

شناسایی ترکیبات شیمیایی و بررسی خواص ضد باکتریایی اسانس مریم نخودی طناز (*tucreum chamaedrys L.*) رویش یافته در استان خراسان شمالی

علیرضا گلشن¹، علی خاکشور²، علیرضا نعمت الهی³، احمد یدالهی⁴*

¹ استادیار ارولوژی، مرکز تحقیقات ایمنی فرآورده های طبیعی و گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران
² استادیار اطفال، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران
³ دکتری حرفه ای داروسازی، مرکز تحقیقات ایمنی فرآورده های طبیعی و گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران
⁴ دانش آموخته کارشناسی ارشد شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قوچان، قوچان، ایران
* نویسنده مسئول: دانشگاه آزاد اسلامی واحد قوچان، قوچان، ایران
پست الکترونیک: ahmad.yald@yahoo.com

چکیده

زمینه و هدف: منطقه درکش در ادامه مرز شرقی جنگل های به هم پیوسته هیرکانی شمال ایران واقع شده است، که از نظر گیاه شناسی دارای ویژگی های منحصر به فردی می باشد و این منطقه را به گنجینه ای کم نظیر از گیاهان دارویی تبدیل کرده است. با توجه به کمبود بررسی های علمی در مورد این جنگل ها و نظر به اهمیت ویژگی های این رویشگاه سرشاخه های گلدار *tucreum chamaedrys L.* منطقه درکش در استان خراسان شمالی جمع آوری گردید. در این تحقیق علاوه بر مقایسه، درصد ترکیبات شیمیایی شناسایی شده موجود در اسانس با سایر مناطق، تاثیر ضد باکتریایی اسانس نیز بر روی باکتری های گرم مثبت، گرم منفی و بی هوازی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش کار: سرشاخه های گلدار گیاه پس از جمع آوری و خشک شدن در دمای محیط با روش تقطیر با بخار آب اسانس گیری شد. اسانس به صورت یک لایه روغنی زرد روشن با بازده 0/3 درصد بدست آمد. ترکیب های موجود در اسانس با دستگاه گازکروماتوگراف متصل شده به طیف سنج جرمی (GC/MS) مورد بررسی قرار گرفت. سپس اثرات ضد میکروبی اسانس به وسیله دیسکهای کاغذی مخصوص به محیط کشت باکتری انتقال یافته و پس از مدت معمول اندازه گیری هاله عدم رشد، میزان اثر اسانس را نشان داد. **یافته ها:** هفده ترکیب در اسانس گیاه *tucreum chamaedrys L.* که هشتاد درصد اسانس را تشکیل می داد شناسایی گردید. جرماکرن دی (20/4%)، دلتا کادنین (14/9%) و ترانس بتا فارنسنین (13/9%) اجزای اصلی اسانس بودند. همچنین اثرات ضد میکروبی اسانس نیز علیه باکتری های *Escherichia coli*، *Salmunella*، *Clostridium perfringens* و *Staphylococcus aureus* و با استفاده از روش دیسک دیفیوژن بررسی شد.

نتیجه گیری: جرماکرن دی، دلتا کادنین و ترانس بتا فارنسنین موجود در اسانس بررسی شده در این تحقیق بیشترین درصد را در مقایسه با ترکیبات شیمیایی شناسایی شده این گیاه در سایر مناطق ایران به خود اختصاص داده است. نتایج آزمایشات ضد باکتریایی نیز نشان داد اسانس این گیاه بر باکتری های گرم منفی تاثیر نداشته اما بر باکتری های گرم مثبت موثر بوده است. نظیر *Staphylococcus aureus* و *Clostridium perfringen*.

واژه های کلیدی: گیاهان دارویی، دیسک دیفیوژن، GC/MS، *Staphylococcus aureus*، *Clostridium perfringen*

مقدمه

بوده که به طور وسیعی در صنایع غذایی، دارویی و بهداشتی به عنوان ترکیباتی با خاصیت ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی استفاده می شوند [1,2]. گیاه *Teucrium chamaedrys L.* یا مریم نخودی طناز بررسی شده در این تحقیق گیاهی است پایا، علفی با

