

بررسی مواد تشکیل دهنده اسانس و اثرات ضد میکروبی ریزوم گیاه *Cyperus rotundus* L.

فراز مجاب^{۱،۲*}، حسین وحیدی^{۳،۴}، بهمن نیک‌آور^{۱،۲}، محمد کمالی‌نژاد^۴

۱- دانشیار، گروه فارماکوجنوزی و فارماکوبیوتکنولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران

۲- مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران

۳- استاد، گروه فارماکوجنوزی و بیوتکنولوژی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران

۴- کارشناس آزمایشگاه، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران

*آدرس مکاتبه: تهران، خیابان ولی عصر (عج)، بالاتر از میرداماد، تقاطع بزرگراه نیایش، دانشکده داروسازی

دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تلفن: ۸۸۲۰۰۰۶۱ (۰۲۱)، نمابر: ۸۸۲۰۹۶۲۶ (۰۲۱)

پست الکترونیک: sfmojab@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۸۷/۴/۱۶

تاریخ تصویب: ۸۸/۲/۵

چکیده

مقدمه: گیاه *Cyperus rotundus* L. از خانواده *Cyperaceae*، با نام‌های فارسی (عربی) اویار سلام و سغد کوفی در بیشتر نقاط ایران می‌روید. از ریشه گیاه سغد کوفی مواد و آثار فارماکولوژیک مختلفی گزارش شده‌اند. در حال حاضر ریشه‌ها و ریزوم‌های این گیاه به صورت ترکیب با سایر گیاهان به منظور تقویت اعصاب و ضدنفخ به کار می‌رود. در مورد بررسی اسانس حاصل از ریزوم‌های این گیاه در کشورهای دیگر تحقیق شده که آلفا-سیپرون یا سیپرن را به عنوان ماده عمده معرفی کرده‌اند. هدف: تا آنجا که ما بررسی کرده‌ایم، اسانس ریزوم و اثرات ضد میکروبی نمونه ایرانی گیاه مذکور تاکنون بررسی نشده است. هدف از این پژوهش آنالیز اسانس و بررسی اثرات ضد میکروبی ریزوم‌های این گیاه می‌باشد.

روش بررسی: ریزوم گیاه سغد کوفی در خرداد ۱۳۸۶ از عطاری‌های شهر تهران خریداری و با روش تقطیر با آب اسانس‌گیری شد. برای آنالیز اسانس از روش GC/MS استفاده شد. جهت بررسی اثرات ضد میکروبی، عصاره متانولی ریزوم‌ها با اسباب سوکسله استخراج شد. میکروب‌های مورد استفاده در این پژوهش باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، میکروکوکوس لوتئوس، سالمونلا و اشریشیا کولی، و قارچ‌های آسپرژیلوس نایجر و کلادوسپوریوم هرباسیوم بودند. اثر ضد میکروبی به روش دیسک کاغذی (انتشار در آگار) و محاسبه هاله عدم رشد انجام شد.

نتایج: بررسی اثر ضد میکروبی عصاره ریزوم گیاه *C. rotundus* نشان می‌دهد که رقت‌های مختلف آن اثری روی سالمونلا، اشریشیا کولی، آسپرژیلوس نایجر و کلادوسپوریوم هرباسیوم ندارد و تنها روی باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و میکروکوکوس لوتئوس موثر می‌باشد. ترکیبات عمده اسانس آن را سسکوئین‌ترین‌ها تشکیل می‌دهند (۸۲/۰ درصد) که در بین آنها آلفا-سیپرون ۳۲/۰ درصد و اسپاتولنول، ۱۱/۰ درصد می‌باشند. ۸/۸ درصد ترکیبات شناسایی شده نیز از گروه مونوترپنوئیدها می‌باشند.

