

شناسایی ترکیبات شیمیایی و بررسی خواص ضد باکتریایی اسانس مریم گلی سفید (*salvia chloroleuca* rech.f.&allen) در استان خراسان شمالی

احمد یداله‌ی^{۱*}، علی فیروزنیا^۲، قدیر رجب زاده^۳

^۱ دانش آموخته کارشناسی ارشد شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قوچان، قوچان، ایران

^۲ استادیار گروه شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد بجنورد، بجنورد، ایران

^۳ دانشیار شیمی، پژوهشکده علوم و صنایع غذایی

*نویسنده مسئول: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قوچان، قوچان، ایران

پست الکترونیک: ahmad.yald@yahoo.com

چکیده

زمینه و هدف: مریم‌گلی گیاهی است متعلق به خانواده نعنائیان که از روزگاران قدیم در مجموعه گیاهان دارویی مورد توجه خاص بوده است و امروزه اسانس گونه‌های مختلف آن در صنایع داروسازی، عطرسازی و فرآورده‌های آرایشی-بهداشتی و نیز به عنوان طعم‌دهنده در صنایع غذایی و نوشیدنی کاربردهای مهمی دارد. در این تحقیق علاوه بر مقایسه درصد ترکیبات شیمیایی شناسایی شده در اسانس گیاه با سایر مناطق، تاثیر ضد باکتریایی اسانس نیز بر روی باکتریهای گرم مثبت، گرم منفی و بی هوازی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش کار: گیاهان پس از خشک شدن در دمای محیط با روش تقطیر با بخار آب اسانس‌گیری شد. اسانس با بازده ۰/۴ درصد بدست آمد. ترکیب‌های موجود در اسانس با دستگاه گازکروماتوگراف متصل شده به طیف سنج جرمی (GC/MS) مورد بررسی قرار گرفت. سپس اثرات ضد میکروبی اسانسها به وسیله دیسکهای کاغذی مخصوص به محیط کشت باکتری انتقال یافته و پس از مدت معمول اندازه‌گیری هاله عدم رشد میزان اثر اسانس را نشان داد.

یافته‌ها: ۱۵ ترکیب در اسانس گیاه *S. chloroleuca* شناسایی شده که ۹۱٪ اسانس را تشکیل می‌دهد و به ترتیب جرم‌اکرن دی (۲۱/۹۹٪)، اسپاتونول (۱۹/۲۷٪)، بی سیکلوجرم‌اکرن (۱۷/۴۵٪)، بتا کاربوفیلین (۹/۴۷٪) و آرومادندین (۶/۴۹٪) بالاترین درصد اسانس را به خود اختصاص داده‌اند. همچنین اثرات ضد میکروبی اسانس نیز علیه باکتریهای کلوستریدیوم پرفریژنس، استافیلوکوکوس اورئوس، سالمونلا و اشریشیاکلی و با استفاده از روش دیسک دیفیوژن بررسی شد. که بیشترین اثرات ضد باکتریایی اسانس بر روی سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس و کلوستریدیوم پرفریژنس دیده شد.

نتیجه گیری: بی‌سیکلوجرم‌اکرن و اسپاتونول موجود در اسانس بررسی شده در این تحقیق، بیشترین درصد را در مقایسه با ترکیبات شیمیایی شناسایی شده این گیاه در سایر مناطق به خود اختصاص داده است. نتایج آزمایشات ضد باکتریایی نیز نشان داد اسانس این گیاه بر باکتری‌های گرم منفی تاثیر نداشته اما بر باکتری‌های گرم مثبت موثر بوده است، نظیر استافیلوکوکوس اورئوس و کلوستریدیوم پرفریژنس.