جنس *Teucrium* یا مریم نخودی متعلق به تیره نعناع بوده و دارای بیش از 300 گونه و چهار زیر گونه می باشد که اغلب آنها در مناطق مدیترانه ای یافت می شوند. این جنس در ایران دارای 13 گونه، 10 زیر گونه و یک واریته می باشد. از طرف دیگر اسانس گیاه از متابولیت های ثانویه

puberulens نیز نشان داده است که بتاکاریوفیلین (21/7%) مهمترین ماده تشکیل دهنده روغن اسانسی گیاه است [15]. اسانس سایر گونه‌های *tucureum* نیز مفصلاً بررسی شده است، به عنوان مثال در *T. arduini* و نیز گیاه *T. chamaedrys* بتا کاریوفیلین و جرماکرن دی مواد عمده بوده‌اند. در *T. botrys*، بتا کاریوفیلین، آلفاهومولن و ترانس بتا بیزابولن، در *T. flavum* آلفاپینن، بتاپینن و بتا بیزابولن، در *T. scordium* آلفاپینن و بتاپینن، در *T. montanum* آلفاپینن، جرماکرن دی و بتا امودسمول و در *T. polium* بتاپینن و جرماکرن دی مواد عمده گزارش شده‌اند [16]. تعداد زیادی از گونه‌های توکریوم در طب سنتی نیز به عنوان پایین آورنده قند خون، پایین آورنده چربی خون، آنتی‌اکسیدان، ضد میکروب، ضد التهاب و ضد تومور استفاده می‌شوند [17]. در یک بررسی اثرات ضد درد و ضد التهاب عصاره *Teucrium chamaedrys* در موش‌های صحرایی مورد مطالعه قرار گرفت. که این اثرات ممکن است از طریق مکانیسم‌های محیطی و مرکزی باشد. همچنین نقش آلکالوئیدها، فلاونوئیدها و ترینوئیدها در مطالعات آینده باید مورد ارزیابی قرار گیرد [18]. اثرات دیگری از این گیاهان بررسی شده است از جمله اثر ضد دیابت گیاه *Teucrium stocksianum* روی موش [19]، اثر آن بر روی زخم و ترشحات گوارشی در موش‌ها [20] و نیز اثر گیاه روی هپتا توکسیسیته ناشی از پاراستامول در موش [21].

روش کار

اندام‌های هوایی گیاه *tucureum chamaedrys L.* در اوایل تیر ماه سال 1391 از منطقه درکش در استان خراسان شمالی جمع آوری گردید و مقدار 80 گرم از برگ و گل خشک گیاه توسط روش تقطیر با بخار آب مورد اسانس‌گیری قرار گرفت. اسانس پس از جداسازی جمع آوری گردید و با سدیم سولفات آبگیری شد. بازده اسانس به دست آمده با توجه به وزن خشک 0/3 درصد محاسبه گردید. در ادامه یک میکروولتر اسانس رقیق شده با حلال نرمال هگزان به دستگاه GC/MS تزریق شد. مشخصات دستگاه مورد استفاده به شرح زیر می‌باشد. کروماتوگراف گازی مدل Agilent 7890A و با ستون DB-35MS (طول ستون 30 متر؛ قطر داخلی ستون، 250 میکرومتر؛ ضخامت فاز ثابت، 0/25 میکرومتر) که برنامه دمایی ستون

ارتفاع 5 تا 50 سانتی‌متر ساقه کرکپوش، متنوع برگ‌های بیضوی، گل قرمز ارغوانی و گل آذین چرخه‌ای که شامل گیاهان علفی چندساله و گاهی بوته‌ای است [3]. مریم‌نخودی بررسی شده در این تحقیق در فلور مناطقی همچون جنگل‌های حفاظت‌شده مازی‌بن و سی‌بن رامسر [4]، ارتفاعات استان سمنان [5]، پارک ملی کیاسر [6]، منطقه حفاظت‌شده قورخود در استان خراسان شمالی [7]، منطقه فاضل آباد استان گلستان [8] و سواد کوه در استان مازندران [9] شناسایی شده است.