کل واژگان: *Cyperus rotundus*، آلفا-سیپرون، اسانس، اثر ضد میکروبی



مقدمه

گیاه *Cyperus rotundus* L. (همنام‌های *C. leptostachyus* Griff., *C. hexastachyus* Rottb., *C. albidus* Herb., *C. tenuiflorus* Royle., *C. olivarius* trag. از خانواده *Cyperaceae*، با نام‌های فارسی (عربی) اویار سلام و سُعد کوفی؛ و نام انگلیسی *nut grass*. گیاهی است پایا، ایستاده بدون کرک، به ارتفاع ۴۰ - ۲۰ سانتی‌متر، دارای ریزوم‌های باریک و رونده، به قطر ۱-۲ میلی‌متر، در بعضی نقاط دارای غده‌های سیاه رنگ تخم مرغی، پهن و دراز. ریزوم‌ها در ابتدا سفید هستند و سپس با رشد گیاه فیبری، سفت و قهوه‌ای تیره می‌شوند. ساقه: معبود، سه پهلو، بدون کرک، ایستاده، سبز، بدون بند، نسبتاً باریک. برگ: متعدد، تقریباً همگی بن رُست و قاعده‌ای، هم قد یا طویل‌تر از ساقه، به عرض ۸ - ۲ میلی‌متر، ناوی شکل. گل: سبز و بسیار ریز، مجتمع در سنبله‌های تشکیل دهنده گل آذین چتر مانند و دارای ۹ - ۳ پرتو، سنبله ایستاده، غیرهمقد، گسترده یا ایستاده به طول (۱۰-) ۵ سانتی‌متر، محصور در ۲ تا ۴ برگک این گیاه در بیشتر نقاط ایران می‌روید [۱، ۲]. از ریشه گیاه سعد کوفی مواد زیر گزارش شده‌اند: یک سسکویی‌ترین اندوپراکسید به نام 10,12-peroxycalamenene [۳]، یک گلیکوزید استروئیدی جدید به نام 6'-sitosteryl (β -D-galactopyranoside)-hentriacontanoyl سه فوروکرومون به نام‌های *visnagin*، *khellin* و *caffaic acid*، *salicylic acid*، *coumarin*، *ammil* و *tricin*، *p-coumaric acid*، *protocatechuic acid* و *isorhamnetin* [۴]. از اسانس آن نیز سه سسکویی‌ترین هیدروکرینی جدید به نام‌های (-)-*isorotundene*، (-)-*cypera-2,4(15)-diene* و (-)-*norrotundene* و یک کتن به نام (+)-*cyperadione* تعیین ساختمان شده‌اند [۵]. *Rotundine* های A تا C نیز سه آکالوئید سسکویی‌ترینی جدید از این گیاه هستند [۶]. در حال حاضر این گیاه به صورت ترکیب با سایر گیاهان به منظور تقویت اعصاب و ضدنفخ به کار می‌رود [۷].

آثار فارماکولوژیک زیر از این گیاه گزارش شده است: اثر آنتی‌اکسیدانی *in vitro* و ضدرادیکال آزاد [۸، ۹]، اثر متوقف‌کنندگی تشکیل و اکسیداسیون پروتئین در یک مدل از گلیکوکسیداسیون پروتئین با واسطه فروکتوز [۱۰]، خواص آنتی‌کاریوژنیک [۱۱]، پیشگیری از افزایش وزن در رت‌های چاق [۱۲]، مهار فعالیت آنتی‌کولین استراز و مهار جوانه‌زنی و رشد دانه در گندم و گوجه فرنگی [۱۳]، اثر ضددیابتی در مدل آلوکسان [۱۴]، اثر مهار روی Na^+/K^+ -ATPase [۱۵]، اثر ضداسهالی [۱۶]، اثر ضدکاندیدایی [۱۷]، اثر مهار روی تشکیل نیتریک اکساید و سوپراکساید در رده سلولی ماکروفازهای مورین [۱۸]، اثر مدری [۱۹]، اثر ضدملاریایی [۲۰، ۲۱]، اثرات ضدالتهابی، ضدتب و مسکن [۲۲]، اثر روی تهوع ناشی از رزپین در قورباغه [۲۳]، و اثر سیتوتوکسیک قوی علیه سلول‌های لمفومای L5178y موش [۲۴].

