بررسی ترکیب‌های شیمیایی و خواص ضدباکتری اسانس مریم گلی گل درشت (*Salvia macrochlamys* Boiss. & Kotschy) رویش یافته در استان آذربایجان غربی

زهرا کاظمی‌زاده[1]*، زهره حبیبی[2]، مرتضی یوسف‌زادی[3]، محمدعلی اصحابی[4]، مهناز حیدری‌ریکان[5]

۱- عضو هیأت علمی گروه پژوهشی فیتوشیمی، جهاددانشگاهی واحد شهید بهشتی، تهران
۲- استادیار، گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید بهشتی، تهران
۳- عضو هیأت علمی، گروه پژوهشی اکولوژی و سیستماتیک، پژوهشکده علوم پایه کاربردی جهاددانشگاهی، تهران
٤- کارشناسی‌ارشد، گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه
۵- عضو هیأت علمی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان آذربایجان غربی، آذربایجان غربی
* آدرس مکاتبه: تهران، اوین، دانشگاه شهید بهشتی، جهاددانشگاهی واحد شهید بهشتی
صندوق‌پستی: ۱۱۷۱ – ۱۹٦۱۵، تلفن: ۲۲٤۳۱۹٤۳ (۰۲۱)، نمابر: ۲۲٤۳۱۹۳۸ (۰۲۱)
پست الکترونیک: kazemizadeh@acecr.ac.ir

تاریخ دریافت: ۸٦/۸/۲۲ **تاریخ تصویب:** ۸۸/٦/۱۸

چکیده

مقدمه: در کشور ایران تعداد ۵۸ گونه از این جنس رویش دارد که ۱۷ گونه از این تعداد بومی ایران می‌باشد. گیاهان متعلق به این جنس دارای خواص دارویی بوده ودر طب سنتی استفاده می‌شوند.

هدف: شناسایی اجزای تشکیل‌دهنده اسانس گونه مریم گلی گل درشت و بررسی فعالیت ضدباکتری آن.

روش بررسی: در این تحقیق گونه مریم گلی گل درشت از محل رویش خود در دره مارمیشو ارومیه جمع‌آوری شد. اسانس‌گیری به روش تقطیر با آب انجام شد و اجزای اسانس با استفاده از دستگاه‌های GC و GC/MS آنالیز و شناسایی شدند. شناسایی ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس، به کمک طیف جرمی، شاخص بازداری و مقایسه آن با شاخص‌های بازداری گزارش شده در منابع صورت گرفت. جهت بررسی خواص ضدباکتری از روش انتشار روی دیسک و MIC استفاده شد.

نتایج: بازدهی اسانس برای این گونه، ۰/۳۵ درصد وزنی- وزنی به دست آمد. تعداد ۳٤ ترکیب (۹۷/٦ درصد) اسانس شناسایی شد که β - Carryophyllene (۳۲/۷ درصد) و 1,8 - Cineol (۱۸/۹ درصد) ترکیب‌های عمده بودند. اسانس این گیاه بر روی میکروارگانیسم‌های *Bacillus Subtilis*، *Staphylococus araeus* و *Staphylococus epidermidis* اثرات نسبتاً قوی نشان داد.

نتیجه‌گیری: یافته‌های این مطالعه نشان می‌دهد که مونوترپن‌ها (٤٤/٤ درصد) و سزکویی‌ترپن‌ها (۵۲/۰ درصد) اسانس این گونه را تشکیل می‌دهند. اثرات ضدباکتری می‌تواند به دلیل وجود ترکیب 1,8 - Cineol در اسانس باشد.

گل‌واژگان: مریم گلی گل درشت، اسانس، GC/MS، ضدباکتری

مقدمه

اهمیت شناسایی اسانس‌ها به دلیل کاربردهای وسیع آن‌ها در صنایع مختلف از جمله صنایع غذایی، دارویی، آرایشی و بهداشتی، صنعتی و غیره می‌باشد.