گزارش‌های محدودی در خصوص اسانس این گونه خاص از مریم نخودی وجود دارد در ذیل به نمونه‌هایی از آنها جهت مقایسه اشاره می‌شود. در یک بررسی مشخص شد جرماکرن دی (16/5%)، ترانس بتا فارنسنین (12%)، بتا کاریوفیلین (10/5%)، آلفا پینن (9/1%) و دلتاکادنین (7/4%) مهمترین ترکیبات شناسایی شده در اسانس می‌باشند [10]. در بررسی دیگری که بر روی *Teucrium chamaedrys L.* انجام شد، ترکیبات جرماکرن دی (32%)، بتاکاریوفیلین (14%)، دلتاکادنین (13%)، بی‌سیکلوجرماکرن (6/7%) و بتافارنسنین (4%) مهمترین مواد تشکیل دهنده روغن اسانسی گیاه گزارش شده است [11]. در بررسی دیگری که بر روی این گیاه انجام شده نشان داد، ترکیبات بتاکاریوفیلین (29%)، جرماکرن دی (19%)، آلفا هومولن (6/8%) و دلتاکادنین (5/4%) مهمترین مواد تشکیل دهنده روغن اسانسی گیاه می‌باشند [12]. همچنین بررسی فیتوشیمیایی مقدماتی روی این گیاه نشان داده است که فلا نوئید، تانن و اسانس سه دسته مهم ترکیبات گیاه می‌باشند و فلاونوئیدهای استخراج شده از اندام هوایی گیاه احتمالاً از دسته فلاون‌ها می‌باشند [3].

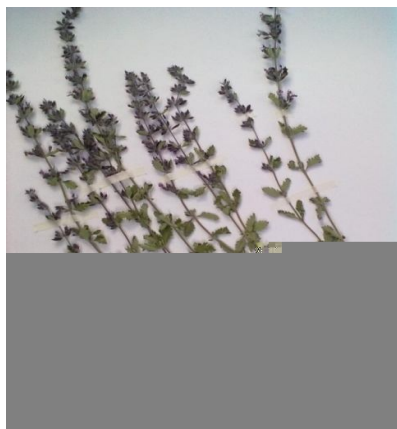
گزارش‌هایی در خصوص اسانس گونه‌های مختلف مریم نخودی وجود دارد که بسیاری از آنها توسط محققان ایرانی ارائه شده است. در ذیل به نمونه‌هایی از آنها جهت مقایسه اشاره می‌شود. مهمترین ترکیبات گیاه *Teucrium chamaedrys L. subsp. Chamaedrys* شامل لینالول، کاریوفیلین‌اکسید، 1و8 -سینئول، 3-اکتانول، آلفا و بتاپینن، بتاکاریوفیلین و جرماکرن دی، آلفامورولول و سیس بتافارنسنین گزارش شده است [13، 14]. بررسی اسانس

دارویی (آنتی بیوگرام) از اهمیت ویژه ای برخوردار است. یکی از رایج ترین روش ها در آزمایشگاه که نتایج آن به عنوان راهنمایی برای انتخاب آنتی بیوتیک مناسب در درمان مورد استفاده قرار می گیرد، روش انتشار از دیسک¹ می باشد که به عنوان Disk method نیز نامیده می شود [24]. در این تحقیق برای تعیین اولیه خواص ضدباکتریایی اسانس و اندازه گیری هاله های عدم رشد از این روش استفاده شد. غلظت های مورد نظر از اسانس خالص و ترکیبات اصلی روی دیسک های کاغذی استریل (قطر 6 میلی متر) ریخته شد و سپس دیسک ها روی محیط کشت آگار آلوده به باکتری ها قرار داده شدند. قطر هاله های عدم رشد بعد از 24 ساعت انکوباسیون در دمای 37 درجه سانتی گراد تعیین شد. قطر این هاله ها به کمک خط کش Hi Antibiotic Zone Scale اندازه گیری و نتایج میانگین سه بار تکرار محاسبه شدند.

یافته ها

جدول 1 مجموعه ترکیب های موجود در اسانس گیاه *tucreum chamaedrys* L. همراه با درصد ترکیب ها و شاخص بازداری را نشان می دهد. جدول دو و نمودار یک قطر هاله های تشکیل شده اسانس گیاه فراسیون در مقابل باکتری های مورد آزمایش را نشان می دهد.

