

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^{1*}, Safaei-Ghom J², Haghiri-Ebrahim-Abadi A³, Masoomi R⁴

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-Ghom 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 ضدمیکروبی اسانس و عصاره دو گونه از جنس مریم گلی (*Salvia L.*) منطقه کاشان

حسین بتولی^{۱*}، جواد صفایی قمی^۲، عبدالرسول حقیر ابراهیم‌آبادی^۳، ریحانه معصومی^۴

خلاصه:

سابقه و هدف: گونه‌های مختلف جنس مریم گلی در طب سنتی و نوین به عنوان ضدغذوفنی کننده و تنظیم کننده قند مورد استفاده قرار می‌گیرند. هدف از این تحقیق، بررسی ترکیب شیمیائی اسانس مریم گلی کبیر و مریم گلی اصفهانی و ارزیابی ویژگی‌های ضدمیکروبی آنها می‌باشد.

مواد و روش‌ها: گونه‌های یاد شده، از ارتفاعات کوهستانی کاشان، جمع آوری و خشک شدند. اسانس گیری به روش استخراج و تقطیر با بخار همزمان با حلآلی 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 ضدمیکروبی گیاهان در شرایط برونتی بر روی *10* سویه میکروبی به دو روش دیسک‌دیفیوژن و میکرو‌دایلوشن مورد ارزیابی قرار گرفتند.

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

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

واژگان کلیدی: مریم گلی کبیر، مریم گلی اصفهانی، اسانس، ضدمیکروبی، ترکیب‌های شیمیائی

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

بنابراین بر حسب نوع و درصد اجزای تشکیل‌دهنده اسانس، در صنایع مختلف داروئی، بهداشتی، آرایشی و غذائی متفاوت به مصرف می‌رسند. اغلب گونه‌های متعلق به جنس مریم گلی، به صورت گیاهانی بوته‌ای چوبی و علفی بوده که دارای اندام‌های هوائی بسیار معطر می‌باشند. برگ‌ها، کامل یا دارای تقسیمات شانه‌ای هستند. گل‌آذین گرزن متراکم و دارای گل‌هایی با کاسه پایا، جام دو لبه، تعداد پرچم دو عدد و میوه فندقه لعاب‌دار هستند [۴]. پژوهش یونانی "دیاسکورید" از جوشانده گیاه *S. officinalis* داروئی جهت ضدغذوفنی کننده و بندآورنده خونریزی زخم‌ها به کار برده است [۵]. از برگ‌های گونه *S. officinalis* در تهیه داروهای تقویتی، ضدتشنج و به عنوان ضدغذوفنی کننده و تنظیم کننده قند خون استفاده می‌شود. اسانس سرشاخه‌های گل دار این گیاه، به واسطه داشتن رایحه تند، به عنوان معطر کننده صابون در صنایع عطرسازی کاربرد دارد [۵]. اندام‌های هوائی گونه *S. sclarea* به عنوان نیرودهنده و ضدتشنج توصیه شده است. سرشاخه‌های گل دار این گیاه جهت معطرساختن و خوش طعم کردن شراب‌های طبی به کار می‌رود. اسانس حاصل از گیاه مریم گلی کبیر در عطرسازی و تهیه

مقدمه

گیاهان متعلق به خانواده نعناییان (Labiatae) اهمیت زیادی از لحاظ کاربرد در صنایع آرایشی، غذائی و دارویی دارند [۱]. جنس مریم گلی (*Salvia L.*) یکی از جنس‌های بزرگ خانواده نعناییان محسوب می‌شود که بالغ بر *۷۰۰* گونه از این جنس در جهان [۷] و *۵۸* گونه از ایران گزارش شده‌اند [۳]. گونه‌های مختلف جنس مریم گلی از لحاظ میزان اسانس و ترکیب‌های تشکیل‌دهنده آنها، نوع زیادی دارند.

