بررسی اثر ضدمیکروبی عصاره تام و فراکسیون‌های گیاه *Geum kokanicum*

حمیدرضا منصف اصفهانی[۱]، انسیه شریفی اقدم[۲]، محسن امینی[۳]، محمدعلی فرامرزی[٤]، احمدرضا شاهوردی[٤]، رضا حاجی‌آقائی[٥]*

۱ ـ استادیار، گروه فارماکوگنوزی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران
۲ ـ دانشجوی داروسازی، گروه فارماکوگنوزی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران
۳ ـ استادیار، گروه شیمی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران
٤ ـ استادیار، گروه بیوتکنولوژی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران
٥- مربی پژوهش، گروه فارماکوگنوزی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی، کرج
* آدرس مکاتبه: کرج، کیلومتر ٥٥ جاده تهران قزوین، مجتمع تحقیقاتی جهاددانشگاهی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی، صندوق‌پستی: ١٤٤٦ - ١٣١٤٥
تلفن: ٩ – ٤٧٦٤٠١٠ (٠٢٦١)، نمابر: ٤٧٦٤٠٢١ (٠٢٦١)
پست الکترونیک: rhajiaghaee@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۸۷/۱۰/۱۷ **تاریخ تصویب:** ۸۸/۲/۷

چکیده

مقدمه: گیاه علف مبارک کوهستان با نام علمی ***Geum kokanicum*** از خانواده **Rosaceae** ، از جمله گیاهان با ریزوم دایمی ایران می‌باشد. این گیاه در درمان اسهال و سایر مشکلات گوارشی کاربرد دارد.

هدف: در این تحقیق اثرات ضدمیکروبی عصاره تام و فراکسیون‌های مختلف تهیه شده از ریزوم ***G. kokanicum*** مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی: گیاه ***G. kokanicam*** درخرداد ماه ۱۳۸۵ از منطقه بجنورد جمع‌آوری شد. سپس از ریزوم آن یک عصاره تام با اتانول ۸۰ درصد و چهار فراکسیون به روش استخراج متوالی به دست آمد و هریک از فراکسیون‌ها و عصاره تام به روش **Disc – diffusion** مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج: آزمون میکروبی اولیه عصاره تام و فراکسون‌های مختلف بر روی میکروب‌های استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیاکلی، نشان‌دهنده بیشترین هاله عدم رشد فراکسیون متانلی (**mg/disc** ۱۰) بر روی استافیلوکوکی اورئوس به میزان ۱۹ میلی‌متر می‌باشد. هم‌چنین حداقل غلظت مهاری عصاره تام اتانولی روی میکروب‌های مختلف گرم مثبت و منفی شامل: استافیلوکوکوس اپیدرمیتیس، سویه ای از استرپتوکوک نوع **A**، باسیلوس سوبتیلیس، سالمونلا تیفی، پسودوموناس آئروژینوزا، سویه ای از شیگلا و سویه ای از کلبسیلا مورد بررسی قرار گرفت که کمترین حداقل غلظت مهاری مربوط به استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس به میزان ۰/۱۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود.

نتیجه‌گیری: یافته‌های این مطالعه نشان‌دهنده هاله عدم رشد عصاره تام این گیاه بر روی استافیلوکوکوس اورئوسی به میزان ۱۸ میلی‌متر می‌باشد. با توجه به حضور تانن زیاد در آنالیز فیتوشیمیایی این عصاره حدس زده شد که این اثر ضدمیکروبی به دلیل حضور تانن بالا در گیاه باشد. به منظور اثبات این موضوع تانن گیاه، که در فراکسیون متانولی جمع شده بود به وسیله محلول ژلاتین ۱ درصد جدا شده و به وسیله بیواتوگرافی مورد بررسی قرار گرفت که تایید کننده حدس بالا می‌باشد.

گل‌واژگان: ***Geum kokanicum*** ، تانن، فعالیت ضدمیکروبی

www.SID.ir

مقدمه

در طول تاریخ بشری بسیاری از بیماری‌های عفونی به طور سنتی با داروهای گیاهی درمان شده‌اند. امروزه تلاش برای استخراج و شناسایی مواد موثر گیاهان که خاصیت ضدمیکروبی دارند ادامه دارد [۱،۲]. گیاه علف مبارک کوهستان یا میخک کوهی با نام علمی *Geum kokanicum* Regel & Schmalh (Rosaceae) از گیاهان بومی ایران می‌باشد که در مناطق البرز، نواحی اطراف تهران و کندوان انتشار جغرافیایی دارد [۳]. این گیاه علاوه بر ایران، در ترکمنستان، آسیای مرکزی، اروپای مرکزی، شمال آفریقا، سوریه، آناتولی و ارمنستان می‌روید [٤].