به این نحو تنظیم گردید: دمای ابتدایی آون 60 درجه سانتی گراد و توقف در این دما به مدت 5 دقیقه، در ادامه دمای دستگاه 5 درجه سانتی گراد در هر دقیقه افزایش یافت تا رسیدن به دمای 270 درجه سانتی گراد و سپس در این دما به مدت 10 دقیقه باقی ماند. از گاز هلیوم به عنوان گاز حامل با سرعت جریان 1 میلی لیتر در دقیقه استفاده گردید. طیف نگار جرمی نیز با ولتاژ یونیزاسیون 70 الکترون ولت استفاده شد. جهت شناسایی طیف ها ابتدا الکانهای سری C₉-C₂₅ تحت شرایط ذکر شده به دستگاه GC/MS تزریق و زمان بازداری آنها به دست آمد. سپس تحت شرایط یکسان تزریق نمونه اسانس انجام شد. اندیس بازداری کوآتس، بازداری جزء موجود در نمونه را به بازداری هیدروکربن هایی که قبل و بعد از آن جزء از ستون خارج می شوند ربط می دهد [22,23]. با محاسبه ی KI نمونه و مقایسه آن با KI ترکیبات شناخته شده، ساختمان ترکیب مجهول شناسایی شد. علاوه بر اندیس کوآتس، مقایسه طیف های جرمی ترکیبات با طیف های جرمی استاندارد موجود در کتابخانه wiley7n.l دستگاه و Eight Peak که شامل مجموعه کتاب اندیس کوآتس استاندارد ترکیبات می باشد، صورت گرفت. با توجه به مقاومت روز افزون باکتری ها نسبت به مواد ضد میکروبی انجام یک تست صحیح و دقیق جهت تعیین حساسیت



شکل 1: *tucreum chamaedrys* L. جمع آوری شده از منطقه درکش (خراسان شمالی)

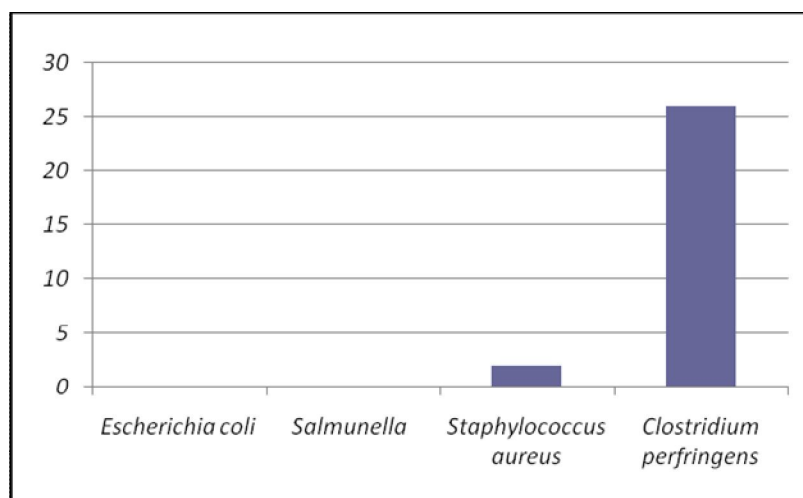
¹Disk diffusion

جدول 1: درصد وزنی واندیس کواتس ترکیبات تشکیل دهنده اسانس *tucreum chamaedrys* L. جمع آوری شده از منطقه درکش

شماره	نام ترکیب	شاخص بازداری	درصد ترکیب
1	γ -Terpinene	1040	1/92
2	α -Copaene	1385	2/42
3	β -Bourbonene	1406	2/01
4	β -Elemene	1414	1/68
5	β -Caryophyllene	1438	2/63
6	trans- β -Farnesene	1456	13/95
7	α -Humulene	1465	1/57
8	Germacrene-D	1488	20/47
9	bicyclogermacrene	1503	3/69
10	δ -Cadinene	1516	14/96
11	spathulenol	1591	4/39
12	α -Cadinol	1651	1/34
13	2-Pentadecanone 6,10,14-trimethyl	1802	2/61
14	Hexadecanoic acid	1904	1/52
15	Phytol	1955	2/87
16	Henecosane	2100	1/45
17	Docosane	2200	1/36

جدول 2: قطر هاله های تشکیل شده اسانس گیاه مریم نخودی طراز بر حسب میلی متر (ستاره ها به معنای عدم گزارش قطر هاله عدم رشد می باشد)

test bacteria	قطر هاله ها بر حسب میلی متر						
	25	12/5	6/25	3/12	1/56	0/78	0/3
<i>E.coli</i>	***	***	***	***	***	***	***
<i>Salmonella</i>	***	***	***	***	***	***	***
<i>Staphylococcus aureus</i>	2	1	***	***	***	***	***
<i>Clostridium perfringens</i>	26	14	5	3	***	***	***



نمودار 1: مقایسه میان بیشترین قطر هاله های عدم رشد باکتریها در اثر اسانس گیاه بر حسب میلی متر