استادیار پژوهش، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان-باغ گیاه‌شناسی کاشان

استاد، دانشکده شیمی، دانشگاه کاشان

دانشیار، پژوهشکده اسانس‌های طبیعی، دانشگاه کاشان

دانشجوی دکترای 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: ۰۳۶۱۴۲۳۶۴۹۹؛ دوزنیس: ۰۹۱۳۱۱۲۸۱

پست الکترونیک: ho_batooli@yahoo.com

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

بررسی‌ها نشان داده‌اند، فعالیت ضداکسیدانی عصاره مтанولی برگ برخی از گونه‌های جنس مریم‌گلی، نظیر *Salvia leriifolia* با ضداکسیدان تجاری BHT و آلفا-توکوفرول برابر می‌کند [۲۲]. بر طبق بررسی‌های انجام گرفته، فعالیت ضداکسیدان عصاره ریشه گیاه نوروزک (*Salvia leriifolia*)، در غلظت‌های ۰/۱، ۰/۱۵ و ۰/۲ درصد، بالاتر از BHT و غلظت ۰/۰۲ درصد آلفا-توکوفرول است. خاصیت ضداکسیدانی قوی موجود در دانه گیاه نوروزک نیز به اثبات رسیده است [۲۳] وجود برخی از ترکیب‌های فنلی نظری شالکون‌ها در ریشه و برگ گیاه نوروزک گزارش شده است [۲۴]. شالکون‌ها از پتانسیل ضداکسیدانی بسیار بالاتی برخوردارند [۲۴]. وجود چندین سسکوئی‌ترپن در انسانس گیاه مریم‌گلی به اثبات رسیده است که این ترکیب‌ها عبارتند از: (2R, 5E)-2,12-*Caryophyll-5-en-12-epoxycaryophyll-5-en* (2R, 5E)-*Isospathulenol*، (5E)-*caryophyl-5-en-12-al* (2S,al *Salvia*-4(14)-en-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 دی‌ترپنوتید در این گونه، *Salvipisone*، *Manool*، *Scclareol*، *Scclareol*، *Ferruginol*، *Candidissiol*، 7-oxoroyleanone و 7-oxoferruginol و *dehydrosalvipisone* سسکوئی‌ترپنوتیدهای موجود در این گیاه عبارتند از: *amyrin Alpha-Spathulenol*، *Caryophyllene oxide* و *Beta-sitosterol* بودند. فلاونوئیدهای موجود در این گیاه عبارتند از: 6-4-methylapigenin، *Leteolin*، *Apigenin* و 6-hydroxy hydroxyluteolin-6,7,3,4-tetra methylether [۲۶]. فعالیت ضدیکروبی دی‌ترپنوتیدها و سسکوئی‌ترپنوتیدهای این گیاه روی چندین باکتری مورد آزمایش قرار گرفت که مشخص گردید این ترکیب‌ها عمدتاً عبارتند از: 7-oxoroyleanone، 2,3-dehydrosalvipisone، *Caryophyllenoxyde* و *Manool*، *Scclareol* و *Candidissiol* مطالعات نشان داده، ترکیب‌های یاد شده در برابر باکتری-های *Candida albicans*، *Proteus mirabilis* و *Staphylococcus aureus* فعال بودند [۲۶]. خاصیت ضدیکروبی اسیدفنولیک [۲۷]، پلی‌فنول‌ها [۲۸]، فلاونوئیدها [۲۹] و دی‌ترپنوتیدهای [۳۰] گیاهان مختلف گزارش شده است. در تحقیق حاضر، میزان انسانس و ترکیب‌های تشکیل‌دهنده و اثرات ضدیکروبی انسانس و عصاره دو گونه از جنس مریم‌گلی که در ارتفاعات کوهستانی کرکس کاشان روش دارند، مورد بررسی قرار گرفته‌اند. گونه مریم‌گلی کبیر (*S. sclarea* L.), به صورت گیاهی

