

بررسی مواد تشکیل دهنده اسانس و اثرات ضدباکتریایی گیاه *Heptaptera anisoptera* از خانواده چتریان

بهمن نیک‌آور^۱، فراز مجاب^{۲،۳*}، نسرين راهرو^۴، سارا سیدمدنی^۵، محمد کمالی‌نژاد^۶، هادی مهرگان^۷

- ۱- دانشیار، گروه فارماکونوزی و بیوتکنولوژی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شهیدبهشتی، تهران
 - ۲- استاد، مرکز تحقیقات علوم دارویی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران
 - ۳- استاد، گروه فارماکونوزی و بیوتکنولوژی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران
 - ۴- داروساز، دانش‌آموخته دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران
 - ۵- داروساز، دانش‌آموخته واحد علوم دارویی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران
 - ۶- کارشناس آزمایشگاه گیاهان دارویی، گروه فارماکونوزی و بیوتکنولوژی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران
 - ۷- استادیار، گروه فارماسیوتیکس، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران
- *آدرس مکاتبه: تهران، خیابان حضرت ولی عصر (عج)، بالاتر از میرداماد، تقاطع جنوبی بزرگراه نیا، دانشکده داروسازی شهید بهشتی، کدپستی: ۱۹۹۱۹۵۳۳۸۱، صندوق پستی: ۶۱۵۳ - ۱۴۱۵۵
تلفن: ۸۸۲۰۰۰۶۱ (۰۲۱)، شماره ۸۸۶۶۵۲۵۰ (۰۲۱)
پست الکترونیک: sfmojab@yahoo.com

تاریخ تصویب: ۹۰/۳/۸

تاریخ دریافت: ۸۷/۱۱/۶

چکیده

مقدمه: گیاه *Heptaptera anisoptera* (DC.) Turin از خانواده چتریان در نقاط مختلفی از کشور ما می‌روید. تاکنون چند ترکیب شیمیایی از این گیاه جداسازی و تعیین ساختار شده‌اند، اما تا آنجا که ما بررسی کرده‌ایم، تاکنون آنالیز اسانس این گیاه و بررسی اثر ضدباکتریایی آن گزارش نشده است.

هدف: بررسی ترکیبات شیمیایی اسانس با دستگاه GC/MS و اثرات ضدباکتریایی گیاه *Heptaptera anisoptera*

روش بررسی: گیاه موردنظر در بهار ۱۳۸۶ از منطقه طالقان- استان تهران جمع‌آوری و پس از شناسایی، اسانس آن به روش تقطیر با آب استخراج شد. نمونه اسانس پس از آگیری، با دستگاه GC/MS مورد بررسی و آنالیز قرار گرفت. روش شناسایی بر اساس مقایسه طیف‌های جرمی و ضرایب بازدارندگی اجزاء با استانداردها بود. عصاره‌های متانولی، کلروفرمی و هگزانی این گیاه با اسباب سوکسله تهیه و اثر ضدباکتریایی رقت‌های مختلف این عصاره‌ها روی ۱۰ باکتری گرم مثبت و منفی آزمایش شد.

نتایج: ۹۱/۳ درصد اجزاء (شامل ۱۰ ترکیب) در اسانس این گیاه شناسایی شد. مواد عمده آن عبارتند از: تیمول (۴۸/۸ درصد)، کارن (۱۷/۶ درصد)، فیتول (۷/۹ درصد)، متیل لینولئات (۵/۶ درصد) و متیل پالمیتات (۴/۷ درصد). هیچ‌یک از عصاره‌های مورد آزمایش در غلظت‌های تهیه شده روی هیچکدام از باکتری‌ها اثر نداشتند.