واژه‌های کلیدی: گیاهان دارویی، مریم‌گلی سفید، دیسک دیفیوژن، GC/MS، استافیلوکوکوس اورئوس، کلوستریدیوم پرفریژنس

مقدمه

دارای خواص ضد باکتری^۱، ضد قارچی^۲ و همچنین ضد توموری^۳، آنتی اکسیدانتی^۴ و ضد التهابی^۵ بوده و علاوه بر آن در صنایع عطرسازی و آرایشی کاربرد فراوانی دارند. به همین علت در طب سنتی به منظور درمان سرماخوردگی، برونشیت، ناراحتی‌های گوارشی و سل مورد استفاده قرار

مریم‌گلی گیاهی است علفی، متعلق به خانواده نعنائیان (*Lamiaceae*) که در ایران با داشتن ۵۸ گونه گیاه علفی یک‌ساله و چند ساله و ۱۷ گونه انحصاری وجود دارد [۱]. این جنس شامل گیاهان پایا و به صورت بوته‌های چوبی یا درختچه مانند و غالباً نیز بسیار معطر هستند. برگ‌ها کامل، تقسیم نشده یا دارای تقسیمات چنگی یا شانه‌ای هستند. گونه‌های مختلف جنس سالویا نشان داده‌اند که

- 1-Antibacterial
- 2-antifungal
- 3-Anti-tumor
- 4-Antioxidant.
- 5- anti-inflammatory.

و در فارماکوپه آلمان نوع *salvia triloba* برای این گیاه مشخص شده است [۷].

روش کار

اندام‌های هوایی گیاه *salvia chloroleuca* در اوایل مرداد ماه سال ۱۳۹۱ از منطقه پارک ملی سالوک در استان خراسان شمالی و از ارتفاع ۱۲۰۰ متری جمع آوری گردید، مقدار ۸۰ گرم از برگ و گل خشک گیاه توسط روش تقطیر با بخار آب مورد اسانس‌گیری قرار گرفت. اسانس پس از جدا سازی جمع آوری گردید و با سدیم‌سولفات آبگیری شد. بازده اسانس بدست آمده با توجه به وزن خشک ۰/۴ درصد محاسبه گردید.

در ادامه یک میکرولیتر اسانس رقیق شده با حلال نرمال‌هگزان به دستگاه GC تزریق شد تا درصد ترکیب‌های تشکیل دهنده آن معلوم شود و همچنین اسانس با استفاده از دستگاه GC/MS آنالیز شد تا نوع ترکیب‌های تشکیل دهنده آن مشخص شود. مشخصات دستگاه مورد استفاده به شرح زیر می‌باشد. کروماتوگراف گازی مدل Agilent 7890A و با ستون DB-35MS (طول ستون ۳۰ متر؛ قطر داخلی ستون، ۲۵۰ میکرومتر؛ ضخامت فاز ثابت، ۰/۲۵ میکرومتر) که برنامه دمایی ستون به این نحو تنظیم گردید: دمای ابتدایی آن ۶۰ درجه سانتی‌گراد و توقف در این دما به مدت ۵ دقیقه، در ادامه دمای دستگاه ۵ درجه سانتی‌گراد در هر دقیقه افزایش یافت تا رسیدن به دمای ۲۷۰ درجه سانتی‌گراد و باقی ماندن در این دما به مدت ۱۰ دقیقه. از گاز هلیوم به عنوان گاز حامل با سرعت جریان ۱ میلی‌لیتر در دقیقه استفاده گردید. طیف نگار جرمی نیز با ولتاژ یونیزاسیون ۷۰ الکترون‌ولت استفاده شد. جهت شناسایی طیف‌ها ابتدا الکانهای نرمال 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 کوئاس، بازداری جزء موجود در نمونه را به بازداری هیدروکربن‌هایی که قبل و بعد از آن جزء از ستون خارج می‌شوند ربط می‌دهد [۸، ۹]. با محاسبه اندیس کوئاس نمونه و مقایسه آن با اندیس کوئاس ترکیبات شناخته شده، ساختمان ترکیب مجهول شناسایی شد. علاوه بر اندیس کوئاس، مقایسه طیف‌های جرمی ترکیبات با طیف‌های

می‌گرفتند [۲، ۳، ۴]. همچنین در سال‌های اخیر گزارش شده است که اسانس مریم‌گلی به دلیل وجود ترکیب ۸، ۱- سینئول دارای خاصیت ضدباکتری می‌باشد [۵، ۶]. به همین علت گونه‌ای از جنس مریم‌گلی با نام *salvia chloroleuca* که تا به حال هیچ گونه گزارشی از ترکیبات شیمیایی و خواص ضدباکتریایی این گیاه در منطقه پارک ملی سالوک مشاهده نگردیده است، انتخاب شده و مورد بررسی قرار گرفت. به نحوی که پس از استخراج اسانس، شناسایی ترکیب‌های شیمیایی موجود در آن با کمک دستگاه گازکروماتوگراف متصل شده به طیف سنج جرمی (GC/MS) بررسی شده و ارزیابی اثرات ضد میکروبی اسانس نیز بر اساس اندازه‌گیری قطر هاله‌های عدم رشد به روش دیسک- دیفیوژن صورت گرفت.