ادکلن کاربرد فراوان دارد [۱]. اجزای اصلی انسانس گیاه *S. reuterana*، ترانس-بنا-اوسمین، آلفا-گورجنون، ژرماتکن-D-بنا-کاربوفیلن، بی سیکلوژرماتکن و اسپاتولنول هستند [۶-۱۱]. بیشترین ترکیب‌های انسانس گونه *sclarea* S. *limbata* استات، لینالول، آلفا-تریپنول، ژرماتکن-D-بناکاربوفیلن، بی سیکلوژرماتکن، اسکلارئول، لینالول و ژرانیل استات بودند [۱۲-۱۵]. فعالیت ضدیکروبی گیاه *S. sclarea* منطقه ترکیه نشان داد، عصاره مtanولی این گیاه بر روی ۹ سویه میکروبی تاثیر داشت [۱۵]. خاصیت ضدیکروبی انسانس سه گونه *S. verticillata*، *S. sclarea* و *S. multicaulis* بر روی ۱۱ سوش میکروبی، دارای اثرات ضدیکروبی متوسط تا بالاتی را نشان دادند [۱۱]. فعالیت ضدیکروبی دو گونه *S. limbata* و *S. limbata* رویش یافته در ترکیه نشان داد، انسانس گونه *S. sclarea* نسبت به گونه *S. sclarea* خاصیت ضدیکروبی بیشتری دارد [۱۶]. خاصیت ضدباکتریائی انسانس برگ، ساقه و گلهای گیاه مریم‌گلی اصفهانی بر روی هفت سوش باکتری اثرات مطلوبی را نشان دادند [۹]. اغلب گیاهان متعلق به خانواده‌ی نعنایان، 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*، *Methylcarno sate* و *Rosmadial*، *Epirosmanol* با توجه به مطالعات انجام گرفته در مورد ترکیب‌های اصلی انسانس گونه‌های مختلف جنس مریم‌گلی، مهمترین سسکوئی‌ترپن‌های گزارش شده در انسانس گونه‌های این جنس، ترکیب‌های نظری ژرماتکن-D-اسپاتولنول، ژرماتکن-B-بنا-کاربوفیلن، کاربوفیلن اکساید، بی-سیکلوژرماتکن و ایزو-اسپاتولنول می‌باشند [۱۱-۱۳،۶،۱۴،۱۶]. شاخص ترین مونو-ترپن‌های موجود در انسانس گونه‌های مختلف این جنس متعلق به ترکیب‌های فلاذردن، سایین، آلفا-بنا-پین، ترانس-بنا-اوسمین، لیمون، لینالیل استات، لینالول، آلفا-تریپنول و ژرانیل استات است [۱۵،۱۴،۱۲،۹،۸،۶]. مهمترین دی‌ترپنوتیدهای موجود در برخی از گونه‌های جنس مریم‌گلی، ترکیب‌های نظری فروژنول، سالویپسون، اتوپیون و ۱-اکساتیوپی نون می‌باشند که اثرات ضدیکروبی 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]. پلی‌فنل‌های نظری کومارین و فلاونوئیدهای همچون داروهای ضدالتهابی غیراستروئیدی در آزمون‌های التهابی حاد (تست کاراجینان) عمل می‌کنند [۲۰]. فلاونوئیدها به لحاظ ساختار نتلی، توانایی ضداکسیدانی بالاتی دارند [۲۱].

استفاده از طیف‌های جرمی ترکیب‌های استاندارد و استفاده از اطلاعات موجود در کتابخانه‌های مختلف تائید گردید. درصد نسبی هر کدام از ترکیب‌های تشکیل‌دهنده انسانس‌ها با توجه به سطح زیر منحنی آن در طیف کرومتوگرام بدست 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 کرومتوگرافی (GC):

برای کرومتوگرافی 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، به کار 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 هلیم با درجه خلوص ۹۹/۹۹۹ درصد مورد استفاده قرار گرفت. سرعت جريان گاز حامل ۱ میلی‌متر بر دقیقه بود.

۲- گاز کرومتوگافی متصل شده به طیفسنج جرمی (GC/MS): برای طیف GC/MS از دستگاه گاز کرومتوگراف متصل شده 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، به کار 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 هلیم با درجه خلوص ۹۹/۹۹۹ درصد مورد استفاده قرار گرفت. سرعت جريان گاز حامل ۱ میلی‌متر بر دقیقه بود. ضمن اینکه دمای خط انتقال ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد، ولتاژ یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت و جريان یونیزاسیون برابر ۱۵۰ میکروآمپر تنظیم گردید.

د- عصاره‌گیری:

عصاره‌گیری با استفاده از دستگاه سوکسله و حلال متابول به مدت ۸ ساعت انجام شد. سپس عصاره حاصله توسط تبخیر کننده دور در فشار کاهش یافته و دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد تغییل شده و برای تبخیر کامل حلال، به مدت 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 به صورتی 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 می‌یابند [۳۲]. گونه مریم گلی اصفهانی (*S. reuterana* Boiss.)، به صورت گیاهی بوته‌ای پایا، دارای برگ‌های طوفه‌ای 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 انسانس اندام‌های رویشی و زایشی دو گونه مریم گلی منطقه کاشان و بررسی اثرات ضدمیکروبی انسانس و عصاره آنها می‌باشد.