نتیجه‌گیری: با آنکه تیمول ماده عمده اسانس برخی گیاهان مانند انواع آویشن و نیز گیاه زنیان است، گیاهان دیگر مانند نمونه مورد بررسی نیز حاوی ماده عمده تیمول می‌باشند و در صورت لزوم می‌توان از این اسانس استفاده کرد. در انواع آویشن علاوه بر تیمول، ایزومر آن، کارواکول هم وجود دارد ولی در گیاه مورد پژوهش کارواکول شناسایی نشد. مانند سایر اسانس‌ها، در اسانس مورد تحقیق در این مقاله، مونوترپنوئیدها اجزای اصلی و عمده را تشکیل می‌دادند. به خاطر استعمال زمان زیاد (حدود سه ساعت) جهت استخراج اسانس، اجزای غیرترپنی نیز در اسانس وارد و شناسایی شدند (مواد دی‌ترپنی، استرها و اسید چرب). علی‌رغم این انتظار که گیاهان ظاهراً اثر ضدباکتری دارند، هیچ عصاره‌ای از گیاه *H. anisoptera* در هیچ یک از چهار مدل آزمایشی استفاده شده، اثر ضد باکتریایی واضحی نشان نداد.

کل واژگان: *Heptaptera anisoptera*، ترکیبات شیمیایی اسانس، اثرات ضدباکتریایی، طالقان، GC/MS، تیمول



مقدمه

جداسازی شد [۵]. در سال ۱۹۹۳ از ریشه آن، coniferyl palmitate و 14-acetoxybadrakemon به دست آمد [۶]. تا آنجا که ما بررسی کرده‌ایم، ترکیبات تشکیل دهنده اسانس و اثرات ضدباکتریایی گیاه مذکور تاکنون بررسی نشده است.

مواد و روش‌ها

اندام هوایی گیاه *Heptaptera anisoptera* در تیرماه ۱۳۸۶ از منطقه طالقان جمع‌آوری و در آزمایشگاه گیاه‌شناسی دانشکده داروسازی شهید بهشتی تعیین هویت شد و نمونه این گیاه با شماره ۱۰۱۲ در هرباریوم دانشکده مذکور ثبت شد. سپس گیاه مذکور خرد شده و با روش تقطیر با آب اسانس‌گیری شد. جهت استخراج کامل اسانس از دستگاه اسانس‌گیری از حلال n-پنتان استفاده شد. بعد از آن آب موجود در اسانس با سولفات سدیم انیدر گرفته و اسانس در ظرف در بسته در یخچال نگهداری شد.

جهت آنالیز از روش GC/MS استفاده شد. در این روش از دستگاه GC/MS مدل Thermoquest 2000، با ستون کاپیلاری HP-5 به طول ۳۰ متر استفاده شد. سایر شرایط عملیات عبارتند از: دمای اولیه ۵۰ درجه سانتی‌گراد، نسبت افزایش دما ۳ °C/min، دمای نهایی ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد، گاز حامل: هلیوم با جریان ۱/۵ میلی‌لیتر در دقیقه، دمای محفظه تزریق و دمای دکتکتور ۲۷۰ درجه سانتی‌گراد، نسبت شکافت ۱:۱۰. شناسایی اجسام از طریق مقایسه ضرایب بازداری و طیف جرمی مواد با نمونه‌های استاندارد صورت گرفت. طیف جرمی گرفته شده در ۷۰ eV، گستره جرمی 50-470 amu را شامل می‌شود. همچنین اطلاعات کمی به وسیله انتگراسیون الکترونی از سطح زیر پیک‌ها به دست آمده است. شناسایی اجزای اسانس با مقایسه طیف‌های جرمی و ضرایب بازداری با استانداردها بوده است [۷].