گیاهان تیره نعناع و برخی جنس‌های آن از جمله جنس مریم‌گلی از نظر شناسایی ترکیب‌های اسانس مورد توجه محققان داخلی و خارجی بوده‌اند. جنس مریم گلی[1] از خانواده نعناعیان با ۷۰۰ تا ۹۰۰ گونه، در سراسر جهان رویشی وسیع دارد، این جنس در ایران ۵۸ گونه گیاه علفی یک‌ساله و چند ساله دارد که در سراسر کشور پراکنده‌اند و ۱۷ گونه آن انحصاری ایران می‌باشند [۱]. این جنس شامل گیاهان یک‌ساله و چندساله است که در سرتاسر ایران پراکنده هستند. گیاهان این جنس پایا، 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 دارای خواص ضدباکتری، ضدقارچی، ضدتوموری، آنتی‌اکسیدانتی و ضدالتهابی بوده و علاوه‌بر آن در صنایع عطرسازی و آرایشی کاربرد فراوانی دارند. به همین علت در طب سنتی به منظور درمان سرماخوردگی، برونشیت، ناراحتی‌های گوارشی، سل مورد استفاده قرار می‌گرفتند [۲،۳،٤]. همچنین در سال‌های اخیر گزارش شده است که اسانس مریم‌گلی به دلیل وجود ترکیب ۱ و ۸- سینئول دارای خاصیت ضدباکتری می‌باشد [۵،٦].

گیاه‌شناسی مریم گلی گل درشت[2]

گونه *Salvia macrochlamys* از خانواده نعناییان می‌باشد و گیاهی است چند ساله، علفی به ارتفاع ۳۰ - ۵۰ سانتی‌متر. دارای برگ‌های ساده و بیضی مایل به تخم‌مرغی. دمبرگ ۲ - ٤ سانتی‌متر. دارای گلبرگ‌های سفید مایل به قرمز به طول ۳۵ سانتی‌متر. کاسه به شکل تخم‌مرغی- مستطیلی. دارای گل‌ها و براکته‌های فراوان در ساقه است که دو تا از گل‌ها عمود بر ساقه قرار دارند. در ایران انتشار جغرافیایی این گونه تنها در استان آذربایجان می‌باشد. تصویر هرباریومی گیاه در شکل شماره ۱ آمده است [۷].

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و استخراج اسانس

سرشاخه‌های گل‌دار گونه *Salvia macrochlamys* در خرداد ماه سال ۱۳۸۵ در دره مارمیشو ارومیه، استان آذربایجان غربی جمع‌آوری و خشک شد. مقدار ۱۰۰ گرم از آن به روش تقطیر با آب توسط دستگاه کلونجر اسانس‌گیری شد. اسانس حاصل پس از آب‌گیری با سولفات سدیم بی‌آب، توسط دستگاه GC و GC/MS آنالیز شد.

شناسایی ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس

اسانس پس از آماده‌سازی به دستگاه GC تزریق شد تا درصد ترکیب‌های تشکیل‌دهنده آن معلوم شود و همچنین اسانس با استفاده از دستگاه GC/MS آنالیز شد تا نوع ترکیب‌های تشکیل‌دهنده آن مشخص شود.

شناسایی ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس به کمک شاخص بازداری[1] آنها و مقایسه آن با شاخص‌های بازداری گزارش شده در منابع، مقایسه طیف جرمی هر یک از اجزای اسانس با طیف جرمی موجود در کتابخانه‌های دستگاه GC/MS و نیز تزریق همزمان نمونه‌های استاندارد[2] از ترکیب‌های شناخته شده اسانس‌ها انجام پذیرفت [۸].

باکتری‌های مورد بررسی

باکتری‌های *Bacillus Subtilis* ATCC 9372، *Staphylococcus araeus* ATCC 25923، *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228، *Enterococcus faecalis* ATCC 15753، *Escherichia* coli ATCC 25922 و ATCC 3583 *Klebsiella pneumoniae* استفاده شده‌اند.

---

[1] *Salvia*

[2] *Salvia macrochlamys* Boiss & Kotschy

[1] Retention index

[2] Co-injection

تعیین قطر هاله عدم رشد با استفاده از روش انتشار روی دیسک

برای تعیین اولیه خواص ضدباکتریایی اسانس و ترکیبات اصلی آن‌ها و اندازه‌گیری هاله‌های عدم رشد از روش انتشار روی دیسک[1] استفاده شد. غلظت‌های موردنظر از اسانس خالص و ترکیبات اصلی روی دیسک‌های کاغذی استریل (قطر ٦ میلی‌متر) ریخته شده و سپس دیسک‌ها روی محیط کشت آگار آلوده به باکتری‌ها قرار داده شدند. قطر هاله‌های عدم رشد بعد از ٢٤ ساعت انکوباسیون در دمای ٣٧ درجه سانتی‌گراد تعیین شد. قطر این هاله‌ها به کمک خط‌کش Hi Antibiotic Zone Scale اندازه‌گیری و نتایج میانگین سه بار تکرار محاسبه شدند.

تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی رشد[2]

برای تعیین حداقل غلظت بازدارنده رشد باکتری‌ها توسط اسانس و ترکیب‌های اصلی آن، از روش Microdilution susceptibility assay، استفاده شد. برای این منظور از میکروپلیت‌های ٩٦ چاهکی استفاده شد. این میکروپلیت‌ها دارای ٨ ردیف ١٢ چاهکی به حجم ٢٥٠ میکرولیتر هستند. در چاهک اول هر ردیف میکروپلیت ٢٠٠ میکرولیتر و در بقیه چاهک‌ها ١٠٠ میکرولیتر محیط کشت مولر هینتون براث می‌ریزیم. سپس غلظت موردنظر از اسانس (که در حلال مناسب حل شده) را در چاهک‌های اول هر ردیف درست کرده و ١٠٠ میکرولیتر از چاهک اول را برداشته و در چاهک دوم ریخته و بعد از چند بار پر و خالی کردن به منظور مخلوط شدن اسانس با محیط کشت، توسط سمپلر ١٠٠ میکرولیتر از چاهک دوم برداشته و به چاهک سوم می‌ریزیم. این کار را تا چاهک شماره ١١ ادامه می‌دهیم. از محلول استوک تهیه شده باکتری‌ها با غلظت 1×10^{6} CFU[3] ١٠٠ میکرولیتر به تمام میکروپلیت به استثنای چاهک‌های شماره ١١ هر ردیف می‌ریزیم. چاهک‌های شماره ١١ هر ردیف به عنوان شاهد اسانس فقط حاوی محیط کشت و اسانس می‌باشد. چاهک‌های شماره ١٢ هر ردیف به عنوان شاهد باکتری جهت تعیین کدورت باکتری حاوی محیط کشت و باکتری‌ها می‌باشد. در مرحله آخر میکروپلیت را در انکوباتور با دمای ٣٧ درجه سانتی‌گراد به مدت ٢٤ ساعت قرار می‌دهیم. برای تعیین حداقل غلظت بازدارنده رشد، اولین چاهکی که کدورتی ندارد و به عبارت دیگر رشد باکتری در آن مشاهده نمی‌شود به عنوان عدد MIC منظور می‌شود.

[1] Disk diffusion method [2] MIC
[3] Colony Forming Unit

مشخصات دستگاهی

دستگاه GC

برای آنالیز GC از گاز کروماتوگراف شرکت شیمادزو[1] مدل 9A، مجهز به ستون از نوع ٥ – DB و طول ٣٠ متر و قطر داخلی ٠/٢٥ میلی‌متر و ضخامت لایه نازک ٠/٢٥ میکرومتر استفاده شد. دمای آون به مدت ٥ دقیقه در ٤٠ درجه سانتی‌گراد نگه داشته شد و سپس تا ٢٥٠ درجه سانتی‌گراد با سرعت ٤ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه افزایش یافت. دمای قسمت تزریق و آشکارساز[2] ٢٦٠ درجه سانتی‌گراد بود و از گاز حامل هلیم با سرعت ٣٢ سانتی‌متر بر ثانیه استفاده شد.

دستگاه GC/MS

برای آنالیز GC/MS از دستگاه Varian مدل ٣٤٠٠ مجهز به ستون ٥ – DB به طول ٣٠ متر و قطر داخلی ٠/٢٥ میلی‌متر و ضخامت لایه نازک ٠/٢٥ میکرومتر استفاده شد. دمای آون از ٦٠ درجه سانتی‌گراد تا ٢٥٠ درجه سانتی‌گراد با سرعت ٤ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه افزایش یافت. از گاز حامل هلیوم با سرعت جریان ١/١ میلی‌متر بر دقیقه استفاده شد و از انرژی یونیزاسیون ٧٠ الکترون ولت استفاده شد.