مواد و روش‌ها

الف- جمع‌آوری، خشک‌کردن گیاه و استخراج انسانس: اندام‌های رویشی و زایشی دو گونه از جنس مریم گلی 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 سرخاخهای گل‌دار گونه‌های یاد شده به روش استخراج و تقطیر با بخار همزمان با حلال آلی (Simultaneous distillation extraction)، انسانس گیری شدند. حلال آلی مورد استفاده، پستان نرمال و مدت زمان انسانس گیری ۴ تا ۵ ساعت به طول انجامید. بازده انسانس برای نمونه‌های گل و برگ مریم گلی کبیر و مریم گلی اصفهانی بر حسب درصد وزنی/وزنی برآورد شد. پس از مرحله آبگیری توسط سدیم سولفات و تبخیر شدن حلال اضافی، انسانس استحصالی تا زمان تزریق به دستگاه طیفسنج جرمی، در شیشه تیره و در یخچال نگهداری شد [۳۴].

ب- شناسائی ترکیب‌های تشکیل‌دهنده انسانس: برای شناسائی ترکیب‌های تشکیل‌دهنده انسانس، از دستگاه‌های گاز کرومتوگرافی (GC) و گاز کرومتوگرافی متصل شده 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 انسانس‌ها 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

صحت نتایج اثر دارو روی نمونه‌های میکروب، باید نمونه‌ها در شرایط دما و محیط مناسب در مدت زمان یاد شده (در شرایط برونتنی) قرار گیرند تا بهترین پاسخ را به نمونه‌های گیاهی نشان دهند.

تعیین اثرات ضدمیکروبی اسانس گیاه:

اساس کار این روش همانند شیوه قبلی می‌باشد با این تفاوت که در مورد اسانس، از حلال استفاده نمی‌شود و به طور مستقیم ۱۰ میکرولیتر از اسانس را روی دیسک قرار داده تا کاملا جذب کاغذ صافی شوند. پس از انکوباسیون به مدت زمان و درجه حرارت مشابه عصاره، با اندازه‌گیری هاله عدم رشد، فعالیت ضدمیکروبی اسانس، تعیین گردید. بدلیل راندمان بسیار پائین اسانس و محدودیت مقدار اسانس استحصالی، اثرات ضدمیکروبی اسانس روی ۴ سوش باکتری بررسی گردید.

تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی رشد:

در این روش حداقل غلظت مهارکنندگی رشد برای میکروارگانیسم‌های حساس به اسانس و عصاره‌های گیاهی به روش میکرودادیلوشن (Micro-well dilution assay) محاسبه گردید

[۴۰]

نتایج

بازدهی اسانس برگ‌های مریم گلی کیم، ۰/۰۵ درصد (وزنی/وزنی) بدست آمد. ۲۹ ترکیب در اسانس برگ‌های گیاه مریم گلی کیم شناسایی شد که اجزای اصلی اسانس شامل: ژرماتکن-D (۲۰/۸۳ درصد)، بتا-کاریوفیلن (۱۷/۲۴ درصد)، کاریوفیلن اکساید (۱۰/۴۲ درصد)، اسپاتولول (۹/۹۸ درصد) و بی-سیکلو ژرماتکن (۸/۷۶ درصد) بودند. بازدهی اسانس گل‌های گیاه مریم گلی کیم، ۰/۰۸ درصد (وزنی/وزنی) بدست آمد. ۱۲ ترکیب در اسانس گل‌های گیاه مریم گلی کیم شناسایی شد که اجزای اصلی آن شامل: ژرماتکن-D (۲۰/۸۸ درصد)، الفالبالنسن (۱۲/۲۶ درصد)، لیمون (۱۲/۲۹ درصد)، لینالول (۷/۱۹ درصد)، بتا-کاریوفیلن (۹/۶۹ درصد) بودند. همچنین بازدهی اسانس برگ‌های گیاه مریم گلی اصفهانی، ۰/۰۳۷ درصد (وزنی/وزنی) بدست آمد. تعداد ۲۶ ترکیب در اسانس برگ‌های گیاه مریم گلی اصفهانی شناسایی شد که اجزای اصلی اسانس؛ ژرماتکن-D (۲۱۰/۲۲ درصد)، اپی-لارن (۹/۵۳ درصد)، ۸۸ و ۱۳-سدران دیول (۹/۸۶ درصد)، بی-سیکلوژرماتکن (۸/۱۸ درصد) و لیمون (۵/۲۴ درصد) بودند. بازدهی اسانس گل‌های گیاه مریم گلی اصفهانی، ۰/۱۵ درصد

