایج حاصل از این پژوهش، اثرات ضد میکروبی اسانس گل‌های گیاه مریم‌گلی اصفهانی نسبت به عصاره گل‌ها، کمتر و از بین ۱۰ سویه میکروبی، قادر به مهار دو سویه میکروبی شدند. در حالی که عصاره گل‌های این گیاه روی ۸ سویه میکروبی تاثیر داشته است. در سال ۲۰۰۸، گزارشی در مورد فعالیت ضد باکتریایی اسانس برگ، ساقه و گل گیاه *S. reuterana* روی ۷ سوش میکروبی مثبت ارزیابی شد. براساس این نتایج، اسانس اندام‌های یاد شده، به تمامی باکتری‌های مورد آزمایش حساسیت نشان دادند و به ترتیب هاله عدم رشد برابر با ۴۷-۱۶، ۲۸-۱۳ و ۲۲-۱۳ میلی‌متر ایجاد کردند [۹]. هم‌چنین، در تحقیقی مشابه، اثرات ضد میکروبی عصاره استونی مریم‌گلی کبیر نشان داد، دی‌تریپتوئیدهای فروژینول، سالوی‌پسون، اتیوبی‌نون و اکسالتیو-پی‌نون، بیشترین خاصیت ضد میکروبی را نشان دادند. بررسی‌های دقیق‌تر نشان داد که جزء سالوی‌پسون، بهترین خاصیت ضد-میکروبی را نشان داد [۱۸]. در پژوهش دیگری در سال ۲۰۰۷ توسط یوسفی‌زادی و همکاران پیرامون خاصیت ضد میکروبی اسانس چندین گونه از جنس مریم‌گلی رویش‌یافته در استان تهران ارائه شد، حساسیت اسانس سه گونه جنس *Salvia L.* نسبت به ۱۱ سوش میکروبی مورد بررسی قرار گرفت. در این گزارش مشخص شد که اسانس گونه‌های *S. sclarea*، *S. multicaulis* و *S. verticillata* به ترتیب روی ۹، ۷ و ۷ میکروب حساسیت نشان دادند. نتایج نشان داد اسانس‌های یاد شده فعالیت ضد میکروبی متوسط تا بالایی نسبت به همه باکتری‌های مورد آزمایش، به جز باکتری *P. aeruginosa* داشتند و این باکتری در برابر تمامی نمونه‌ها از خود مقاومت نشان داد [۱۱]. در این تحقیق مشخص گردید که اسانس این سه گونه، دارای اجزای اصلی ۱، ۸-سینئول، ژرماکرن-D، آلفا-پینن، بتا-کاروفیلین و لیمونن بودند. با توجه به فعالیت ضد میکروبی متوسط تا بالای اسانس این گیاهان و تشابه اجزای اصلی اسانس این گونه‌های گیاهی با گیاهان تحت بررسی در این تحقیق، می‌توان نتیجه گرفت که خاصیت ضد میکروبی اسانس دو گونه مورد مطالعه، ناشی از این ترکیب‌ها باشند. هم-چنین، در پژوهشی که فعالیت ضد میکروبی اسانس‌های دو گونه *S. limbata* و *S. sclarea* رویش‌یافته در ترکیه بررسی گردید،



جوکارکاشی، کارشناس محترم آزمایشگاه میکروبیولوژی پژوهشکده اسانس‌های طبیعی دانشگاه کاشان که در انجام اثرات ضد میکروبی گیاهان مورد مطالعه ما را یاری نمودند، کمال قدردانی و امتنان را دارند. این مقاله برگرفته از پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد شیمی آلی دانشکده شیمی دانشگاه کاشان می‌باشد.

مقایسه با اسانس دو گونه، اثرات ضد میکروبی نسبتاً بالایی را نشان دادند. بنابراین می‌توان از مواد موثره گل‌های این گیاهان به‌عنوان آنتی‌باکتریال استفاده نمود.

### تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از سرکار خانم دکتر فرشته

### References:

- [1] Zargari A. Medicinal plants, Tehran university publications; 1990. p. 924. [in Persian]
- [2] Usher G. A dictionary of plants used by man. London: Constable; 1974. p. 619.
- [3] Mozaffarian V. A dictionary of Iranian plant names. Tehran: Farhang Moaser publishers; 1996. p. 360-1. [in Persian]
- [4] Ghahreman A. Flora of Iran. Tehran: Research Institute of Forest and Rangelands and Tehran University press; 1995. p. 1260.
- [5] Clark GS. An aroma chemical profile, Menthol. *Perfume and Flavor* 1998; 23(5): 33-46.
- [6] Rustaiyan A, Akhgar MR, Masoudi S, Nematollahi F. Chemical composition of the essential oils of three *Salvia* L. species growing wild in Iran. *J. Essent. Oils Res.* 2005; 17(5): 522-4.
- [7] Lari-Yazdi H, Goudarzi M, Yazdani D, Chehregai AK. Essential oil composition of leaves and flowers of *Salvia syriaca* L. and *S. reuterana* from Borujerd-Iran. *J Med Plants* 2005; 4(16): 15-21.
- [8] Mirza M, Sefidkon F. Essential oil composition of two *Salvia* species from Iran, *S. nenorosa* L. and *S. reuterana* Boiss. *Flavour Fragr J* 1999; 14(4): 230-32.
- [9] Esmaeili A, Rustaiyan A, Nadimi M, Larijani K, Nadjafi F, Tabrizi L, et al. Chemical composition and antibacterial activity of essential oils from leaves, stems and flowers of *Salvia reuterana* Boiss. grown in Iran. *Nat Prod Res* 2008; 22(6): 516-20.
- [10] Amiri H, Meshkat Al Sadat MH, Lari Yazdi H, Goudarzi A. Essential oil composition of *salvia reuterana* boiss. *Iran J Med Aromatic Plants* 2006; 22(3): 270-5. [in Persian]
- [11] Yousefzadi M, Sonboli A, Karimi F, Nejad Ebrahimi S, Asghari B, Zeinali A. Antimicrobial activity of some *Salvia* species essential oils from Iran. *Z Naturforsch C* 2007; 62(7-8): 514-8.
- [12] Feorkas P, Holla M, Vavrkova S. Composition of the essential oils from the flowers and leaves of *Salvia sclarea* L. (Lamiaceae) cultivated in Slovak Republic. *JEOR* 2005; 17: 2, 141-4.
- [13] Pitarokili D, Gouladis M, Petsikos-Panayotarou N, Tzakou O. Composition of the essential oils from the flowers and leaves of *Salvia*

- sclarea* L. (Lamiaceae) cultivated in Slovak Republic. *J Agric Food Chem* 2002; 50: 6088-91.
- [14] Dzamic S, Vukojevic J, Martin PD. Chemical composition and antifungal activity of *Salviasclarea* (Lamiaceae) essential oil. *Arch BiolSci Belgrad* 2008; 60(2): 233-7.
- [15] Gulcin I, Tansu Uguz M, Oktay M, Beydemir S, Kufrevioglu OI. Evaluation of the antioxidant and antimicrobial activities of Clary Sage (*Salvia sclarea* L.). *Turk J Agric For* 2004; 28: 25-33.
- [16] Ogutcu H, Sokmen A, Polissiou M, Serkedjieva J, Daferera D, Sahin F, Baris O, Gulluce M. Flavones and rosmarinic acid from *S. Limbata* L. *Turk J Biol* 2008; 32: 181-92.
- [17] Lu Y, Foo LY. Salvianolic acid, a potent phenolic antioxidant from *salvia officinalis* L. *Tetrahedron Lett* 2001; 42: 8223-25.
- [18] Kuzma L, Rozalski M, Walencka E, Rozalska B, Wysokinska H. Antimicrobial activity of diterpenoids from hairy roots of *Salvia sclarea* L., Salvipisone as a potential anti-biofilm agent active against antibiotic resistant *Staphylococci*. *Phytomedicine* 2007; 14(1): 31-5.
- [19] Tripathi BN, Mehta SK, Amar A, Gaur JP. Oxidative stress in *scenedemus* sp. During short- and long-term exposure to Cu and Zn. *Chemosphere* 2006; 62(4): 538-44.
- [20] Hoult JR, Moroney MA, Payá M. Actions of flavonoids and coumarins on lipoxygenase and cyclooxygenase. *Methods Enzymol* 1994; 234: 443-54.
- [21] Marja P, Heinonen M. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *J Agric Food Chem* 1999; 47(10): 3954-62.
- [22] Farhoosh R, Purazrang H, Haddad Khodaprasht MH, Rahimizadeh M, Seyedi SM. Extraction and separation of antioxidative compounds from *Salvia leriifolia* leaves. *J Agric Sci Technol* 2004; 6: 43-50.
- [23] Hadad khodaprasht MH, Haghdooost A, Elhami-Rad AH, Movahhed G, Karazhiyan H. Antioxidant activity and thermal properties of *Salvia leriifolia* (Norozak) root extract. Proceedings of the international conference on Innovations in Food and Bioprocess Technologies, Pathumthani, Thailand, 12-14 December: 2006; 378.
- [24] Dziedzic SZ, Hudson BJF. Polyhydroxy-chalcones and flavanones as antioxidants for edible oils. *Food Chem* 1983; 12: 205-12.