نتایج

بازده وزنی– وزنی اسانس به دست آمده با روش تقطیر با آب در گونه *Salvia macrochlamys*، ٠/٣٥ درصد وزنی– وزنی می‌باشد. تعداد ٣٤ ترکیب نشان‌دهنده‌ی ٩٧/٦ درصد کل

[1] Shimadzo [2] FID

ترکیب‌های اسانس شناسایی شد. جدول شماره ۱ ترکیب‌های تشکیل‌دهنده‌ی اسانس، شاخص بازداری، درصد کمی و روش شناسایی را نشان می‌دهد. در اسانس *S. macrochlamys*، *β-Carryophyllene* (۳۲/۷ درصد)، 1,8-Cineol (۱۸/۹ درصد)، Carryophyllene oxide (۱۳/٦ درصد)، Camphor (۷/٦ درصد) و *β*-Pinene (۷/۰ درصد) فراوان‌ترین اجزای اسانس بودند (شکل شماره ۲). در این میان مونوترپن‌های هیدرکربنی (۱٤/۷ درصد) مونوترپن‌های اکسیژن‌دار (۳۰/۲ درصد)، سزکویی‌ترپن‌های هیدروکربنی (۳٦/۲ درصد) و سزکویی‌ترپن‌های اکسیژن‌دار (۱۵/۱ درصد) یافت شدند.

درخصوص آزمون ضدباکتری، همان‌طور که نتایج به‌دست آمده در جدول شماره ۲ نشان می‌دهد، اسانس *S. macrochlamys* به دلیل وجود ترکیب 1,8-Cineol روی میکروارگانیسم‌های *Bacillus Subtilis*، *Staphylococcus araeus* و *Staphylococcus epidermidis* اثرات قوی نشان داده است در حالی‌که بر روی میکروارگانیسم‌های *Klebsiella pneumoniae*، *Enterococcus faecalis* و *Escherichia* coli اثر متوسطی را نشان می‌دهد (جدول شماره ۲).

جدول شماره ۱- ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس *Salvia macrochlamys* Boiss & Kotschy

ردیف	نام ترکیب	شاخص بازداری	درصد	روش شناسایی
۱	*α*-Thujene	۹۳۰	۰/۲	RI, MS
۲	*α*-Pinene	۹٤۰	۲/۵	RI, MS, Co-I
۳	Camphene	۹٦٦	۲/۵	RI, MS
٤	Sabinene	۹۸۷	۰/۷	RI, MS
۵	*β*-Pinene	۹۹۰	۷/۰	RI, MS, Co-I
٦	Myrcene	۱۰۰۰	۰/۲	RI, MS, Co-I
۷	*α*-Terpinene	۱۰۲۹	۰/۱	RI, MS
۸	*P*-Cymene	۱۰۳۳	۰/۵	RI, MS, Co-I
۹	1,8-Cineol	۱۰٤۵	۱۸/۹	RI, MS, Co-I
۱۰	*β*-Ocimene	۱۰٤۷	۰/۳	RI, MS, Co-I
۱۱	*γ*-Terpinene	۱۰٦۸	۰/٦	RI, MS, Co-I
۱۲	*Cis*-Sabinene hydrate	۱۰۷۳	۰/۱	RI, MS
۱۳	*α*-Terpinolene	۱۰۸۹	۰/۱	RI, MS
۱٤	*Trans*-Sabinene hydrate	۱۱۰٤	۰/۱	RI, MS
۱۵	*β*-Thujone	۱۱۱۹	۰/۳	RI, MS
۱٦	3,5-Heptadiene-2,0,l,2,6-dimethyl	۱۱۲۲	۰/۱	RI, MS
۱۷	Camphor	۱۱٤۹	۷/٦	RI, MS, Co-I
۱۸	Borneol	۱۱۷۵	۱/۸	RI, MS, Co-I
۱۹	Terpinene-4-ol	۱۱۸۵	۰/۷	RI, MS
۲۰	Dihydrocarveol	۱۱۹٤	۰/۲	RI, MS

ادامه جدول شماره ۱ – ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس *Salvia macrochlamys* Boiss & Kotschy