در مورد بررسی اسانس حاصل از ریزوم‌های این گیاه در کشورهای دیگر چند مقاله وجود دارد: ژقبی^۱ و همکاران در سال ۲۰۰۸ آلفا-سیرون و سیپروتوندون را به ترتیب به میزان ۲۲/۸ و ۱۲/۱ درصد در این اسانس مشخص کردند [۲۵]. هم‌چنین در سال ۲۰۰۵ اسانس غدد ریزومی نمونه تونسی این گیاه آنالیز و کلاً ۳۳ ترکیب مشخص شد. مقدار سسکویی‌ترین‌های این اسانس بالا بود و سیپرن به میزان ۳۰/۹ درصد ماده عمده گزارش شد [۲۶].

در پژوهشی دیگر اسانس گیاه با سه روش تقطیر با آب، استخراج با مایع تحت فشار و استخراج با سیال فوق بحرانی استخراج شد و پنج ترکیب آلفا-کوپائن، سیپرن، بتا-سلی‌نن، بتا- و آلفا-سیپرون ردیابی شدند. استخراج با مایع تحت فشار بیشترین کارایی استخراج را داشت در حالی که استخراج با سیال فوق بحرانی جهت استخراج بتا- و آلفا-سیپرون انتخابی‌تر بود [۲۷]. در تعدادی از پژوهش‌های دیگر برخی اجزای اسانس جداسازی و با فنون طیف سنجی شناسایی شده‌اند، مثلاً کاریوفیلن الکل [۲۸]، ایزوروتوندن، نورروتوندن و سیپرادینون [۲۹]. تا آنجا که ما بررسی کرده‌ایم، اسانس ریزوم

^۱ Zoghbi



و اثرات ضد میکروبی نمونه ایرانی گیاه مذکور تاکنون بررسی نشده است.

مواد و روش‌ها

ریزوم گیاه سُد کوفی در خرداد ۱۳۸۶ از عطاری‌های شهر تهران خریداری و در آزمایشگاه گیاه‌شناسی دانشکده داروسازی شهید بهشتی به نام *Cyperus rotundus* تعیین هویت شد. سپس ریزوم‌ها، خرد شده و با روش تقطیر با آب اسانس‌گیری شدند. جهت استخراج کامل اسانس از دستگاه اسانس‌گیری، از n-پنتان استفاده شد. بعد از آن آب موجود در اسانس با سولفات سدیم انیدر گرفته شد 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 واریان ۳۶۰۰ با ستون موئین DB-۱ و برای ردیابی از سامانه یونیزاسیون الکترونی با انرژی ۷۰ eV استفاده شد. دمای محل تزریق و بخش ردیاب هر دو ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد بوده و برنامه حرارتی طوری تنظیم شد که ابتدا از حرارت ۵۰ درجه سانتی‌گراد شروع و با سرعت ۳ درجه سانتی‌گراد در دقیقه به ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد افزایش یافت. گاز حامل ازت بود. شناسایی اجسام از طریق مقایسه ضرایب بازداری و طیف جرمی مواد با نمونه‌های استاندارد صورت گرفت.

جهت بررسی اثرات ضد میکروبی، عصاره متانولی ریزوم‌های *Cyperus rotundus* با اسباب سوکسله استخراج و پس از تبخیر حلال با دستگاه تقطیر دوار در خلأ، عصاره مذکور در یخچال نگهداری شد.

میکروب‌های مورد استفاده در این پژوهش در جدول شماره ۱ ذکر شده‌اند که تمامی آنها از آزمایشگاه کنترل میکروبی دانشکده داروسازی شهید بهشتی تهیه شدند (کلادوسپوریوم هرباریوم M۲۰ از دانشگاه استراتکلاید، گلاسکو تهیه شد). از محیط کشت آگار malt extract برای رشد قارچ و از محیط کشت مولر هیتون آگار برای رشد باکتری‌ها استفاده شد. یک لوپ از کلنی ۲۴ ساعته باکتری‌ها از