جهت بررسی اثرات ضدباکتریایی، عصاره‌های متانولی، کلروفرمی و هگزانی اندام هوایی گیاه *Heptaptera anisoptera* جداگانه با اسباب سوکسله استخراج و پس از تبخیر حلال با دستگاه تقطیر دوار در خلأ، عصاره‌های مذکور در یخچال نگهداری شد. میکروارگانیسم‌های مورد آزمایش

گیاه *Heptaptera anisoptera* (DC.) Turin همانام‌های *Anisopleura Prangos anisoptera* DC، *Meliocarpus microcarpus* Boiss. *crenata* Fenzl، *Colladonia Colladonia alata* (Boiss.) Boiss. و *C. crenata* (Fenzl.) Boiss. *microcarpa* (Boiss.) Boiss. از خانواده چتریان، گیاهی است پایا، سبز مایل به آبی یا کبود، منشعب، به طول ۱۰۰ - ۴۰ سانتی‌متر، با ساقه منفرد، از قاعده منشعب، دارای ساقه‌های گسترده و کم برگ، کمی ضخیم، بدون کرک و سبز مات مایل به کبود، برگ‌ها در پایین دارای ۴ - ۱ بار تقسیم شانه‌ای عمیق و به ندرت غیرمنقسم، دارای تقسیمات بزرگ، بدون دمبرگ یا دمبرگ‌دار، تخم مرغی، بیضی یا سرنیزه‌ای، در حاشیه و دمبرگ‌ها پوشیده از پرز، گل‌ها زرد، مجتمع در چترهای نسبتاً بزرگ، با دمگل بلند و ۲۲ - ۲ پرتو به طول ۱۹ - ۵ سانتی‌متر؛ دمگل‌های فرعی دارای طول متفاوت، میوه‌ها به بزرگی ۷ - ۵ × ۲۰ - ۱۵ (۲۴) میلی‌متر، بیضی یا گوه‌ای شکل، محتوی دانه‌های یک اندازه، از پایین به بالا به تدریج باریک شده؛ باله پشتی همقد یا کمی کوتاهتر از بال‌های طرفین که دارای طولی برابر با ۲ میلی‌مترند [۱]. انتشار جغرافیایی آن، در شمال غربی ایران، آذربایجان: گردنه قوشچی، به طرف سلماس و ارومیه؛ ۲۴ کیلومتری بین بالانش و اردکان، ارتفاعات بین بالانش و اشنویه، دره قاسملو؛ در غرب: الوند نزدیک همدان، اراک، خمین، دورود، خرم‌آباد به طرف اندیمشک در لرستان [۲، ۱] می‌باشد، این گیاه علاوه بر ایران در آناتولی، سوریه، لبنان، فلسطین و عراق نیز دیده می‌شود [۳]. بررسی منابع نشان می‌دهد که تاکنون پژوهش‌های معدودی روی گیاه *Heptaptera anisoptera* انجام شده است: در سال ۱۹۹۲، سه سزکویی‌ترین کومارین 14-hydroxycolladonin، 14-acetoxycolladonin و 14-acetoxybadrakenin از ریشه این گیاه به دست آمد [۴]. همچنین در مطالعه دیگری که در سال ۱۹۹۲ روی میوه آن انجام گرفت، سزکویی‌ترین اتر 5,7-dihydroxy coumarin و یک مشتق غیرفنی Umbelliprenin هیدروکسیله



پس از تبخیر حلال، دیسک‌ها در پلیت قرار گرفتند. به عنوان شاهد منفی از دیسک‌های حاوی نمونه حلال‌ها استفاده شد. پلیت‌ها به طور وارونه در گرمخانه ۳۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفتند و هاله عدم رشد اندازه‌گیری شد.

روش رقت در محیط کشت مایع - ۴۰ میلی‌گرم از هر
عصاره در یک میلی‌لیتر حلال DMSO حل شد، از این محلول غلظت‌های ۲۰، ۱۰، ۵ و ۲/۵ mg/ml به روش رقت متوالی تهیه شدند. ۰/۱ میلی‌لیتر از این غلظت‌ها به ۹/۵ میلی‌لیتر محیط سترون مایع مولر- هیتتون افزوده و به آن ۴۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون باکتری با غلظت 10^7 cfu/ml اضافه شد. لوله‌های تلقیح شده با باکتری در گرمخانه ۳۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و پس از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت از نظر کدورت ناشی از رشد باکتری‌ها بررسی شدند. در این آزمایش از چند نوع کنترل (شاهد رشد، شاهد سمیت DMSO، شاهد عدم آلودگی نمونه و شاهد سترونی محیط) استفاده گردید. حداقل غلظت از عصاره که توانایی مهار رشد باکتریایی را داشت به عنوان حداقل غلظت مهار (MIC) در نظر گرفته شد.