ذ- بررسی فعالیت ضدمیکروبی با روش دیسکدیفیوژن: سویه‌های مختلف استاندار از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه گردید و بعد از کشت روحی محیط نوترینت آگار، ۱/۵ \times ۱۰^۴ CFU/ml مکفارلند از آنها سوسپانسیون‌هایی با رقت ۰/۰۵ مکفارلند ۰/۵ میلی‌لیتر از ۱/۱۷۵ درصد از محلول باریم کلراید دیهدرات (BaCl₂, 2H₂O) به ۹۹/۵ میلی‌لیتر سولفوریک اسید یک درصد بدست می‌آید [۳۹].

سویه‌های میکروبی مورد استفاده: میکروارگانیسم‌های مورد مطالعه در این پژوهش شامل یک سویه مخمر به نام ATCC10231. یک گونه قارچ Aspergillus niger ATCC16404 سه نوع باکتری Bacillus Escherichia coli ATCC10536 و Proteus vulgaris PTCC1182. subtilis ATCC6633 پنج نوع باکتری گرم مثبت به نام‌های Staphylococcus aureus Klebsiella pneumoniae ATCC-ATCC29737 Salmonella Shigella dysenteriae ATCC1188, 10036 paratyphi-A-serotype ATCC5702-Staphylococcus epidermidis ATCC122289 می‌باشد.

تعیین اثرات ضدمیکروبی عصاره گیاهان مورد مطالعه: این روش طبق استانداردهای National Committee (NCCLS) (Clinical Laboratory Standard) سال ۱۹۷۷ انجام گرفت. برای این منظور پلیت حاوی محیط کشت مولر هیبتون آگار تهیه شد. محیط کشت برای قارچ Candida albicans از محیط سابورو دکستروز آگار استفاده شد. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیوی‌های میکروبی با کدورت معادل ۰/۵ مکفارلند در شرایط یکنواخت در سطح محیط کشت، کشت داده شد. عصاره گونه‌های مورد مطالعه با غلظت ۳۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر دی‌متیل سولفید اکساید (DMSO)، حل شده و با کمک میلی‌پور فیلتر سرنگی (۰/۴۵ میکرومتر) که DMSO آن را نمی‌سوزاند (مثل PTFE)، استریل گردید. از حلال DMSO ۲ درصد به عنوان کنترل منفی و از آنتی‌بیوتیک‌های تراسایکلین و جنتامایسین به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. سپس مقدار ۱۰ میکرولیتر از محلول عصاره ۳۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر (معادل ۳۰۰ گرم در دیسک عصاره)، روی دیسک‌های کاغذ صافی به قطر ۶ میلی‌متر گذاشته شد تا کاملا جذب کاغذ صافی شوند. پلیت به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور با حرارت ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. فعالیت ضدمیکروبی عصاره گیاه برای هر میکروارگانیسم با اندازه‌گیری هاله عدم رشد، تعیین گردید. برای

درصد)، بتا-گورجنون (۷/۵۱ درصد)، بتا-اودسمول (۶/۸۶ درصد) وایشوران (۶/۰۴ درصد) می‌باشدند (جدول شماره ۱).

(وزنی/وزنی) به دست آمد. ۳۱ ترکیب در اسانس گل‌های گیاه مریم‌گلی اصفهانی شناسایی شد، بیشترین ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس این گیاه به ترتیب شامل: بنزوئیک اسید هگریل استر ۱۶/۹۶