اسانس مریم‌گلی که معمولاً از نوع وحشی گیاه تهیه می‌گردد، مایعی است به رنگ زرد یا زرد مایل به سبز با بوی مخصوص حاوی بیش از ۵۰٪ ستن‌ها بر حسب *thujone* که به نام سالویون و سالوون نیز موسوم است. همچنین حاوی پینن، سینئول و بورنئول نیز می‌باشد و در یک تا دو قسمت الککل ۸۰ درجه حل می‌شود. بخش مورد استفاده گیاه برگ‌های خشک بوده و شامل یک تا ۲/۵ درصد اسانس فرار می‌باشد. از جمله اثرات درمانی اسانس مریم‌گلی می‌توان به اثر ضد نفخ و اثر طعم‌دهندگی گوشت اشاره کرد. ولی چون این اسانس بسیار سمی است نباید مورد استفاده درمانی قرار گیرد. اما خود گیاه که با ارزش‌ترین گیاه داروئی تیره نعناع می‌باشد، دارای اثرات درمانی مهم با اثر قاطع است. برگ آن به علت دارا بودن اسانس اثر نیرودهنده و به واسطه وجود تانن مقوی است. همچنین تسهیل کننده عمل هضم بوده، ضد تشنج، قاعده‌آور، تب بر و مدر نیز می‌باشد [۷].

اسامی مترادف *salbeiblatter. Feuilles de sauge* درفارماکوپه‌های اتریش، آلمان، مجارستان یوگوسلاوی، لهستان، پرتغال، رومانی، روسیه و سوئیس موجود است. درفارماکوپه چکوسلواکی عنوان *sage herb*

⁶ Anti-convulsant.

پاسخ نمی‌دهد (صرف نظر از میزان و محل عفونت) نتایج به دست آمده با استفاده از خط‌کش و اندازه‌گیری قطر منطقه ممانعت از رشد در واحد میلی‌متر و مقایسه آن با جدول استاندارد بدست آمدند (جدول ۳).

یافته ها

جدول ۱ مجموعه ترکیب‌های موجود در اسانس گیاه *salvia chloroleuca* همراه با درصد ترکیب‌ها و شاخص بازداري را نشان می‌دهد.

بحث

نتایج این تحقیق که با مطالعه و بررسی دقیق مولفه‌های مختلف و ترکیبات استاندارد صورت گرفته است در جدول ۱ آمده است. تجزیه و تحلیل کروماتوگرام و طیف‌های به‌دست آمده وجود ۱۵ ترکیب را نشان می‌دهد که در مجموع بیش از ۹۱٪ کل اسانس این گیاه را تشکیل می‌دهند. از میان ترکیبات شناسایی شده به ترتیب جرم‌اکرن دی (۲۱/۹۹٪)، اسپاتولنول (۱۹/۲۷٪)، بی‌سیکلوجرم‌اکرن (۱۷/۴۵٪)، بتا کاریوفیلین (۹/۴۷٪) و آرومادندرين (۶/۴۹٪) بالاترین درصد اسانس را به خود اختصاص داده‌اند. همچنین بیشترین ترکیبات موجود در اسانس جزء سزکوئی‌ترین‌ها بوده و با فرمول $C_{15}H_{24}$ می‌باشند. جرم‌اکرن‌دی، دیگر ترکیب مهم موجود در اسانس، با فرمول بسته $C_{15}H_{24}$ نیز یک سزکوئی‌ترین است و ایزومرهای مختلف آن که اغلب جرم‌اکرن‌ها نامیده می‌شوند جزو هیدروکربن‌های فرار روغن‌های اسانسی به شمار می‌روند که دارای خواص ضد میکروبی و دورکننده حشرات هستند. این ترکیبات اغلب به عنوان فرومونهای حشرات نیز عمل می‌کنند و مطالعات نیز نشان داده که جرم‌اکرن دی برخی گیرنده‌های عصبی را در حشرات فعال می‌کند. که این ترکیب درصد بالایی از اسانس را به خود اختصاص داده است [۱۱]. همچنین گیاه مریم‌گلی در فرمول حشره‌کش‌ها وارد شده و در عطرسازی مورد استفاده قرار می‌گیرد [۷]. ترکیب بی‌سیکلو جرم‌اکرن نیز یک سزکوئی‌ترین دوحلقه‌ای با فرمول $C_{15}H_{24}$ می‌باشد که بسیار معطر بوده و جزء سازنده روغن مرکبات است و در صنایع عطرسازی و آرایشی-بهداشتی کاربرد بسیار دارد. برای کاریوفیلین نیز که جزء سازنده اسانس می‌باشد و دارای درصد بالایی می‌باشد، اثراتی همچون خواص ضد