بحث

همانطور که گفته شد وجود جنگل های هیرکانی شمال ایران در منطقه ای که درصد رطوبت بسیار پایین تری دارد، منجر به ایجاد تفاوت های اساسی میان گونه های گیاهی این منطقه با گونه های مشابه در سایر مناطق ایران شده است. نتایج این تحقیق که با مطالعه و بررسی دقیق مولفه های مختلف و ترکیبات استاندارد صورت گرفته است در جدول 1 آمده است. تجزیه و تحلیل کروماتوگرام و طیف های بدست آمده وجود 17 ترکیب را نشان می دهد که در مجموع بیش از 80% کل اسانس این گیاه را تشکیل می دهند. از میان ترکیبات شناسایی شده به ترتیب

جرماکرن دی (20/4%)، دلتاکادنین (14/9%) و ترانس بتافارنسنین (13/9%) اجزای اصلی اسانس بودند. بیشترین ترکیبات موجود در اسانس جزء سزکوئی ترپن ها بوده و با فرمول $C_{15}H_{24}$ می باشند. جرماکرن دی، دیگر ترکیب مهم موجود در اسانس با فرمول بسته $C_{15}H_{24}$ نیز یک سزکوئی ترین است. ایزومرهای مختلف جرماکرن که اغلب جرماکرانه نامیده می شوند، جزو هیدروکربن های سزکوئی ترینی فرار در روغن های اسانسی به شمار می روند که دارای خواص ضد میکروبی و دورکننده حشرات هستند. این ترکیبات اغلب به عنوان فرومونها های حشرات نیز عمل می کنند، که دارای

ترین‌ها می‌باشند، در مجموع شباهت زیادی از نظر کمی و کیفی بین این دو روغن دیده می‌شود. و احتمالاً روغن فرار این گیاهان از نظر درمانی می‌تواند دارای اثرات مشابهی باشند. اختلاف در کمیت و کیفیت روغن فرار این دو گیاه ممکن است به دلیل تفاوت در شرایط جغرافیایی و یا کموتیپ گیاهان باشد. همچنین از بین 17 ترکیب شناسایی شده در اسانس 9 سسکوئی ترین (53/15%) شناسایی شدند. نتایج آزمایشات ضد باکتریایی نیز نشان داد اسانس این گیاه بر باکتری‌های گرم منفی تاثیر نداشته اما مانع از رشد باکتری‌های گرم مثبت نظیر *Staphylococcus aureus* و *Clostridium perfringens* شده است. که در اینجا *Clostridium perfringens* یک باکتری بی‌هوازی می‌باشد که اسانس به خوبی مانع از رشد این باکتری شده است.

تشکر و قدر دانی

از مراکز، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، تحقیقات جهاد کشاورزی خراسان شمالی، اداره دامپزشکی خراسان شمالی و هرباریوم دانشکده فردوسی مشهد که در این تحقیق کمال همکاری را داشتند نهایت تشکر را داشته و همچنین از زحمات بی شائبه جناب آقایان، دکتر نعمت الهی، دکتر شریفان و دکتر معماریانی کمال تشکر را داریم.

درصد بالایی در این گیاه می‌باشد. همچنین مطالعات نشان داده که جرماکرن دی برخی گیرنده‌های عصبی را در حشرات فعال می‌کند [25].

اثرات ضد باکتریایی اسانس نیز که به وسیله روش دیسک دیفیوژن و بروی دو باکتری گرم مثبت، کلوستریدیوم پرفریژنس و استافیلوکوکوس اورئوس و دو باکتری گرم منفی سالمونلا و اشریشیاکلی مورد بررسی قرار گرفت نشان داد، اسانس گیاه *S. chlorolouca* اثر ضد میکروبی خوبی به ویژه بر روی باکتری‌های گرم مثبت دارد و از رشد باکتریهای *Staphylococcus aureus* و *Clostridium perfringens* جلوگیری می‌کند اما تاثیری بر باکتریهای گرم منفی ندارد، که این امر بی ارتباط با وجود لیپید در غشاء سلولی این دسته از باکتریها نمی‌باشد.