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

میزان ترکیب(٪/حجمی وزنی)						ردیف
<i>S. reuterana</i>	<i>S. sclarea</i>	شاخص بازداری	نام ترکیب			
گل‌ها	برگ‌ها	گل‌ها	برگ‌ها			
۳/۰۸	۰/۲۴	۱۲/۲۹	۲/۱۲	۱۰۲۹	limonene	۱
۰/۲۳	-	-	-	۱۲۴۴	Hexyl isovalerate	۲
-	-	۴/۳۳	-	۱۳۰۳	Dehydro-elsholtzia ketone	۳
-	-	۰/۰۲	-	۱۳۷۵	α -Ylangne	۴
۰/۴۸	۱/۴۸	-	۷/۷۹	۱۳۷۷	α -Copaene	۵
-	-	-	۲/۲۶	۱۳۸۸	β -Cubebene	۶
۳/۰۷	۲/۷۸	-	-	۱۳۹۱	β -Elemene	۷
-	-	۰/۰۲	-	۱۴۰۱	β -Longipinene	۸
-	۲/۸۱	-	-	۱۴۱۰	β -Funebrene	۹
-	-	۹/۶۹	۱۷/۲۴	۱۴۱۹	β -Caryophllene	۱۰
۷/۰۱	۰/۸۸	-	۰/۰۷	۱۴۳۴	β -Gurjunene	۱۱
۱/۴۵	۱/۹۳	۳/۲۹	۰/۹۱	۱۴۴۱	Aromadendrene	۱۲
۶/۰۴	۱/۰۸	-	-	۱۴۶۷	Ishwarene	۱۳
۴/۰۲	-	-	-	۱۴۸۴	γ -Himachalene	۱۴
۳/۱۹	۲۱/۲۲	۲۰/۸۸	۲۰/۸۳	۱۴۸۵	Germacrene-D	۱۵
۰/۰۰	-	-	-	۱۴۹۳	δ -Selinene	۱۶
-	۸/۱۸	۳/۳۷	۸/۷۶	۱۵۰۰	Bicyclogermacrene	۱۷
-	-	۱۲/۲۶	-	۱۰۱۰	α -Bulnesene	۱۸
۲/۰۰	۱/۰۳	-	-	۱۰۱۵	Cubebol	۱۹
-	۲	-	-	۱۰۱۶	10-epi-Italicene ether	۲۰
-	-	-	۲/۰۶	۱۰۳۰	β -Cadinene	۲۱
۳/۹۴	۱/۱	-	-	۱۰۳۵	10-epi- Cubebol	۲۲
۰/۰۰	۴/۱۸	۹/۷۴	۹/۹۸	۱۰۷۸	Spatholenol	۲۳
۱۶/۹۶	-	-	-	۱۰۸۰	Benzoic acid, hexyl ester	۲۴
۴/۰۰	۳/۱۳	-	۱۰/۴۲	۱۰۸۳	Caryophyllene oxide	۲۵
۴/۹	-	-	-	۱۶۴۱	Epoxy-allo-Alloaromadendrene	۲۶
۷/۸۷	-	-	-	۱۶۰۱	β -Eudesmol	۲۷
-	۴/۳۹	-	-	۱۶۷۸	Occidenol	۲۸
-	-	۹/۹۰	۲/۱۷	۱۷۰۰	Eudesm-7(11)-en-4-ol	۲۹
۴/۷۹	-	-	-	۱۷۱۰	Mayurone	۳۰
-	۳/۲۱	-	-	۱۷۱۴	Cedroxyde	۳۱
-	۳/۸۲	-	-	۱۷۱۵	Longifolor	۳۲
-	۹/۸۶	-	۲/۷۱	۱۸۹۸	8s,13-cedranediol	۳۳
-	۹/۰۳	-	-	۱۹۰۲	Epi-laurenene	۳۴
۲/۴۲	-	-	-	۱۹۳۴	Isohibaene	۳۵
-	۳/۹۸	-	-	۲۰۴۶	Canllal	۳۶
۱۴/۳۲	۱۰/۷۵	*	۱۴/۱۰	Other components (in low amounts)		
۷/۰	۷/۶۴	۱۰/۶۴	۲/۶۱	Monoterpen hydrocarbons		
۸/۹۱	-	۴/۳۳	۰/۷۷	Oxygenated monoterpenes		
۳۳/۹۲	۴۴/۰	۷۰/۰۳	۷۶/۶۰	Monoterpen hydrocarbons		
۵۰/۶۰	۴۸/۸۴	۱۹/۶۹	۲۹/۶۹	Oxygenated sesquiterpenes		
۹۹/۹۸	۹۹/۹۸	۹۹/۹۸	۹۹/۴۲	جمع کل		