روش رقت در محیط کشت جامد - غلظت‌های ۴۰، ۲۰، ۱۰، ۵ و ۲/۵ mg/ml هر عصاره در DMSO تهیه شد. مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر از هر غلظت عصاره به ۴۹/۵ میلی‌لیتر محیط مولر- هیتتون آگار استریل افزوده و پس از اختلاط، در دو پلیت تقسیم شد. آنگاه ۲ میکرولیتر از سوسپانسیون با غلظت 10^7 cfu/ml روی سطح آگار حاوی عصاره به صورت نقطه قرار گرفت. پلیت‌ها در گرمخانه ۳۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت از نظر رشد باکتری بررسی شدند. در این روش هم از دو شاهد رشد و شاهد سمیت DMSO استفاده شد. حداقل غلظت از عصاره که توانایی مهار رشد باکتریایی را داشت به عنوان حداقل غلظت مهار (MIC) در نظر گرفته شد.

نتایج

میزان اسانس موجود در اندام هوایی گیاه اندک بود (حدود ۰/۲ درصد) به طوری که با کمک حلال هگزان از دستگاه

عبارتند از: استافیلوکوکوس اورئوس (ATCC ۶۵۳۸)، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس (ATCC ۱۲۲۲۸)، استرپتوکوکوس پیوژنس (ATCC ۱۹۶۱۵)، میکروکوکوس لوتئوس (ATCC ۹۳۴۱)، لیستریا مونوسیژنوس (ATCC ۱۹۱۱۲) (ATCC ۸۷۳۹)، پسودوموناس آئروژینوزا (ATCC ۹۰۲۷) همگی از کلکسیون باکتری‌ها و قارچ‌های سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران؛ استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین (MRSA) (ATCC ۳۳۵۹۱)، انتروکوکوس فکاليس مقاوم به وانکومایسین (VRE) (ATCC ۵۱۲۹۹) و انتروکوکوس فکاليس (ATCC ۲۹۲۱۲) از شرکت Mast انگلیس.

برای تهیه سوسپانسیون میکروبی از محیط SCDA درون پلیت استفاده شد. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد در گرمخانه قرار داده شدند. سپس از هر باکتری چند کلون مشخص برداشته شد و در نرمال سالین استریل، پراکنده و سوسپانسیون حاصل روی ورتکس، همگن شد. کدورت سوسپانسیون باکتریایی حاصل، مشابه کدورت لوله استاندارد ۰/۵ مک فارلند تنظیم شد تا تعداد سلول‌های زنده در آن حدود 10^8 cfu/ml شود. توسط سوآپ استریل از این سوسپانسیون روی سطح محیط مولر- هیتتون آگار انتقال داده شد. اثر ضدباکتریایی عصاره‌های گیاهی به چهار روش بررسی، و هر آزمایش سه بار تکرار شد [۸].

روش چاهک - ۱۰۰ میلی‌گرم از هر عصاره (متانولی، کلروفورمی و هگزانی) در یک میلی‌لیتر DMSO حل شد تا غلظت ۱۰۰ mg/ml به دست آمد. از این محلول‌ها ۹۰ میکرولیتر در چاهک‌ها ریخته شد. شاهد منفی، DMSO و شاهد مثبت، دیسک‌های اگزاسیلین (برای MRSA)، وانکومایسین (برای انتروکوک‌ها از جمله VRE) و جنتامیسین (برای همه سویه‌ها) بودند. پلیت‌ها در گرمخانه ۳۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفتند و قطر هاله عدم رشد اندازه‌گیری شد.