جرمی استاندارد موجود در کتابخانه wiley7n.l دستگاه و Eight Peak که شامل اندیس کوآتس استاندارد ترکیبات می‌باشد نیز صورت گرفت.

سنجش ضدباکتریایی بر اساس روش انتشار روی دیسک^۷ توسط کمیته بین المللی آزمایشگاه بالینی استاندارد (NCCLS) (۲۰۰۲) بیان شده است. غلظت‌های مورد نظر از اسانس خالص و ترکیبات اصلی توسط میکروپلیت ۹۶ خانه ای تهیه و روی دیسک‌های کاغذی استریل (قطر ۶ میلی‌متر) ریخته شد و سپس دیسک‌ها روی محیط کشت آگار آلوده به باکتری قرار داده شدند، البته برای باکتری کلستریدیوم پرفریژنس از محیط کشت اختصاصی آن بجای تریپ تیکسوی‌براث استفاده شد. این محیط کشت Reinforced clostridial medium می‌باشد. همچنین به دلیل بی‌هوازی بودن این باکتری برای کشت آن در انکوباتور از جار^۸ به همراه گازپک^۹ A استفاده گردید.

در ادامه دیسک‌های آغشته توسط پنس استریل به تعداد هفت عدد بر روی پلیت‌هایی که ۹-۱۰ سانتی متر قطر دارند (۶ عدد در اطراف پلیت و یک دیسک در وسط) قرار داده شدند به طوری که ۱۵ میلی‌متر از لبه پلیت فاصله داشته باشند. قطر هاله‌های عدم رشد بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و با میانگین سه‌بار تکرار محاسبه شدند (شکل-۱). قدرت فعالیت به عنوان بسیار قوی (++++ با قطر منطقه مهار بیش از ۲۵ میلی‌متر، برای قوی (+++) با قطر منطقه مهار در محدوده ۱۵-۲۴ میلی‌متر، برای متوسط (++) با قطر منطقه مهار در محدوده ۱۱-۱۴ میلی‌متر و برای ضعیف (+) با قطر منطقه مهار در محدوده ۸-۱۰ میلی‌متر نمایش داده شد (جدول ۲) [۱۰]. نتایج تست حساسیت به صورت زیر تفسیر می‌شوند، حساس^{۱۰} زمانی است که عفونت ایجاد شده بوسیله دارو در میزان معین پیشنهادشده درمان شود. حد واسط^{۱۱} نیز نشان دهنده استفاده از حداکثر دوز غیر سمی دارو در درمان عفونت می‌باشد که بیانگر نتایج دو پهلوی و مبهم است، مقاوم^{۱۲} که در آن ارگانیزم به دارو