این گیاه در طب سنتی منطقه بجنورد، به منظور درمان اسهال و ناراحتی‌های گوارشی، رفع ترش کردن و در رنگ‌رزی به کار می‌رود [٥].

مطالعه‌ای که روی ترکیبات فرار *G. kokanicum* انجام شده، نشان‌دهنده وجود هفت نوع ترکیب در اسانس آن می‌باشد که از میان آنها، اوژنول و میرتنول ترکیبات اصلی اسانس را تشکیل می‌دهند، هم‌چنین در بررسی اثرات ضدمیکروبی اسانس مشخص شد که اسانس گیاه، اثرات ضدباکتری و ضدقارچ دارد [٦].

روی بعضی از گونه‌های این گیاه از جمله *G. rivale* و *G. japonicum* مطالعات فیتوشیمیایی و بیولوژیک انجام شده است. این مطالعات نشان‌دهندهٔ وجود خاصیت ضدباکتری و ضدانعقادی در گونه‌های فوق‌الذکر است [۷،۸].

هدف از این تحقیق بررسی اثرات ضدمیکروبی ریزوم علف مبارک کوهستان است که برای اولین بار گزارش می‌شود.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

G. kokanicum از خانواده Rosaceae که در ایران به علف مبارک کوهستان مشهور است، در خردادماه ۱۳۸۱ از منطقه بجنورد در استان خراسان جمع‌آوری شد. نمونه هرباریومی این گیاه تهیه شده و در هرباریوم دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تهران نگهداری می‌شود.

ریزوم گیاه، پس از جمع‌آوری، جداشده و سپس در سایه و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد خشک شد و ریزوم‌ها توسط آسیاب به پودر مناسبی تبدیل شدند.

مواد شیمیایی و محیط‌های کشت

کلیه مواد شیمیایی و محیط‌های کشت ذکر شده در این تحقیق از شرکت Merck (کشور آلمان) می‌باشد.

عصاره‌گیری

عصاره تام ریزوم این گیاه توسط اتانل ۸۰ درصد به روش پرکولاسیون تهیه شد. بدین‌ترتیب که ۱۰۰ گرم از پودر ریزوم به روش فوق عصاره‌گیری شد و عصاره هیدروالکلی به دست آمده توسط دستگاه تقطیر در خلاء خشک شد (٦/۱۲ گرم معادل ٦/۱۲ درصد وزنی – وزنی).

۵۰۰ گرم از پودر ریزوم گیاه *G. kokanicum* به روش استخراج متوالی[1] با حلال‌های فوق عصاره‌گیری شد. چهار نوع فراکسیون تهیه شده با دستگاه تقطیر در خلاء مجدداً خشک و به ترتیب ۳/۳، ۵/۷، ٦/٤ و ۸/۲ گرم عصاره خشک معادل ۰/٦٦، ۱/۱٤، ۱/۲۸ و ۱/٦٤ درصد وزنی – وزنی حاصل شد.

آنالیز فیتوشیمیایی

آزمایش‌های فیتوشیمیایی اولیه جهت تعیین مقدار کیفی مواد مختلف شامل تانن، فلاونوئید، آلکالوئید و ساپونین انجام شد.

بررسی فعالیت ضد میکروبی

میکروارگانیسم‌ها

در این تحقیق از سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، سودوموناس آئروژینوزا، سویه‌ای از شیگلا، باسیلوس سوبتیلیس، اشریشیاکلی، سالمونلاتیفی، سویه‌ای از کلبسیلا و استرپتوکوکوس نوع A استفاده شد. این

[1] Successive extraction

Archive of SID
www.SID.ir

سویه‌ها از بیمارستان شریعتی تهیه و طبق روش‌های متداول شناسایی و تعیین هویت شد.

اثرات ضدمیکروبی عصاره تام و فراکسیون‌های مختلف ریزوم گیاه *G. kokanicum* به روش انتشار[1] مطالعه شد. دیسک حاوی ۱۰ میلی‌گرم از مواد مورد آزمایش روی پلیت‌های تلقیح شده با سویه‌های میکروبی (که در جدول شماره ۱ لیست شده است) قرار داده شد. پلیت‌ها به مدت ۲٤ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

هاله‌های عدم رشد اطراف دیسک‌های مورد آزمایش اندازه‌گیری و ثبت شد. خاصیت ضدمیکروبی فعال‌ترین فراکسیون تهیه شده توسط روش رقتی[2] مورد مطالعه بیشتر قرار گرفت.