نتیجه گیری

مقایسه ترکیبات تشکیل دهنده موجود در، اسانس مطالعه شده در این تحقیق با اسانس به دست آمده از همین گیاه در منطقه دیگری از ایران نشان داد، جرماکرن دی، دلتا کادنین و ترانس بتا فارنسین موجود در اسانس بررسی شده در این تحقیق دارای درصد بالاتری می‌باشند. ولی از آنجا که ترکیبات مشابه زیادی در این روغن‌ها وجود دارد و ترکیبات عمده در هر دو منطقه ایران از دسته سزکوئی

References

1. Mozaffarian V, Dictionary Of Iranian Plant Names, Farhang Moaser Tehran Iran, 1996; 542-543.
2. Rechinger, K H, Flora Iranica. Akademische Druck Und Verlagsanstalt. Austria, 1982; 150: 28-30.
3. Syed Yusefi H, Morphology And Phytochemical Teucrium Chamaedrys Lam Subs P. Syspirense, Phd Thesis, College Of Pharmacy, 2003; no 81244.
4. Naqinezhad A, Hosseini S, Rajamand Ma, Saeidi S, Mehrvarz A, Floristic Study On Mazibon And Sibon Protected Forests, Ramsar, Across The Altitudinal Gradient (300-2300m), J Of Taxonomy And Biosystematics, 2010; 5: 93-114.
5. Rode B, et al, Herb Highlands In Semnan Provice, J of Iranian Biol Sci, 2008; 3(3): 1-6.
6. Ghahremaninejad F, Agheli F, Floristic Study On National Park Kyasar, J Of Taxonomy And Biosystematics, 2009; 1(1): 47-62.
7. Keshtkar H R, Yeganeh Badrabad H, Jabarzare A, Floristic Studies And Life Forms Of Ghorkhood Protected Area, Iranian Journal Of Biology, 2011; 24(3): 421-431.
8. Razavi S A, Hassanabbasi A, Floristic And Chorology Investigation Of Oriental Arborvitae In Sourkesh Reserve, J Wood & Forest Sci Tech, 2009; 16(2): 83-100.
9. Fallah F, Salim Pour F, Sharif Nia F, Biological Flora Of The Area And The City Of Savadkoh Plants In Mazandran Provice, J Of Iranian Biol Sci, 2009; 4(2): 29-42.
10. Morteza-Semnani K, Akbarzadeh M, Rostami B, The Essential Oil Composition Of Teucrium Chamaedrys L. From Iran, J Flavour Fragr, 2005; 20: 544-546.

11. Bagci E, Yazgin A, Hayta S, Cakilcioglu U, Composition Of The Essential Oil Of *Teucrium Chamaedrys* L. (Lamiaceae) From Turkey, *Journal Of Medicinal Plants Research*, 2010; 4(23): 2587-2589.
12. Alain Muselli, et al, Chemical Composition Of The Essential Oil Of *Teucrium Chamaedrys* L. From Corsica And Sardinia, *J Essent Oil Res*, 2009; 21(2): 138-143.
13. Amire H, Composition Of The Essential Oil Of *Teucrium Orientale* L Boiss Rech F, *J Of Med Plan*, 2008; 4(28): 100-104.
14. Kazemizadeh Z, Habibi Z, Moradi A, Chemical Composition Of The Essential Oils Of Two Populations *Teucrium Hyrcanicum* L. In Two Different Localities, Forest And Rangeland Research Center For Agriculture And Natural Resources Of West Azarbaijan, 2009; 1(1).
15. Kucuk M, Gulec C, Yasar A, Ucuncu O, Yaylı N, Coskuncelebi K, Terzioglu S, Nurettin Activities Of The Essential Oils Of *Teucrium Yaylı* Chemical Composition And Antimicrobial *Chamaedrys* Subsp. *Chamaedrys*, T. *Orientale* Var *Puberulens*, And T. *Chamaedrys* Subsp, *J Lydium Pharm Biol*, 2006; 44(8): 592-599.
16. Koacevic N N, Lakusic B S, Ristic M S, Composition Of The Essential Oils Of *Seventeucrium* Species From Serbia And Montenegro, *J Essent Oil Res*, 2001; 13(3): 163-165.
17. Bruno M, Rosselli S, Maggio A, Piozzi F, Scaglioni L, Arnold N, Simmonds M S J, Neoclerodanes From *Teucrium Orientale*, *J Chem Pharm Bull*, 2004; 52(12): 1497-1500.
18. Pourmotabbed A, Farshchi A, Ghiasi G, Malek Khatabi P, Analgesic And Anti-Inflammatory Activity Of *Teucrium Chamaedrys* Leaves Aqueous Extract In Male Rats, *Iranian J Basic Med Sci*, 2010; 13(3): 119-125.
19. Islam M W, Zakaria M N M, Radhakrishnan R, Ismail A, Liu X M, Chan K, Habibullah M, Preliminary Studies On The Antidiabetic Effect Of *Teucrium Stocksianum* Boiss, (Fam .Labiatae) In Streptozocin Diabetic Mice, *J Pharm Pharmacol*, 1999; 51: 342-343.
20. Islam M W, Zakaria M N M, Radhakrishnan R, Kamil M, Chan K C, Al-Attas A, Effect Of *Teucrium Stocksianum* On Gastric Ulcerationand Secretion In Rats, *J Pharm Biol*, 2002; 40(3): 206-216.
21. Rasheed R A, *Stocksianum* On Paracetamol Induced Effect Of *Teucrium*, *J Essent Oil Res*, 2001; 13(3): 163-165.
22. Shibamoto T, Retention Indices In Essential Oil Analysis In Capillary Gas Chromatography In Essential Oil Analysis Edits (Sandra P And Biechi C) Huethig, Verlag New York, 1987; 259-274.
23. Wd Davies B, Gas Chromatographic Retention Indices Of Monoterpenes And Sesquiterpenes On Methyl Silicone And Carbowax 20m Phases, *J Chromatograph*, 1990; 503: 1-24.
24. Syed Ali Mehbad A, Bacteriology And Virology, Mer Book, 2011; 380-390.
25. Nabavi B, Effect Of Essential Oils Of *Salvia Sclarea* And *Teucrium Polium* On Some Insect Repellent And Insecticidal, Masters Thesis, 2009.