ردیف	نام ترکیب	شاخص بازداری	درصد	روش شناسایی
۲۱	Myrthenol	۱۲۰۲	۰/۱	RI, MS
۲۲	*Trans*-Chrystanthenyl acetate	۱۲۳۸	۰/۳	RI, MS
۲۳	Bornyl acetate	۱۲۹۱	۰/۱	RI, MS
۲٤	δ- Elemene	۱۳٤۹	۲/۳	RI, MS
۲۵	β-Caryophyllene	۱٤۳۵	۳۲/۷	RI, MS, Co-I
۲٦	α-Humulene	۱٤۷۰	۰/۸	RI, MS
۲۷	E,E,α-Farnesene	۱۵۱۷	۰/۱	RI, MS
۲۸	Ledene	۱۵۲۲	۰/۲	RI, MS
۲۹	Tetracyclo[6.3.2.0(2,5)0(1,8)] tridecan-9-ol,4,4-dimethyl	۱۵۵۹	۱/۲	RI, MS
۳۰	Germacrene B	۱۵۷۲	۰/۱	RI, MS
۳۱	Spathulenol	۱۵۹۷	۱/۱	RI, MS
۳۲	Caryophyllene oxide	۱٦۰۲	۱۳/٦	RI, MS, Co-I
۳۳	Eudesm-4(14)-en-11-ol	۱٦٦۲	۰/٤	RI, MS
۳٤	Hexadecanoic acid	۱۹٦٤	۰/۱	RI, MS
	Monoterpen hydrocarbons		۱٤/۷	
	Oxygenated monoterpens		۳۰/۲	
	Sesquiterpen hydrocarbons		۳٦/۲	
	Oxygenated sequiterpens		۱۵/۱	
	Total		۹۷/٦	

RI، شاخص بازداری؛ MS، طیف‌سنجی جرمی؛ Co-I، تزریق همزمان با نمونه استاندارد

جدول شماره ۲– نتایج ضدباکتری اسانس *S. macrochlamys*

نام میکروارگانیسم	اسانس		1,8-Cineol		آمپی‌سیلین
	IZ	MIC	IZ	MIC	IZ
Bacillus subtillis	۲۹	۱/۸	۳۱	۰/۹	۱٤
Staphylococcus araeus	۱۹	۳/۷۵	۲۳	۱/۹	۱۳
Staphylococcus epidermidis	۱۷	۷/۵	۲۷	۰/۹	۱۹
Klebsiella pneumoniae	۱۱	۱۵	۱۲	۷/۵	۰
Enterococcus faeacalis	۱۰	>۱۵	۱۰	۷/۵	۱۱
Escherichia coli	۱۰	۱۵	۲۲	۰/۹	۱۲

IZ: قطر هاله عدم رشد به میلی‌متر

MIC: کمترین غلظت بازدارنده به میلی‌گرم در میلی‌لیتر

بحث

گزارش‌های زیادی در خصوص اسانس گونه‌های مختلف مریم‌گلی وجود دارد که بسیاری از آنها توسط محققان ایرانی ارایه شده است. در ذیل به نمونه‌هایی از آن‌ها جهت مقایسه اشاره می‌شود.

در تحقیقی که توسط حبیبی و همکاران صورت گرفت، در اسانس گونه *S. persepolitana*، Manool (۳۷/۳ درصد) و در اسانس گونه *S. rhytidea*، Terpinolene (۲۷/۰ درصد)، Sabinene (۱۷/۵ درصد) و Limonene (۱٤/۹ درصد) شناسایی شدند [۹].

اسانس گونه *S. brachycalyx*، نیز توسط مشکات‌السادات و اسدی آنالیز شد که 1,8 - Cineol (۷٦/۵ درصد) و Geraniol (۱۵/۰ درصد) به عنوان اجزای اصلی گزارش شدند [۱۰].

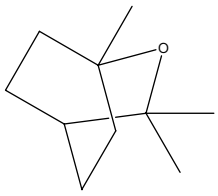
در مطالعه دیگری که روی اسانس دو گونه *S. aethiopis* و *S. hypoleuca*، توسط روستاییان و همکاران صورت گرفت، *β-Caryophyllene* به ترتیب (۲٤/٦ و ۲۲/۰ درصد) بیشترین میزان را داشتند، همچنین در اسانس *S. multicaulis*، α-*Pinene* (۲٦/۰ درصد) به عنوان فراوان‌ترین ترکیب شناسایی شد [۱۱].

اسانس گونه *S. palestinea* نیز در سال ۲۰۰۵ مورد مطالعه قرار گرفت و Germacrene D (۱٤/۰ درصد) و *β-Bisabolene* (۱۱/۹ درصد) به عنوان اجزای اصلی شناسایی شدند [۱۲].

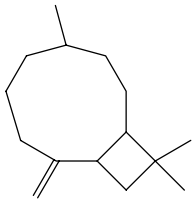
همچنین گونه *S. macilenta* توسط سنبلی و همکاران مورد بررسی قرار گرفت و α-*Pinene* (٦۰/۰ درصد) به عنوان ترکیب عمده تشکیل‌دهنده اسانس گزارش شد [۱۳].