روش دیسک کاغذی - در مورد هر عصاره، ۲۵۰ میلی‌گرم در یک میلی‌لیتر از هر حلال مربوط، حل و در دو نوبت، هر بار مقدار ۲۰ میکرولیتر روی دیسک بلانک استریل ریخته شد.



می‌آید: عمده این اسانس را ترکیبات ترپنوئیدی (۷۷/۴ درصد) تشکیل می‌دهند که ۶۶/۴ درصد آن مونوترپن، ۳/۱ درصد سزکویی‌ترین و ۷/۹ درصد دی‌ترین هستند. ماده عمده این اسانس تیمول به میزان ۴۸/۸ درصد می‌باشد و می‌توان گفت تقریباً نصف مواد موجود در اسانس را به خود اختصاص داده است. اسیدهای موجود در این اسانس خطی بوده و مجموعاً حدود ۱/۷ درصد می‌باشند.

استرها نیز حدود ۱۲/۳ درصد از اسانس را به خود اختصاص می‌دهند، اسیدها و استرها آنها مجموعاً ۱۴/۰ درصد هستند. در مجموع ترکیبات دارای عامل الکلی با نسبت ۵۸/۸ درصد و هیدروکربن‌ها ۱۸/۶ درصد قسمت عمده مواد موجود در اسانس *Heptaptera anisoptera* را تشکیل می‌دهند.

همانطور که در قسمت نتایج اشاره شد، عصاره‌های مختلف تهیه شده از گیاه با حلال‌های مختلف در غلظت‌های متفاوت در هیچ یک از چهار روش مورد بررسی هیچ‌گونه اثر ضدباکتریایی از خود نشان ندادند. در مطالعات مشابه که روی گونه‌های نزدیک به این گیاه انجام شد، نیز اثرات ضعیفی مشاهده شده است. از ۸ ترکیب کومارینی به دست آمده از گیاه *Prangos platychna* در ترکیه، تنها دو ماده اثر بسیار ضعیف علیه اشیریشیا کولی و کاندیدا آلبیکانس از خود نشان دادند [۳۹]. از ۱۶ کومارین استخراج شده از گیاه *Prangos pabularia* در ازبکستان، نیز تنها از چهار ترکیب اثر ضدباکتریایی ضعیف مشاهده شد [۴۰]. ارزیابی اثرات مذکور به روش انتشار در دیسک کاغذی بود.

اسانس‌گیری استخراج شد. حلال حاوی اسانس به رنگ زرد کم‌رنگ بود که مواد حاصل از تجزیه آن در جدول شماره ۱ مشاهده می‌شوند. مجموعاً ۱۰ ترکیب مشتعل بر ۹۱/۴ درصد اجزای اسانسی شناسایی شدند.

مقدار عصاره خشک حاصل از عمل استخراج با متانول، کلروفورم و هگزان نرمال به ترتیب ۲۶/۷، ۷/۵۰ و ۲/۵۳ درصد بود. عصاره‌های مختلف تهیه شده از گیاه *H. anisoptera* با حلال‌های مختلف در غلظت‌های متفاوت در هیچ یک از چهار روش چاهک، دیسک کاغذی، رقت در محیط کشت مایع و جامد هیچ‌گونه اثر ضدباکتریایی گرم مثبت یا منفی از خود نشان ندادند.