محیط کشت جامد برداشته و در یک لوله آزمایش حاوی ۵ میلی‌لیتر نرمال سالین استریل (۱۰ میلی‌لیتر برای قارچ‌ها) کاملاً مخلوط شد. در مورد قارچ‌ها از نمونه اسپور آن‌ها استفاده شد و به مدت ۷ روز کشت داده شد تا به تعداد مناسب برسند. غلظت این سوسپانسیون میکروبی با رقیق کردن اولیه با نرمال سالین به گونه‌ای تنظیم شد که در طول موج ۶۲۵ nm در دستگاه اسپکتروفوتومتر مرئی-بنفش، ترانس‌میتانس ۹۰ درصد بدهد (جذب ۰/۱ - ۰/۰۸). کدورت حاصل معادل نیمه مک فارلند (۱۰۸ cfu) می‌باشد. مقدار این سوسپانسیون در هر پلیت حاوی محیط کشت ۲۰۰ μl است.

۵۰۰ میلی‌گرم از عصاره گیاه را در ۱ میلی‌لیتر متانول کاملاً حل کرده، سپس رقت‌های ۲۵۰، ۱۲۵، ۶۲/۵ و ۳۱/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تهیه شد. ۲۰۰ میکرولیتر از هر لوله آزمایش حاوی عصاره‌های متانولی را روی دیسک‌های کاغذی قرار داده که پس از خشک شدن روی پلیت‌های حاوی میکروب قرار گرفتند. هر پلیت به ۵ قسمت مساوی برای رقت‌های مختلف عصاره گیاه تقسیم شد. پلیت‌های حاوی باکتری، به مدت یک ساعت در یخچال و سپس در انکوباتور درجه سانتی‌گراد ۳۷ به مدت ۲۴ ساعت، پلیت‌های حاوی *A. niger* و *Claudosporium* به ترتیب به مدت ۴۸ و ۷۲ ساعت در حرارت ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و هاله عدم رشد برحسب میلی‌متر اندازه‌گیری شد. آزمایش سه بار تکرار و متوسط هاله‌ها ثبت شدند.

نتایج

میزان اسانس موجود در ریزوم‌های گیاه اندک بود، به طوری که با کمک حلال از دستگاه کلونجر استخراج شد. حلال حاوی اسانس به رنگ زرد کم‌رنگ بود که مواد حاصل از تجزیه آن در جدول شماره ۲ مشاهده می‌شوند. بررسی اثر ضد میکروبی عصاره گیاه *C. rotundus* نشان می‌دهد که رقت‌های مختلف آن اثری روی سالمونلا، اشریشیا کولی، آسپریژیلوس نایجر و کلادوسپوریوم هرباسیوم ندارد و تنها روی باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و میکروکوکوس لوتوس موثر می‌باشد (جدول شماره ۱).



جدول شماره ۱- اثر ضد میکروبی رقت‌های مختلف عصاره متانولی گیاه با استفاده از روش انتشار دیسک

Mg/ml					ATCC	میکروب‌های مورد پژوهش
۳۱/۲۵	۶۲/۵	۱۲۵	۲۵۰	۵۰۰		
۰	۰	۰	۰	۰	G ⁻	سالمونلا sp. Clinical isolated
۰	۰	۰	۰	۰	G ⁻	اشریشیا کولی ۸۷۳۹
۵	۸	۱۲	۱۴	۱۸	G ⁺	میکروکوکوس لوتتوس ۹۳۴۱
۰	۰	۱۳	۱۵	۲۰	G ⁺	استافیلوکوکوس اورئوس ۶۵۳۸
۰	۰	۰	۰	۰	-	آسپرژیلوس نایجر ۱۶۴۰۴
۰	۰	۰	۰	۰	-	کلادوسپوریوم هریاس* یوم M۲۰