- [25] Maurer B, Hauser A. New Sesquiterpenoids from Clary Sage Oil (*Salvia sclarea* L.), Helvetica Chemica. 1983; 66(7): 2223-35.
- [26] Ulbelen A, Topcu G, Eris C, Sonmez U, Kartal M, Kurucu S, et al. Terpenoides from *Salvia sclarea*. *Phytochemistry* 1994; 36(4): 971-4.
- [27] Merkl R, Hradkova I, Filip V, Smidrkal J. Antimicrobial and Antioxidant Properties of Phenolic Acids Alkyl Esters. *Czech J Food Sci* 2010; 28(4): 275-9.
- [28] Alberto MR, Canavosio MAR, Manca de Nadra MC. Antimicrobial effect of polyphenols from apple skins on human bacterial pathogens. *Electron J Biotechnol* 2006; 9(3): 205-9.
- [29] Cushnie TP, Lamb AJ. Antimicrobial activity of flavonoids. *Int J Antimicrob Agents* 2006; 27(2): 181.
- [30] Politi M, Braca A, De Tommasi N, Morelli I, Manunta A, Battinelli L, et al. Antimicrobial diterpenes from the seeds of *Cephalotaxus harringtonia* var. *drupacea*. *Planta Med* 2003; 69(5): 468-70.
- [31] Batooli H. Endemic and medicinal plants in central areas of Irano-Turanian growth region and their pharmaceutical figures. In proceedings of the First international congress on traditional medicine and material medica, Tehran. Iran. 2000; p. 42. [in Persian]
- [32] Rechinger KH. Flora Iranica Labiatae, Akademische Druck-U. verlagsanstalt, Graz, Austria Edits., 1982; N. 150: 108-216.
- [33] Batooli H. Biodiversity and species richness of plant elements in Qazaan Reserve of Kashan. *Pajouhesh-va-Sazandeghi* 2004; 16(4): 85-104. [in Persian]
- [34] Maisonneuve SA. European pharmacopoeia. France: Sainte-Ruffine; 1975. p. 68-80.
- [35] Shibamoto T. Retention indices in essential oil analysis. In: Capillary Gas Chromatography in essential oil analysis. NewYork: Huethig Verlag; 1987. p. 259-74.
- [36] Wessi EA. Essential oil crops. NewYork: CAB International; 1997. p. 525-30.
- [37] Adams RP. Identification of Essential oil Components by Gas Chromatography and Mass Spectroscopy. USA: Allured Publishing Corporation, Carol Stream; 2001. p. 750.
- [38] Sokmen A, Jones BM, Erturk M. The in vitro antibacterial activity of Turkish plants. *J Ethnopharmacol* 1999; 67(1): 79-86.
- [39] NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards), performance standards for antimicrobial Disk susceptibility Test, sixth ed. Approved standard. M2-AG, Wayne PA, 1997.
- [40] Gulluce M, Sokmen M, Sahin F, Sokmen A, Adiguzel A, Ozar H. Biological activities of the essential oil and methanolic extract of *Micromeria fruticosa* (L.) Druce ssp. *serpyllifolia* (Bieb) PH Davis plants from the eastern Anatolia region of Turkey. *J Sci Food Agric* 2004; 84: 735-41.