بحث

پس از بررسی اسانس گیاه *Heptaptera anisoptera* ۱۰ ترکیب شناسایی شدند که به ترتیب به بررسی آنها می‌پردازیم. تیمول، ترکیبی است که قبلاً به عنوان ماده عمده اسانس آویشن مشخص شده [۹،۱۰] و در اسانس تعدادی از گیاهان مانند *Thymus zygis* و *Thymus hyemalis* [۱۱،۱۲]، *Lippia gracilis* [۱۳] و انواع *Satureja* [۱۴،۱۵] گزارش شده است. سایر اجزای اسانسی نیز قبلاً در اسانس تعدادی از گیاهان گزارش شده‌اند مانند ۳-کارن [۱۶-۱۸]، بتا-فارنزن [۱۹-۲۱]، فارنزول [۲۲-۲۴]، اسید میریستیک [۲۵-۲۷]، متیل لینولنات [۲۸-۳۰]، متیل پالمیتات [۲۹-۳۲]، اسید پنتادکانوئیک [۳۳-۳۵] و فیتول [۳۶-۳۸].

با بررسی اجسام تشکیل دهنده اسانس گیاه *Heptaptera anisoptera* و مقایسه آنها با یکدیگر نتایج زیر به دست

جدول شماره ۱- مواد تشکیل دهنده شناسایی شده در اسانس گیاه

| ردیف | نام ترکیب | RT | KI | درصد |
|------|--|-------|------|------|
| ۱ | تیمول | ۱۹/۳۴ | ۱۲۹۰ | ۴۸/۸ |
| ۲ | ۳-کارن | ۲۳/۰۴ | - | ۱۷/۶ |
| ۳ | بتا-فارنزن | ۲۵/۸۲ | ۱۴۵۸ | ۱/۰ |
| ۴ | فارنزول | ۳۵/۵۳ | ۱۶۹۷ | ۲/۱ |
| ۵ | اسید میریستیک | ۳۷/۵۸ | - | ۰/۶ |
| ۶ | متیل لینولنات | ۴۱/۲۵ | - | ۵/۵ |
| ۷ | متیل پالمیتات | ۴۳/۳۵ | ۱۹۲۷ | ۴/۷ |
| ۸ | اسید پنتادکانوئیک | ۴۴/۳۰ | ۱۹۳۸ | ۱/۱ |
| ۹ | 7,10,13-Hexadecatrienoic acid methyl ester | ۴۷/۵۱ | ۱۹۴۳ | ۲/۱ |
| ۱۰ | فیتول | ۴۸/۲۴ | ۱۹۴۹ | ۷/۹ |



تشکر و قدردانی

بهشتی است که بدین وسیله از ایشان سپاسگزاری و قدردانی می‌شود.

بخشی از این مقاله، پایان‌نامه‌ی دوره‌ی دکترای عمومی داروسازی خانم نسرین راهرو از دانشگاه علوم پزشکی شهید