غلظت‌های متوالی از فراکسیون (۰/۰٦۲۵، ۰/۱۲۵، ۰/۲۵، ۰/۵، ۱، ۲، ٤ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) در محیط جامد تهیه شد. آنگاه سویه‌های مختلف میکروبی به صورت نقطه‌ای روی محیط جامد کشت داده شدند. میزان تلقیح باکتری‌ها 10^5 ـ 10^4 باکتری در هر نقطه بود. بعد از گرمخانه‌گذاری طبق شرایط فوق‌الذکر، نتایج جمع‌آوری شد. کمترین غلظتی که مانع از رشد یک سویه باکتری می‌شود به عنوان حداقل غلظت مهاری[3] گزارش می‌شود.

روش بیواتوگرافی

جهت تعیین R_f ماده فعال ضدمیکروبی از روش بیواتوگرافی استفاده شد.

کروماتوگرافی لایه نازک روی فراکسیون فعال با حلال بوتانل ـ آب ـ اسیداستیک (٦: ۱/۵ : ۱) انجام شد. پس از خشک شدن کروماتوگرام، پلیت روی محیط کشت جامد مولرهینتون به مدت ۱۵ دقیقه گذاشته شد، تا مواد موجود روی کروماتوگرام به محیط کشت منتقل شود، سپس از سویه شیگلا سوسپانسیون میکروبی معادل با کدورت ۰/۵ مک فارلند تهیه و به کمک سواپ روی پلیت های مورد آزمایش کشت داده شد.

بعد از گرمخانه‌گذاری در درجه حرارت ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲٤ ساعت هاله‌های عدم رشد روی پلیت، نشانگر وجود ماده یا مواد ضدمیکروبی روی کروماتوگرام است که توسط حلال جدا شده است. به کمک این روش می‌توان R_f مواد فعال موجود در عصاره گیاهی را تعیین نمود.

جداسازی تانن از فراکسیون متانلی

به منظور رسوب دادن و جداسازی تانن از فراکسیون متانلی، محلول ژلاتین ۱ درصد به کار برده شد. بدین‌منظور ابتدا فراکسیون متانلی را در آب حل کرده سپس محلول ژلاتین تا تکمیل عمل رسوب‌گیری اضافه شد و رسوب حاصله با سانتریفوژ جداسازی و توسط اتانول، تانن از ژلاتین جدا شد.

روی فراکسیون تانن‌دار و محلول باقی‌مانده، TLC با سیستم بوتانل ـ آب ـ اسید استیک (٦: ۱/۵ : ۱) و سپس آزمون بیواتوگرافی روی کروماتوگرام حاصل انجام گرفت.

نتایج

فعالیت ضد میکروبی

نتایج آزمایش اولیه Disc diffusion عصاره تام و فراکسیون‌های تهیه شده به روش انتشار در جدول شماره ۱ آورده شده است. عصاره تام و فراکسیون‌های دی کلرومتان، متانل و آبی تهیه شده از ریزوم گیاه مورد آزمایش در غلظت ۱۰ mg/disc روی استافیلوکوکوس اورئوس هاله عدم رشد نشان داد، در مقابل نمونه‌های مذکور با همین غلظت روی اشریشیاکلی، اثری نشان نمی‌دهند و فراکسیون اتردوپترولی علاوه بر اشریشیاکلی روی استافیلوکوکوس اورئوس نیز اثری نشان نداد (جدول شماره ۱).

نتایج آزمایش‌های تکمیلی ضدمیکروبی فراکسیون متانلی روی میکروارگانیسم‌های مختلف دیگر در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد نشان دهندهٔ این است که بیشترین تاثیر این فراکسیون روی سویه‌های میکروبی شیگلا، استافیلوکوکوس اورئوس، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس و باسیلوس سوبتیلیس می‌باشد. این فراکسیون روی میکروب‌های سودوموناس آئروژینوزا و استرپتوکوک A اثر کمتر و روی سالمونلا و کلبسیلا و اشریشیاکلی بی‌اثر می‌باشد (جدول شماره ۲).

[1] Disc – diffusion [2] Agar dilution
[3] Minimum Inhibitory Concentration (MIC)

Archive of SID
www.SID.ir

جدول شماره ۱ـ فعالیت ضد میکروبی عصاره تام و فراکسیون‌های گیاه *Geum kokanicum* به روش انتشار

عصاره ۱۰ mg/disc	عصاره تام اتانلی	عصاره اتردوپترولی	عصاره دی کلرومتانی	عصاره متانلی	عصاره آبی
استافیلوکوکوس اورئوس ATCC 29737	۱۸ میلی‌متر	–	۱۵/۵ میلی‌متر	۱۹ میلی‌متر	۱۵/۵ میلی‌متر
اشریشیاکلی ATCC 8739	–	–	–	–	–

جدول شماره ۲ ـ نتایج فعالیت ضدمیکروبی فراکسیون متانلی *Geum kokanicum* به روش انتشار