⁷ Disk diffusion method

⁸ Jar

⁹ Gas pack A

¹⁰ Susceptible

¹¹ intermediate

¹² Resistant

میکروبی، ضد التهاب و ضد اسپاسم گزارش شده است [۱۲]. اثرات ضد باکتریایی اسانس نیز که به وسیله روش دیسک دیفیوژن و بر روی 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. گزارش‌های محدودی در خصوص اسانس این گونه خاص از مریم گلی وجود دارد در ذیل به نمونه‌هایی از آنها جهت مقایسه اشاره می‌شود. اسانس گیاه *S. choroleuca* توسط علیشاهی نورانی و همکارانش آنالیز شد که نشان داد این گیاه شامل ۱۲ ترکیب بوده و ترکیب‌های بتا-کاربوفیلین (۳۷٪) و جرماکرن دی (۳۷/۴٪) و بی سیکلوجرماکرن (۷/۱٪) بالاترین درصد اسانس را به خود اختصاص داده‌اند. همچنین اثرات ضد میکروبی اسانس به وسیله روش دیسک بر روی دو باکتری گرم مثبت، باسیلوس سابیتیلیس و استافیلوکوکوس اورئوس و دو باکتری گرم منفی، سودوموناس آئروجینوزا و اشریشیاکلی مورد بررسی قرار گرفته است. که نشان داده اثر ضد میکروبی گیاه *S. chlorolouca* از رشد باکتری‌های *E. coli* و *S. Aureus* جلوگیری می‌کند و اثر قابل توجهی بر باکتری‌های مورد بررسی دارد [۱۳]. در یک تحقیق دیگر که توسط یوسفزاده و همکارانش بر روی همین گونه انجام شده است نشان داد اسانس گیاه شامل، سی و چهار جزء بوده و بتاپنین (۱۰/۶٪)، آلفا پنین (۹٪)، بتا کاربوفیلین (۹٪)، ۸،۱-سینئول (۹٪) و کارواکرول (۷/۹٪) اجزای اصلی بوده‌اند. فعالیت ضد میکروبی اسانس *S. chloroleuca* نیز علیه هفت باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی (باسیلوس سوبیتیلیس، انتروکوک فکاليس، استافیلوکوک اورئوس، اپیدرمیدیس، اشریشیاکلی، پسودوموناس آئروژینوزا و کلبسیلا پنومونیه) مورد مطالعه قرار گرفت، روش دیسک دیفیوژن و مقادیر MIC نشان داد که اسانس

فعالیت ضد میکروبی متوسط به بالا به نمایش گذاشته است [۱۴]. علیرغم مشابه بودن گونه‌ها تفاوت‌هایی در خواص ضد باکتریایی دو نمونه کار شده با گیاه بررسی شده در این تحقیق دیده می‌شود. این گیاه در فلور اصفهان نیز گزارش شده است [۱۵]. گزارش‌هایی در خصوص اسانس سایر گونه‌های مریم‌گلی نیز وجود دارد که بسیاری از آنها توسط محققان ایرانی ارائه شده است. درذیل به نمونه‌هایی از آنها جهت مقایسه اشاره می‌شود. در تحقیقی که توسط حبیبی و همکاران صورت گرفت، در اسانس گونه *S. persepolitana* مانول (۳۷/۳٪) و در اسانس گونه *S. rhytidea*، ترپینولن (۲۷/۰٪)، سابینن (۱۷/۵٪) و لیمونن (۱۴/۹٪) شناسایی شدند [۱۶]. اسانس گونه *S. brachycalyx* نیز توسط مشکات السادات و اسدی آنالیز شد که ۸، ۱-سینئول (۷۶/۵٪) و گرانول (۱۵/۰٪) به عنوان اجزای اصلی گزارش شدند [۱۷]. در مطالعه دیگر که روی اسانس دو گونه *S. aethiopsis* و *S. hypoleuca* توسط روستایان و همکاران صورت گرفت، بتاکاربوفیلین به ترتیب با (۲۴/۶٪) و (۲۲/۰٪) بیشترین میزان را داشتند [۱۸]. در تحقیقی که توسط سنبلی و همکاران صورت گرفت، در اسانس گونه *S. masilenta* سی و یک ترکیب شناسایی شد که گاما المن (۶/۱٪)، تیمول (۵/۲٪) و المول (۴/۷٪) و بتاکاربوفیلین (۴/۱٪) بیشترین میزان را داشتند [۱۹]. همچنین در تحقیقی که توسط صالحی و همکاران بر روی گونه *S. palestinea* و در سال ۲۰۰۵ مورد مطالعه قرار گرفت، جرماکرن دی (۱۴/۰٪) و بتا بیسابولن (۱۱/۹٪) به عنوان اجزاء اصلی شناسایی شدند [۲۰]. در مطالعه دیگری که توسط جاویدنیا و همکارانش در سال ۲۰۰۲ بر روی اسانس گونه *S. mirzayanii* انجام شد، اسپاتولنول (۱۰/۴٪)، دلتا کادینول (۵/۸٪) و لینالول (۵/۲٪) به عنوان ترکیب‌های غالب گزارش شده‌اند [۲۱].