جدول شماره ۲- ترکیبات شناسایی شده در اسانس ریزوم‌های گیاه *Cyperus rotundus*

%	RRI*	Compounds Name	ردیف
۰/۳	۹۳۹	α-pinene	۱
۰/۴	۹۸۰	β-pinene	۲
۰/۲	۱۰۳۵	Limonene	۳
۲/۴	۱۱۴۲	E- pinocarveol	۴
۰/۵	۱۱۷۱	Borneol	۵
۲/۲	۱۱۹۳	Myrtenal	۶
۱/۱	۱۱۹۸	Myrtenol	۷
۰/۸	-	1,5,5- trimethyl 6-methylene cyclohexane	۸
۰/۱	۱۲۳۹	Cuminal	۹
۰/۲	۱۲۴۴	Carvacrol methyl ether	۱۰
۰/۲	۱۲۴۸	Carvone	۱۱
۰/۴	۱۲۸۳	Anethol	۱۲
۰/۲	۱۲۹۱	Thymol	۱۳
۰/۲	۱۲۹۸	Carvacrol	۱۴
۰/۷	۱۳۷۰	α-Copaene	۱۵
۱/۳	۱۳۹۸	Cyperene	۱۶
۰/۸	۱۴۵۰	α-Patchoulene	۱۷
۵/۱	۱۵۲۶	7-epi-α- selinene	۱۸
۰/۴	۱۵۴۳	α-Calacorene	۱۹
۱۱/۰	۱۵۷۶	Spathulenol	۲۰
۵/۷	-	Caryophyllene oxide	۲۱
۱/۶	۱۶۱۶	cyperol	۲۲
۳/۳	۱۶۴۶	α-muurolol	۲۳
۲۰/۱	۱۶۹۹	E-E-Farnesol	۲۴
۳۲/۰	۱۷۰۶	α-Cyperone	۲۵
٪۸/۸		مونوترپنوئیدها	
٪۸/۳		سزکوئی ترین های هیدروکربنی	
٪۷۳/۷		سزکوئی ترین های اکسیژنه	

*RRI: ضرایب بازداری نسبی



بحث

بررسی اثر ضد میکروبی عصاره گیاه *C. rotundus* نشان می‌دهد که رقت‌های مختلف آن اثری روی سالمونلا، اشریشیاکولی، اسپرژیلوس نایجر و کلادوسپوریوم هرباسیوم ندارد. غلظت مهارکنندگی برای باکتری‌ها (استافیلوکوکوس اورئوس و میکروکوکوس لوتوس) به ترتیب ۱۲۵ و ۳۱/۲۵ Mg/ml می‌باشد. عموماً مشخص شده که باکتری‌های گرم منفی، احتمالاً به خاطر لیپوپلی ساکاریدهای دیواره سلولی‌شان نسبت به گرم مثبت‌ها مقاوم‌تر هستند [۳۲].

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از دکتر هادی مهرگان متخصص فارماسیوتیکس و عضو هیأت علمی دانشکده داروسازی شهید بهشتی جهت راهنمایی‌های ارزنده در آزمایش‌های میکروبی این پژوهش و دکتر سعید زمانی‌زاده نجاری جهت انجام مراحل عملی این تحقیق سپاسگزاری و قدردانی می‌شود.

مجموعاً در این اسانس ۲۵ ماده مشتمل بر ۹۱/۲ درصد کل اسانس شناسایی شدند. عمده این اسانس را سسکویی‌تریپنوئیدها تشکیل می‌دهند (۰/۸۲ درصد) که در بین آن‌ها آلفا-سیپرون ۰/۳۲ درصد و اسپاتولنول، ۰/۱۱ درصد درصد بالاتری را به خود اختصاص می‌دهند. سسکویی‌ترین‌های اکسیژنه و هیدروکربنی در این اسانس به ترتیب ۸۳/۷ درصد و ۸/۳ درصد هستند. ۸/۸ درصد ترکیبات شناسایی شده نیز از گروه مونوترپنوئیدها می‌باشند. آلفا-سیپرون در برخی مقالات به عنوان یکی از اجزاء [۲۶،۲۷] یا ماده عمده اسانس [۲۵] گزارش شده است. تعدادی از سایر اجزای شناسایی شده نیز در سایر اسانس‌ها گزارش شده‌اند مانند آلفا- و بتا-پینن، آلفا-کوپائن، سیپرن، کاربوفیلین اکساید و آلفا-کالاکورن [۲۶،۲۷]. ترکیب شماره ۸، از گروه مونوترپنوئیدهای سیکلوهاگزان‌ی بوده و قبلاً در اسانس گیاهان دیگر گزارش شده است [۳۰،۳۱].