Chemical Composition And Antibacterial Properties Of The Essential Oil Of *Tucreum Chamaedrys* L. Grown In North Khorasan Province

Golshan A ¹, *Khakshour* A ², Nematollahi A ³, Yadollahi A ^{4*}

¹Assistant Professor of Urology, natural products and herbs Safety Research Center, University of North Khorasan, Bojnourd, Iran

² Assistant Professor of Pediatrics, school of medicine, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnourd, Iran

³ Professional Doctorate of Pharmacy, natural products and herbs Safety Research Center, University of North Khorasan, Bojnourd, Iran

⁴M.sc Department of Chemistry, Quchan Branch, Islamic Azad University, Quchan, Iran

***Corresponding Author:**
Quchan Branch, Islamic Azad
University, Email:
Ahmad.Yald@yahoo.Com

Abstract

Background & Objectives: Darkesh the eastern boundary forests of area interlocking Hyrcanian is located in northern Iran, which is botanically unique area features a unique treasures of medicinal plants has become. Given the the lack scientific investigations on Considering the importance of forests and the habitat characteristics of *tucreum chamaedrys* L. Flowering leaves Darkesh area of in the North Khorasan province been collected. In addition to, this study compared with other areas of chemical compounds identified in the essential oils, essential oil are also antibacterial effect on Gram positive bacteria, Gram-negative and anaerobes were examined.

Materials & Methods: Samples were collected and after drying at room temperature, extracted by method of water distillation, essential oils yield 0.4% was obtained, respectively. Connected components of essential oil with gas chromatography mass spectrometer (GC/MS) were studied. The antimicrobial effects of essential oils by using of special paper discs were transferred to culture of bacteria and inhibition zone was measured after the usual period showed the effect of the oil.

Results: fifteen composition of the oil of *salvia chloroleuca* rech.f. & allen were characterized, representing 91% of the total detected components. The main constituents of the oil were identified as germacrene-D (22%), spathulenol (19.2), bicyclogermacrene (17.4%), β -Caryophyllene (9.47%) and Aromadendrene (6.49%). Also essential oil has antimicrobial effects against bacteria, *Escherichia coli*, *Salmunella*, *Clostridium perfringens*, and *Staphylococcus aureus* were investigated by using Disk diffusion drive. The highest antibacterial effects of essential oils were observed on *Staphylococcus aureus* and *Clostridium perfringens* strains.

Conclusion: Bicyclogermacrene and spathulenol as the essential oils have the most percent in comparison with the chemicals identified in other destines. Antibacterial test results also showed that it has no effect on Gram-negative bacteria, but it is effective on gram-positive bacteria such as *Staphylococcus aureus* and *Clostridium perfringen*.

Key words: Herbs, Disk diffusion, GC/MS, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringen*