نتیجه گیری

مقایسه ترکیبات تشکیل دهنده موجود در اسانس مطالعه شده در این تحقیق با اسانس به دست آمده از همین گیاه در سایر مناطق ایران نشان داد، بی‌سیکلوجرماکرن و اسپاتولنول موجود در اسانس بررسی شده در این تحقیق،

جدول ۱: درصد وزنی و اندیس کواتس ترکیبات تشکیل دهنده اسانس *salvia chloroleuca* جمع آوری شده از پارک ملی سالوک بجنورد

شماره	نام ترکیب	شاخص بازداری	درصد ترکیب
۱	(-)-Bornyl Acetate	۱۲۹۶	۱/۵۷
۲	β -Bourbonene	۱۴۰۶	۱/۶۲
۳	β -Elemene	۱۴۱۴	۱/۸۴
۴	β -Caryophyllene	۱۴۳۸	۹/۴۷
۵	α -Gurjunene	۱۴۶۴	۱/۲۹
۶	Aromadendrene	۱۴۷۱	۶/۴۹
۷	Germacrene D	۱۴۹۱	۲۱/۹۹
۸	Bicyclogermacrene	۱۵۰۳	۱۷/۴۵
۹	Spathulenol	۱۵۹۱	۱۹/۲۷
۱۰	Isospathulenol	۱۶۳۸	۲/۳۱
۱۱	α -Cadinol	۱۶۵۱	۱/۹۲
۱۲	α -Bisabolol	۱۶۶۱	۱/۷۷
۱۳	γ -Gurjunenepoxide	۱۹۹۵	۱/۲۲
۱۴	Docosane	۲۳۰۰	۱/۹۲
۱۵	Tetracosan	۲۴۰۰	۱

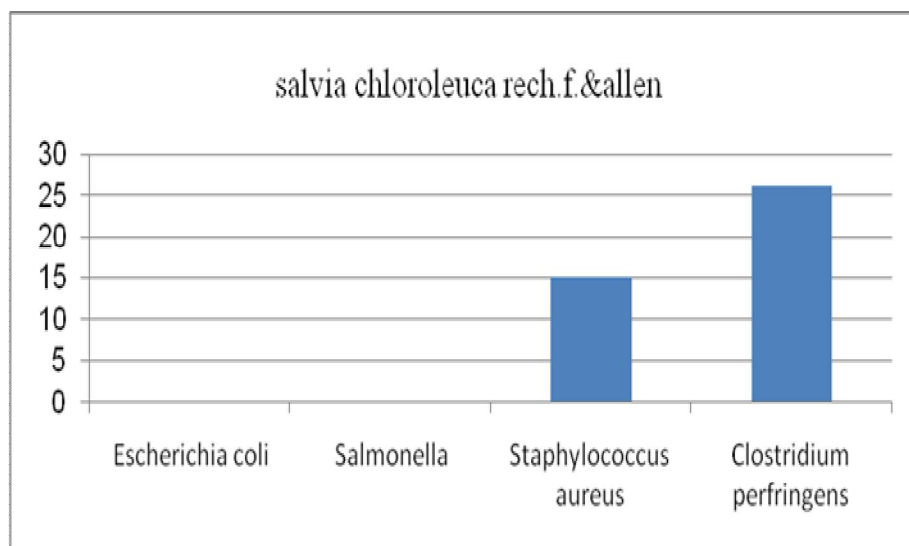
جدول ۲: نتایج ضدباکتری اسانس گیاه مریم گلی سفید

Concentrations ^a	Bacterial species ^b			
	<i>C. perfringens</i> ^c	<i>S. aureus</i>	<i>Salmonella</i>	<i>E.coli</i>
۲۵	++++	+++	-	-
۱۲/۵	++	++	-	-
۶/۲۵	++	+	-	-
۳/۱۲	+	-	-	-
۱/۵۶	-	-	-	-
۰/۷۸	-	-	-	-
۰/۳	-	-	-	-
negative standard	Complete growth			

^a Provided by dilution method.

^b Cultured on molten hinton agar at 37 °C for 1 day.

^c Zone of inhibition diameter >25 mm,++++; 24-15 mm, +++; 14-11 mm, ++; 10-8 mm, +; <8 mm,-.