منابع

- Ghahreman A. Flora of Iran. Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, 1997, Vol. 16. No. 1923.
- Mozaffarian V. A Dictionary of Iranian Plants Names. Farhang Mo'aser, Tehran, 1996, pp: 174 - 5.
- Thebtaranonth C, Thebtaranonth Y, Wanauppathamkul S and Yuthavong Y. Antimalarial sesquiterpenes from tubers of *Cyperus rotundus*: structure of 10, 12-peroxycalamenene, a sesquiterpene endoperoxide. *Phytochem*. 1995; 40: 125 - 8.
- Sayed HM, Mohamed MH, Farag SF, Mohamed GA and Proksch P. A new steroid glycoside and furochromones from *Cyperus rotundus* L. *Nat. Prod. Res*. 2007; 21: 343 - 50.
- Tam CU, Yang FQ, Zhang QW, Guan J and Li SP. Optimization and comparison of three methods for extraction of volatile compounds from *Cyperus rotundus* evaluated by gas chromatography-mass spectrometry. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2007; 44: 444 - 9.
- Jeong SJ, Miyamoto T, Inagaki M, Kim YC and Higuchi R. Rotundines A-C, three novel sesquiterpene alkaloids from *Cyperus rotundus*. *J. Nat. Prod.* 2000; 63: 673 - 5.
- Mo'men Hossaini Tonekaboni SM. Tohfe-ye Hakim Mo'men. Mahmoodi Bookshop, Tehran, 1979, pp: 484 - 5.
- Yazdanparast R and Ardestani A. *In Vitro* Antioxidant and Free Radical Scavenging Activity of *Cyperus rotundus*. *J. Med. Food*. 2007; 10: 667 - 74.
- Natarajan KS, Narasimhan M, Shanmugasundaram KR and Shanmugasundaram ER. Antioxidant activity of a salt-spice-herbal