ایجاد کردند. در این میان، اسانس گل این گیاه تنها قادر به مهار دو سوش میکروبی؛ مخمر *Candida albicans* و باکتری *Proteus vulgaris* 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 ۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. از بین ۱۰ سوش میکروبی، تنها ۹ سوش به نمونه‌های اسانس و عصاره گیاه *S. Reuterana* را برای 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 دایلوشن مربوط به اسانس و عصاره برگ‌ها و گل‌های مریم‌گلی اصفهانی و مریم‌گلی کبیر منطقه کاشان

<i>E. Coli</i>	<i>P. vulgaris</i>	<i>A. niger</i>	<i>C. albicans</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>S. paratyphi</i>	<i>Sh. dysenteriae</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>S. epidermidise</i>	<i>S. aureus</i>	سوش‌های میکروبی									
مهار	مهار	مهار	مهار	مهار	مهار	مهار	مهار	مهار	مهار	نمونه‌های گیاهی									
-	۱۲۵	*	-	-	۰	-	۱۲۵	*	-	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	گل
۵۰۰	۰	-	۰	-	<۵۰۰	۰	-	۵۰۰	*	-	۰	۲۵۰	۰	۵۰۰	۰	-	۰	۰	برگ
۵۰۰	۰	۲۵۰	۰	-	۰	-	۵۰۰	۰	۲۵۰	*	۰	۲۵۰	۰	۲۵۰	۰	-	۰	۰	عصاره
-	۰	-	۰	-	۰	-	۵۰۰	۰	-	۰	-	۲۵۰	۰	۵۰۰	۰	-	۰	۰	برگ
-	۱۲۵	*	-	۰	۷/۸۱	۰	-	۰	-	۰	-	۰	-	۰	-	۰	-	۰	گل
-	۱۲۵	۰	-	۰	-	۰	-	۰	-	۰	-	-	-	-	-	-	-	۰	برگ
۵۰۰	۰	۵۰۰	۰	-	۰	-	۵۰۰	۰	۲۵۰	*	۰	۲۵۰	۰	۵۰۰	۰	۰	۰	۰	گل
۵۰۰	۰	-	۰	-	۰	-	۵۰۰	۰	-	۰	-	۵۰۰	۰	-	-	۰	۰	۰	برگ
۵۰۰	*	۵۰۰	*	NA	NA	NA	۵۰۰	*	۵۰۰	*	۵۰۰	*	۲۵۰	*	۵۰۰	*	۵۰۰	*	آنتی‌پوتیک جتاماپسین
۵۰۰	۰	۱۲۵	۰	NA	NA	NA	۱۵/۶	۰	NT	*	۲۵۰	*	۲۵۰	*	۲۵۰	*	۲۵۰	*	آنتی‌پوتیک رفامپین
NA	NA	NA	NA	۳۱/۲	*	۱۲۵	*	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	آنتی‌پوتیک نیستاتین

هاله‌های عدم رشد صفر تا ۱۲ میلی‌متر را مقاوم در نظر گرفته شده (*)

هاله‌های عدم رشد ۱۲ تا ۱۴ میلی‌متر را نیمه حساس در نظر گرفته شده (۰)

A dash (-) indicate no antimicrobial activity (*)

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 ضدمیکروبی اسانس گونه مریم‌گلی اصفهانی نسبت به عصاره این گیاه، کمتر بود. بنابراین توصیه می‌گردد، از عصاره گل‌ها و برگ‌های این گیاه

بحث

در این پژوهش بیشترین تاثیر ضدمیکروبی، مربوط به عصاره گل‌های دو گونه به دست آمد که به ترتیب در گونه‌های مریم‌گلی کبیر و اصفهانی، روی ۷ و ۸ سویه میکروبی اثر داشتند. کمترین اثر ضدمیکروبی 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 ۴۶-۴۶ میلی‌متر ایجاد کردند و حداقل غلظت مهارکنندگی رشد آن $15/62-62/5$ میکروبیتر 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 ضدمیکروبی پائین اسانس می‌باشد). با توجه به داده‌های این تحقیق، می‌توان نتیجه گرفت که خاصیت ضدمیکروبی 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* نشدنند. این در حالی است که بر اساس مطالعه‌ای که پیرامون اثرات ضدمیکروبی عصاره کلروفرمی و استونی همین گیاه در ترکیه نشان داد، از بین ۱۶ سوش میکروبی مورد مطالعه، عصاره کلروفرمی 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 ضدبакتری قوی علیه باکتری *Staphylococcus aureus* را نشان دادند. اما هیچ‌یک از این عصاره‌ها، خاصیت ضدمیکروبی 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، عمدۀ ترکیب‌های اصلی و مشترک اسانس گونه‌های مورد مطالعه شامل: سزکوئی‌ترپین‌های ژرماکرن-D، بتا-کاریوفیلن، کاریوفیلن اکساید، بی‌سیکلو ژرماکرن و اسپاتولنول می‌باشد. به استناد نتایج حاصل از این تحقیق، مجموع سزکوئی‌ترپین‌های 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 ضدمیکروبی نسبتاً بالای عصاره نسبت به اسانس دو گونه یاد شده، به نظر می‌رسد تنها عامل ضدمیکروبی این گیاهان، مربوط به سیکوئی‌ترپین‌ها نباشد و به‌واسطه حضور سایر ترکیب‌های موجود در عصاره‌ها، اثر هم‌افزائی ضدمیکروبی عصاره‌ها بیشتر از اسانس گونه‌های جنس مریم‌گلی باشند.