شکل ۲: مقایسه میان بیشترین قطر هاله‌های عدم رشد باکتریها در اثر اسانس گیاه برحسب میلی‌متر

جدول ۳: الگوی حساسیتی سویه‌های باکتری مورد بررسی نسبت به اسانس‌ها

سویه باکتری	اسانس مریم‌گلی سفید
E.coli	R
Salmonella	R
Clostridium perfringens	S
Staphylococcus aureus	S

R: Resistant (مقاوم)

S: Sensitive (حساس)

I: Intermediate (حد واسط)

کلستریدیوم پرفریژنس شده است. در اینجا کلستریدیوم پرفریژنس یک باکتری بی‌هوازی می باشد که اسانس به خوبی مانع از رشد این باکتری شده است. اما پیشنهاد می گردد در تحقیقات بعدی نسبت به، به کارگیری متدهای استاندارد دیگر از جمله روش چاهک و نیز تعیین MIC و از همه مهمتر بررسی اثرات آنها در شرایط *in vivo* اقداماتی صورت گیرد.

تشکر و قدر دانی

از مراکز، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، تحقیقات جهاد کشاورزی خراسان شمالی، اداره دامپزشکی خراسان شمالی و هرباریوم پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه 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 معماربانی کمال تشکر را داریم.

بیشترین درصد را در مقایسه با سایر مناطق ایران دارا می باشند. اگرچه جرماکرن دی با میزان ۲۱/۹۹ درصد و اسپاتونول با میزان ۱۹/۲۷ درصد به عنوان یک ترکیب شاخص در اسانس گیاه منطقه سالوک ظاهر شده است ولی از آنجا که ترکیبات مشابه زیادی در این روغن ها وجود داشته و ترکیبات عمده در هر سه منطقه ایران از دسته سزکوئی ترپن ها می باشند، در مجموع شباهت زیادی از نظر کمی و کیفی بین این سه روغن دیده می شود. و احتمالاً روغن فرار این گیاهان از نظر درمانی می توانند دارای اثرات مشابهی باشند. اختلاف در کمیت و کیفیت روغن فرار این سه گیاه ممکن است به دلیل تفاوت در شرایط جغرافیایی و یا کموتیپ گیاهان باشد.

همچنین از بین ۱۵ ترکیب شناسایی شده در اسانس این گیاه، ۸ سزکوئی ترپن (۷۶/۰۲٪) شناسایی شدند. نتایج آزمایشات ضد باکتریایی نیز نشان داد اسانس این گیاه بر باکتری های گرم منفی تاثیر نداشته اما مانع از رشد باکتری های گرم مثبت نظیر استافیلوکوکوس اورئوس و