- mixture against free radical induction. *J. Ethnopharmacol.* 2006; 105: 76 - 83.
10. Ardestani A, Yazdanparast R. *Cyperus rotundus* suppresses AGE formation and protein oxidation in a model of fructose-mediated protein glycoxidation. *Int. J. Biol. Macromol.* 2007; 41: 572 - 8.
 11. Yu HH, Lee DH, Seo SJ and You YO. Anticariogenic properties of the extract of *Cyperus rotundus*. *Am. J. Chin. Med.* 2007; 35: 497 - 505.
 12. Lemaure B, Touché A, Zbinden I, Moulin J, Courtois D, Macé K and Darimont C. Administration of *Cyperus rotundus* tubers extract prevents weight gain in obese Zucker rats. *Phytother. Res.* 2007; 21: 724 - 30.
 13. Sharma R and Gupta R. *Cyperus rotundus* extract inhibits acetylcholinesterase activity from animal and plants as well as inhibits germination and seedling growth in wheat and tomato. *Life Sci.* 2007; 80: 2389 - 92.
 14. Raut NA and Gaikwad NJ. Antidiabetic activity of hydro-ethanolic extract of *Cyperus rotundus* in alloxan induced diabetes in rats. *Fitoterapia* 2006; 77: 585 - 8.
 15. Ngamrojanavanich N, Manakit S, Pornpakakul S and Petsom A. Inhibitory effects of selected Thai medicinal plants on Na⁺,K⁺-ATPase. *Fitoterapia* 2006; 77: 481 - 3.
 16. Uddin SJ, Mondal K, Shilpi JA and Rahman MT. Antidiarrhoeal activity of *Cyperus rotundus*. *Fitoterapia* 2006; 77: 134 - 6.
 17. Duarte MC, Figueira GM, Sartoratto A, Rehder VL and Delarmelina C. Anti-Candida activity of Brazilian medicinal plants. *J. Ethnopharmacol.* 2005; 97: 305 - 11.
 18. Seo WG, Pae HO, Oh GS, Chai KY, Kwon TO, Yun YG, Kim NY and Chung HT. Inhibitory effects of methanol extract of *Cyperus rotundus* rhizomes on nitric oxide and superoxide productions by murine macrophage cell line, RAW 264.7 cells. *J. Ethnopharmacol.* 2001; 76: 59 - 64.
 19. Sripanidkulchai B, Wongpanich V, Laupattarakasem P, Suwansaksri J and Jirakulsomchok D. Diuretic effects of selected Thai indigenous medicinal plants in rats. *J. Ethnopharmacol.* 2001; 75: 185 - 90.
 20. Weenen H, Nkunya MH, Bray DH, Mwasumbi LB, Kinabo LS and Kilimali VA. Antimalarial activity of Tanzanian medicinal plants. *Planta Med.* 1990; 56: 368 - 70.
 21. Weenen H, Nkunya MH, Bray DH, Mwasumbi LB, Kinabo LS, Kilimali VA and Wijnberg JB. Antimalarial compounds containing an alpha,beta-unsaturated carbonyl moiety from Tanzanian medicinal plants. *Planta Med.* 1990; 56: 371 - 3.
 22. Gupta MB, Palit TK, Singh N and Bhargava KP. Pharmacological studies to isolate the active constituents from *Cyperus rotundus* possessing anti-inflammatory, anti-pyretic and analgesic activities. *Indian J. Med. Res.* 1971; 59: 76 - 82.
 23. Shinde S, Phadke S and Bhagwat AW. Effect of Nagarmotha (*Cyperus rotundus* Linn) on reserpine-induced emesis in pigeons. *Indian J. Physiol. Pharmacol.* 1988; 32: 229 - 30.
 24. Sayed HM, Mohamed MH, Farag SF, Mohamed GA and Proksch P. A new steroid glycoside and furochromones from *Cyperus rotundus* L. *Nat. Prod. Res.* 2007; 21: 343 - 50.
 25. Zoghbi MDGB, Andrade EHA, Carreira LMM and Rocha EAS. Comparison of the main components of the essential oils of "priprioca": *Cyperus articulatus* var. *articulatus* L., *C. articulatus* var. *nodosus* L., *C. prolixus* Kunth and *C. rotundus* L. *J. Essent. Oil Res.* 2008; 20: 42 - 6.
 26. Kilani S, Abdelwahed A, Ammar RB, Hayder N, Ghedira K, Chraief I, Hammami M and Chekir-Ghedira L. Chemical composition, antibacterial and antimutagenic activities of essential oil from (Tunisian) *Cyperus rotundus*. *J. Essent. Oil Res.* 2005; 17: 695 - 700.
 27. Tam CU, Yang FQ, Zhang QW, Guan J and Li SP. Optimization and comparison of three methods for extraction of volatile compounds from *Cyperus rotundus* evaluated by gas



chromatography-mass spectrometry. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2007; 44: 444 - 9.

28. Dhillon RS, Singh S, Kundra S and Basra AS. Studies on the chemical composition and biological activity of essential oil from *Cyperus rotundus* Linn. *Plant Growth Regulation* 1993; 13: 89 - 93.

29. Sonwa MM and König WA. Chemical study of the essential oil of *Cyperus rotundus*. *Phytochem.* 2001; 58: 799 - 810.

30. Christen P and Kapetanidis I. Study on the leaves of *Lycium halimifolium* Miller. (Solanaceae). Part 2. Identification of constituents extracted by steam distillation. *Pharm. Acta Helv.* 1987; 62: 158 - 62.

31. Rewat AKS, Tripathi RD, Khan AJ and Balasubrahmanyam VR. Essential oil components as markers for identification of *Piper betle* L. cultivars. *Biochem. Syst. Ecol.* 1989; 17: 35 - 8.