منابع

1. Ghahraman A. Color flora of Iran. Vol. 15. The institute of Forests and rangelands Research Publication. Tehran. 1996, No. 1797.
2. Hedge IC. Umbelliferae. In: Rechinger KH (Ed.). Flora Iranica. No. 162. Akademische Druck-v. Verlagsanstalt. Graz. 1987, p. 169.
3. Mozaffarian V. A Dictionary of Iranian Plant Names. Farhang Moaser. Tehran. 1996, p. 271.
4. Appendino G, Ozen HC, Tagliapietra S and Cisero M. Coumarins from *Heptaptera anisoptera*. *Phytochem.* 1992; 31 (9): 3211 - 13.
5. Appendino G, Ozen HC, Nano GM and Cisero M. Sesquiterpene coumarin ethers from the genus *Heptaptera*. *Phytochem.* 1992; 31 (12): 4223 - 6.
6. Appendino G, Ozen HC and Jakupovic J. A sesquiterpene coumarin ether and a coniferyl ester from *Heptaptera anisoptera*. *Fitoterapia* 1993; 64 (6): 505 - 6.
7. Adams RP. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Quadropole Mass spectroscopy. Allured publishing Co. Illinois. 2004.
8. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 14th Informational Supplement, M100- S14. Wayne. NCCLS, 2004.
9. Porte A and Godoy RLO. Chemical composition of *Thymus vulgaris* L. (thyme) essential oil from the Rio de Janeiro State (Brazil). *J. Serbian Chem. Soc.* 2008; 73 (3): 307 -10.
10. Tyler VE, Brady LR and Robbers JE. Pharmacognosy. 9th Ed. Lea and Febiger. Philadelphia 1998, p: 128.
11. Rota MC, Herrera A, Martínez RM, Sotomayor JA and Jordán MJ. Antimicrobial activity and chemical composition of *Thymus vulgaris*, *Thymus zygis* and *Thymus hyemalis* essential oil. *Food Control* 2008; 19 (7): 681 - 7.
12. Pérez-Sánchez R, Ubera JL, Lafont F and Gálvez C. Composition and variability of the essential oil in *Thymus zygis* from Southern Spain. *J. Essent. Oil Res.* 2008; 20 (3): 192 - 200.
13. Neves IA, De Oliveira JCS, Da Camara CAG and Schwartz MOE. Chemical composition of the leaf oils of *Lippia gracilis* Schauer from two localities of pernambuco. *J. Essent. Oil Res.* 2008; 20 (2): 157 - 60
14. Čavar S, Maksimović M, Solić ME, Jerković-Mujkić A and Besta R. Chemical composition and antioxidant and antimicrobial activity of two *Satureja* essential oils. *Food Chem.* 2008; Article in Press.
15. Tabatabaei-Raisi A, Delazar A, Khaligi A, Kaviani B and Hashemabadi D. Variability of essential oils of various parts of *Satureja sahendica* Bornm. and their antioxidant activity. *Inter. J. Bot.* 2008; 4 (2): 245 - 8.
16. Indrayan AK, Garg SN, Rathi AK and Sharma V. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Alpinia officinarum* rhizome. *Ind. J. Chem. Sec. B. Org. Med. Chem.* 2007; 46 (12): 2060 - 3.
17. Chéraif I, Ben Jannet H, Hammami M, Khouja ML and Mighri Z. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils of *Cupressus arizonica* Greene. *Biochem. Sys. Ecol.* 2007; 35 (12): 813 - 20.