References

1. Mozaffarian V, Dictionary of Iranian Plant Names. Farhange Moaser: Tehran, 2004; 671. (In Persian)
2. Hosseinzadeh H, Haddadkhodaparast MH, Arash AR, antitumor inflammatory and acute toxicity effects of *Salvia leriifolia* Benth seed extract, *J Phytother Res*, 2003; 17: 422-425.
3. Kelen M, Tepe B, Chemical composition antioxidant and antimicrobial properties of the essential oils of three *Salvia* species from Turkish flora, *J Bioresource Technol*, 2008; 99: 96-104.
4. Zargare A, Medicinal plants 1st ed. Tehran: University Press Center, 1992: 28-209. (in Persian)
5. Salehi P, Sonboli A, Ebrahimi S N, Yousefzadi M, Antimicrobial and antioxidant activity of the essential oils and various extract of *Salvia sahandica* in different phenological stage, *J Chem Nat Comp*, 2007; 43: 328-330.
6. Yousefzadi M, Sonboli A, Karimi F, Ebrahimi S N, Asghari B, Zeinali A, antimicrobial activity of some *Salvia* species essential oil, *Z Naturforsch*, 2007; 62: 514-518.
7. Momeni T, Shahrokhi N, Essential oils and their therapeutic actions. Tehran Univ Press Tehran Iran, 1997; 7: 125 (in Persian)
8. 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.
9. Wd Davies B, Gas chromatographic retention Indices of monoterpenes and sesquiterpenes on methyl silicone and carbowax 20m phases, *J Chromatograph*, 1990; 503: 1-24.
10. Nematollahi A, et al, Anti-bacterial Antioxidant activity and Phytochemical study of *Diospyros wallichii*-an Interesting Malaysia's endemic species of Ebenaceae, *J PharmTech Res*, 2011; 3(3): 0974-4304
11. Sefidkon F, Bahmanzadegan A, Golipour M, Mozafarian V, Meshkizadeh S, Identification and comparison of chemical composition of the essential oils of *Bunium cylindricum* (Boiss. & Hohen.) Drude and *Bunium rectangulum* Boiss. & Hausskn, *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 2010; 26(3).
12. Duke J K, Beckstrom-Stenberg S M, Handbook of medicinal mints. CRC Press, London, 2001; 88: 384.
13. Alishahi-Noorani F, sefidkon F, yousefzadi M, Namati S, Khajeh-piri M, investigation of chemical compositions and anti -microbial effects of essential oils of *Salvia chloroleuca* Rech. f. Aell. and *Nepeta fissa* C. A. Mey, *iranian journal of medicinal and Aromatic Plants research*, 2005; 21(4).
14. Yousefzadi M, Sonboli A, Ebrahimi SN, Hashemi SH, Antimicrobial Activity of Essential Oil and Major Constituents of *Salvia chloroleuca*, *Z Naturforsch*, 2008; 73: 337-340.
15. Aliakbari M, Vahabi AM, Saadatfar A, Quantifying the Rate of Environmental Factors Effect on *Astragalus verus* and *Agropyron trichophorum* Using Decisio Support System and Multivariate Analysis of PCA, *Journal of Rangeland Science*, 2011; 1(4).
16. Habibi Z, Yousefi M, Aghaie HR, Salehi P, Masoudi S, Rustaiyan A, Chemical composition of essential oil of *Salvia persepolitana* boiss. and *Salvia rhytidea* benth. from Iran, *J Essent Oil Res*. 2008; 20: 1-3 .
17. Meshkatsadat MH and Asadi M, Chemical composition of essential oil of *Salvia brachycalyx* boiss. at flowering stage from Iran, *Asian J Chem*, 2007; 19: 4951-4953 .
18. Rustaiyan A, Masoudi S, Monfared A and Komeilizadeh H, Volatile constituents of three *Salvia* species grown wild in Iran, *Flavour Fragr J*, 1999; 14: 276 -278 .
19. Sonboli A, Fakhari AR, Sefidkon F, Chemical composition of the essential oil of *Salvia macilentia* from Iran, *Chem Nat Comp*, 2005; 41: 168-170.
20. Salehi P, Sefidkon F, Tolami LB, Sonboli A, Essential oil composition of *Salvia palaestina* Benth from Iran, *Flavour Fragr J*, 2005; 20: 525-527 .
21. Javidnia K, Miri R, Kamalinejad M, Nasiri A, Composition of the essential oil of *Salvia mirzayanii* Rech. f. & *Esfand* from Iran, *Flavour Fragr J*, 2002; 17: 465-467.

Chemical composition and antibacterial properties of the essential oil of *Salvia chloroleuca* Rech.F. & Allen. In North Khorassan Province

Yadollahi A^{*1}, Firouznia A², Rajab Zadeh Gh³

¹ M.sc Department Of Chemistry, Quchan Branch, Islamic Azad University, Quchan, Iran

² Assistant Department Of Chemistry, bojnourd Branch, Islamic Azad University, bojnourd, Iran

³ Associate prof., Chem.Research Institute of food science and thnology

Abstract

Background & Objectives: *salvia* genus belongs to *lamiaceae* family that was used in ancient and its application in culinary, flavor cosmetics, food and drinking industries is important. in addition, this study compared with other areas of chemical compounds identified in the essential oil, essential oils are also antibacterial effect on gram-positive bacteria, gram-negative and anaerobic examined.

Materials & Methods: Sample were collected And After drying at room temperature, samples 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 using special paper discs were transferred to culture bacteria 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 components detected.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 have antimicrobial effects against bacteria, *Escherichia coli*, *Salmunella*, *Clostridium perfringens*, and *Staphylococcus aureus* was investigated by using Disk diffusion drive The highest antibacterial effects of essential oils on *Staphylococcus aureus* and *Clostridium perfringens* strains was observed.

Conclusion: bicyclogermacrene and spathulenol are inrestigated in the essential oil of this study have Most Percent in comparison with therrv □p M Ppost □□pd ne□pm