در مطالعه دیگری که توسط جاویدنیا و همکارانش در سال ۲۰۰۲ بر روی اسانس گونه *S. mirzayanii*، انجام شد، Spathulenol (۱۰/٤ درصد) به عنوان ترکیب عمده شناسایی شد [۱٤].

شکل شماره ۱- گونه *Salvia macrochlamys* Boiss & Kotschy



1,8-Cineol



β-Carryophyllene

شکل شماره ۲- ساختار دو ترکیب اصلی موجود در اسانس گونه *Salvia macrochlamys*

این گزارش‌ها در حالی موجود می‌باشند که تاکنون درخصوص گونه *Salvia macrochlamys*، تا به حال هیچ پژوهشی در ایران انجام نشده است.

در اسانس *S. macrochlamys* دو ترکیب عمده β-Carryophyllene (۳۲/۷ درصد) و 1,8 - Cineol (۱۸/۹ درصد) وجود دارد. مطالعات نشان می‌دهد که β-Carryophyllene خواص ضدباکتری چندانی ندارد ولی در عوض 1,8 - Cineol نشان داده است که دارای خواص ضدباکتریایی خوبی به‌ویژه بر روی باکتری‌های گرم مثبت می‌باشد [۱۵]. نتایج این مطالعه (جدول شماره ۲) نیز نشان می‌دهد که خاصیت ضدباکتری اسانس گونه *S. macrochlamys* ناشی از وجود ترکیب 1,8 - Cineol در آن می‌باشد.

تشکر و قدردانی

از معاونت محترم پژوهشی جهاددانشگاهی جهت حمایت مالی پروژه و مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان آذربایجان غربی جهت همکاری در جمع‌آوری گیاه تشکر و قدردانی می‌شود. همچنین از جناب آقای دکتر ولی‌ا... مظفریان که برای اولین بار در ایران نمونه‌ی این گونه را جمع‌آوری و شناسایی نمودند، کمال تشکر را دارد.

منابع

1. Mozaffarian V. A Dictionary of Iranian Plant Names. Farhang Moaser, Tehran, Iran. 1996. p: 542.

2. Zargari A. Medicinal Plant. Tehran, Iran. 1997, pp: 59 - 71.

3. Kelen M and Tepe B. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of the essential oils of three *Salvia* species from Turkish flora. *Bioresource Technol*. 2008; 99: 4096 - 104.

4. Hosseinzadeh H, Haddadkhodaparast MH and Arash AR. Antinociceptive, antintiinflammatory and acute toxicity effects of *Salvia leriifolia* Benth. seed extract. *Phytother Res*. 2003; 17: 422 - 5.

5. Yousefzadi M, Sonboli A, Karimi F, Ebrahimi SN Asghari B and Zeinali A. antimicrobial activity of some *Salvia* species essential oil. *Z. Naturforsch*. 2007; 62c: 514 - 8.

6. Salehi P, Sonboli A, Ebrahimi SN and Yousefzadi M. Antimicrobial and antioxidant activity of the essential oils and various extract of *Salvia sahandica* in different phenoligical stage. *Chem. Nat. Comp.* 2007; 43: 328 - 30.

7. Rechinger KH. Flora Iranica. Akademische Druck and Verlagsanstalt, Graz, Austria, 1982, pp: 415 - 6.

8. Adams RP. Identification of essential oil Components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy. Allured: Carol Stream, IL, 2001.

9. 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.

10. Meshkatalsadat MH and Asadi M. Chemical composition of essential oil of *Salvia brachycalyx* boiss. at flowering stage from Iran. *Asian J. Chem.* 2007; 19: 4951 - 3.

11. 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 - 8.

12. Salehi P, Sefidkon F, Tolami LB and Sonboli A. Essential oil composition of *Salvia palaestina* Benth. from Iran. *Flavour Fragr. J*. 2005; 20: 525-7.

13. Sonboli A, Fakhari AR and Sefidkon F. Chemical composition of the essential oil of *Salvia macilenta* from Iran. *Chem. Nat. Comp.* 2005; 41: 168 - 70.

14. Javidnia K, Miri R, Kamalinejad M and Nasiri A. Composition of the essential oil of *Salvia mirzayanii* Rech. f. & Esfand from Iran. *Flavour Fragr. J*. 2002; 17: 465 - 67.

15. Yousefzadi M, Sonboli A, Ebrahimi SN, Hashemi SH. Antimicrobial Activity of Essential Oil and Major Constituents of *Salvia chloroleuca*. *Z. Naturforsch*. 2008; 73c: 337 - 40.