18. Owolabi MS, Oladimer MO, Labunmi L, Singh G, Marimuthu P and Isidorov VA. Chemical constituents and bioactivity of steam distilled oil of *Monodora myristica* (Gaertn.) dunal against some plant pathogenic fungi. *Biosci. Biotech. Res. Asia* 2007; 4 (2): 477 – 81.
19. Orav A, Raal A and Arak E. Essential oil composition of *Pimpinella anisum* L. fruits from various European countries. *Nat. Prod. Res.* 2008; 22 (3): 227 - 32.
20. Morteza-Semnani K, Saeedi M and Akbarzadeh M. Essential oil composition of *Teucrium scordium* L. *Acta Pharm.* 2007; 57 (4): 499 - 504.
21. Goel D, Goel R, Singh V, Ali M, Mallavarapu GR and Kumar S. Composition of the essential oil from the root of *Artemisia annua*. *J. Nat. Med.* 2007; 61 (4): 458 - 61.
22. Queiroga CL, Bastos JK, De Sousa JPB and De Magalhães PM. Comparison of the chemical composition of the essential oil and the water soluble oil of *Baccharis dracunculifolia* DC. (Asteraceae). *J. Essent. Oil Res.* 2008; 20 (2): 111 - 4.
23. Juliani HR, Simon JE, Quansah C, Asare E, Akromah R, Acquaye D, Asante-Dartey J and Mensah AY. Chemical diversity of *Lippia multiflora* essential oils from West Africa. *J. Essent. Oil Res.* 2008; 20 (1): 49 - 55.
24. Tava A, Pecetti L, Ricci M, Pagnotta MA and Russi L. Volatile compounds from leaves and flowers of *Bituminaria bituminosa* (L.) Stirt. (Fabaceae) from Italy. *Flav. Fragr. J.* 2007; 22 (5): 363 - 70.
25. Kundakovic T, Fokialakis N, Kovacevic N and Chinou I. Essential oil composition of *Achillea lingulata* and *A. umbellata* *Flav. Fragr. J.* 2007; 22 (3): 184 - 7.
26. Kubmarawa D and Ogunwande IA. Composition of the leaves essential oil of *Calotropis procera* (R. Br.) from Nigeri. *J. Essent. Oil-Bearing Plants* 2008; 11 (1): 75 - 8.
27. Pistelli L, Noccioli C, Bertoli A, Scapecchi G and Potenza D. Chemical composition and volatile constituents of *Anthyllis barba-jovis*. *Nat. Prod. Res.* 2007; 21(5): 418-425.
28. Oyedeji AO, Ekundayo O and Koenig WA. Essential oil composition of *Lawsonia inermis* L. leaves from Nigeria. *J. Essent. Oil Res.* 2005; 17 (4): 403 - 4.
29. Chao Z and Liu J. Chemical constituents of essential oil from the pericarp of *Trichosanthes hupehensis*. *Chinese Pharm. J.* 1996; 31 (3): 140 - 1.
30. Miyazawa M, Kurose K, Itoh A, Hiraoka N and Kameoka H. Components of the essential oil from *Glehnia littoralis*. *Flav. Fragr. J.* 2001; 16 (3): 215 - 8.
31. Czinner E, Lemberkovics É, Bihátsi-Karsai É, Vitányi G and Lelik L. Composition of the essential oil from the inflorescence of *Helichrysum arenarium* (L.) moench. *J. Essent. Oil Res.* 2000; 12 (6): 728 - 30.
32. Kin F, Kam B Aycard JP Gaydou EM and Bombarda I. Chemical composition of the essential oil of *Hyptis spicigera* Lam. from Burkina Faso. *J. Essent. Oil Res.* 1993; 5 (2): 219 - 21.
33. Leffingwell JC and Alford ED. Volatile constituents of perique tobacco. *J. Environ. Agric. Food Chem.* 2005; 4: 899 - 915.
34. Pino JA, Mesa J, Munoz Y, Marti MP and Marbot R. Volatile components from mango (*Mangifera indica* L.) cultivars. *J. Agric. Food Chem.* 2005; 53: 2213 - 23.
35. Weyerstahl P, Marschall H, Thefeld K and Subba GC. Constituents of the essential oil from the rhizomes of *Hedychium gardnerianum* Roscoe. *Flav. Fragr. J.* 1998; 13: 377 - 88.
36. Pistelli L, Noccioli C, Bertoli A, Scapecchi G and Potenza D, Chemical composition and volatile constituents of *Anthyllis barba-jovis*. *Nat. Prod. Res.* 2007; 21 (5): 418 - 25.



37. Tzakou O, Loukis A and Said A. Essential oil from the flowers and leaves of *Cassia fistula* L. *J. Essent. Oil Res.* 2007; 19 (4): 360 - 1.
38. Gulec C, Yayli N, Yesilgil P, Terzioglu S and Yayli N. Chemical composition and antimicrobial activities of the essential oil from the flowers of *Delphinium formosum*. *Asian J. Chem.* 2007; 19 (5): 4069 - 74.
39. Ulubelen A, Topcu G, Tan N, Olcal S, Johansson S, Ucer M, Briman H and Tamer S. Biological activities of a Turkish medicinal plant, *Prangos platychlaena*. *J. Ethnopharmacol.* 1995; 45: 193 - 7.
40. Tada Y, Shikishima Y, Takoishi Y, Shibata H, Higuti T, Honda G, Ito M, Takeda Y, Kodzhimatov O, Ashurmetov O and Ohmoto Y. Coumarins and γ -pyrone derivatives from *Prangos pabularia*; antibacterial activity and inhibition of cytokine release. *Phytochem.* 2002; 59: 649 - 54.