نتیجه‌گیری

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

جهت بررسی‌های میکروبیولوژی استفاده گردد. افزون بر این، اگرچه اثرات ضدمیکروبی اسانس برگ‌های گیاه مریم‌گلی کبیر در مقایسه با اسانس گل‌های این گیاه بیشتر است، با وجود این بیشترین اثر ضدمیکروبی روی سویه‌های مورد مطالعه، مربوط به عصاره گل‌ها و برگ‌های این گیاه بود. بنابراین همانند گیاه مریم‌گلی اصفهانی، تاکید می‌گردد برای فعالیت‌های ضدمیکروبی از عصاره این گیاه استفاده گردد. براساس نتایج حاصل از این پژوهش، اثرات ضدمیکروبی 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 فعالیت ضدبacterیابی اسانس برگ، ساقه و گل گیاه *S. reuterana* را 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 ۱۶-۴۷، ۱۳-۲۸ و ۱۳-۲۲ میلی‌متر ایجاد کردند [۹]. هم‌چنین، در تحقیقی مشابه، اثرات ضدمیکروبی عصاره استونی مریم‌گلی کبیر نشان داد، دی‌ترپنوتیدهای فروژینول، سالویپسون، اتیوبی‌نون و اکساتیو-پی‌نون، بیشترین خاصیت ضدمیکروبی 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 ضدمیکروبی 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. multicaulis* و *S. sclarea* به *S. verticillata* به ترتیب روی ۹، ۷ و ۷ میکروب حساسیت نشان دادند. نتایج نشان داد اسانس‌های یاد شده فعالیت ضدمیکروبی متوسط تا بالاتر نسبت به همه باکتری‌های مورد آزمایش، به جزء 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-سیپنول، ژرماکرن-D، آلفا-پین، بتا-کاریوفیلن و لیمونن بودند. با توجه به فعالیت ضدمیکروبی 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 ضدمیکروبی اسانس دو گونه مورد مطالعه، ناشی از این ترکیب‌ها باشند. هم‌چنین، در پژوهشی که فعالیت ضدمیکروبی اسانس‌های دو گونه *S. sclarea* و *S. limbata* را رویش‌یافته در ترکیه بررسی گردید،

جو کارکاشی، کارشناس محترم آزمایشگاه میکروبیولوژی پژوهشکده انسان‌های 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 کارشناسی ارشد شیمی آلی دانشکده شیمی دانشگاه کاشان می‌باشد.

مقایسه با انسان دو گونه، اثرات ضد میکروبی نسبتاً بالائی را نشان دادند. بنابراین می‌توان از مواد موثره گل‌های این گیاهان به عنوان آنتی باکتریال استفاده نمود.

تشکر و قدردانی

نویسنده‌گان 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. nemorosa* 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, Vaverkova 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 *Salvia sclarea* (Lamiaceae) essential oil. *Arch Biol Sci 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 diterpenoides from hairy roots of *Salvia sclarea* L., Salvipisone as a potential anti-boifilm 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 Khodaparast MH, Rahimizadeh M, Seyedi SM. Extraction and separation of antioxidative compounds from *Salvia leriifolia* leaves. *J Agric Sci Tecol* 2004; 6: 43-50.
- [23] Hadad khodaparast MH, Haghdoost 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.), *Hevetica 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] Rechiniger KH. Flora Iranica Labiateae, Akademische Druck-U. verlagsanstalt, Graz,
- Austria Edts., 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.