میکروارگانیسم	قطر هاله عدم رشد به میلی‌متر		
	فراکسیون متانلی ۱۰ mg/disc	سیپروفلوکساسین ۵ µg/disc	جنتامایسین ۱۰ µg/disc
استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس	۱۸	۲۹	۲۰/۵
استافیلوکوکوس اورئوس	۱۹	۲۶/۵	۱۹
سویه ای از استرپتوکوک نوع A	۱۱	۲۰	۱۳
اشریشیاکلی	–	۲۸	۱۶
باسیلوس سوبتیلیس	۱۸	۳۰	۲۶
سالمونلا تیفی	–	۳۳	۱۹
پسودوموناس آئروژینوزا	۱۴	۲۹	۱۶
سویه ای از شیگلا	۲۰	۳۱	۱۹
سویه ای از کلبسیلا	–	۳۸	۲۱

آزمون حداقل غلظت مهاری

با انجام آزمایش حداقل غلظت مهاری[1]، حداقل غلظتی از عصاره گیاه که به طور کامل باعث مهار رشد میکروارگانیسم‌ها بعد از ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری در ۳۷ درجه سانتی‌گراد می‌شود، تعیین شد. نتایج آزمون MIC عصاره تام روی میکروب‌های مختلف در جدول شماره ۳ آورده شده است. حداقل غلظت مهاری عصاره اتانلی از ۲ ـ ۰/۱۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تغییر می‌کند. کمترین آن مربوط به استافیلوکوکوس اپیدرمیس ۰/۱۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و حداکثر آن برای سویه‌های میکروبی است که در آزمون انتشار، حساسیتی به وجود mg/disc ۱۰ از فراکسیون اتانلی نشان ندادند.

خاصیت ضد میکروبی فراکسیون تاننی تغلیظ شده

محلول تانن‌دار و محلول باقیمانده حاصل از فراکسیون متانلی برای انجام آزمایش ضدمیکروبی بر شیگلا استفاده شد. در این کار از روش چاهک استفاده شد. محلول حاوی تانن خاصیت ضدمیکروبی قوی‌تری از نمونه فاقد تانن نشان داد. هاله عدم رشد ۲۱ میلی‌متر برای محلول باقیمانده و ۲۶ میلی‌متر برای محلول تانن‌دار بود. در کروماتوگرافی فراکسیون تغلیظ شده حاوی تانن و محلول باقی‌مانده با استفاده از سیستم حلال بوتانل ـ آب ـ اسید استیک (۶ : ۱/۵ : ۱)، دو لکه برای فراکسیون تغلیظ شده با ۰/۸۲ و R_f = ۰/۷۳ و یک لکه با R_f = ۰/۷۳ برای محلول باقی‌مانده قابل مشاهده بود. سپس آزمون بیواتوگرافی روی محلول باقی‌مانده و فراکسیون تانن‌دار انجام شد که در نتیجه آن یک هاله عدم رشد در منطقه

[1] MIC

Archive of SID
www.SID.ir

جدول شماره ۳ ـ نتایج آزمون حداقل غلظت مهاری عصاره تام *Geum kokanicum*

میکروارگانیسم / غلظت (mg/ml)	٤ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر	۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر	۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر	۰/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر	۰/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر	۰/۱۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر	۰/۰٦۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر	MIC میلی‌گرم بر میلی‌لیتر
استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس	–	–	–	–	–	–	+ +	۰/۱۲۵
استافیلوکوکوس اورئوس	–	–	–	+ +	+ +	+ +	+ +	۱
سویه ای از استرپتوکوک نوع A	–	–	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	۲
اشریشیاکلی	–	–	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	۲
باسیلوس سوبتیلیس	–	–	–	–	–	+ +	+ +	۰/۲۵
سالمونلا تیفی	–	–	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	۲
پسودوموناس آئروژینوزا	–	–	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	۲
سویه ای از شیگلا	–	–	–	–	–	+ +	+ +	۰/۲۵
سویه ای از کلبسیلا	–	–	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	۲

با R_f = ۰/۷۳ در هر دو محلول مشاهده شد که در مورد فراکسیون تانن‌دار قطر بزرگ‌تری داشت.

بحث

گیاهان جنس *Geum* دارای اثرات گسترده در طب سنتی کشورهای مختلف می‌باشند. گیاه *Geum japonicum* در طب سنتی چین و ژاپن به عنوان قابض و مدر کاربرد دارد [۹] و عصاره تام و فراکسیون تانن این گیاه دارای اثر ضدتجمعی پلاکتی می‌باشد [۸]. گیاه *Geum quellyon* در طب سنتی شیلی برای درمان التهاب، مشکلات پروستات، درد دندان و ... کاربرد دارد [۱۰]. مطالعات فیتوشیمیایی چندانی بر روی آن انجام نشده و تنها ترکیباتی از دسته تانن‌ها در آن شناسایی شده‌اند که این ترکیبات دارای اثرات ضدویروس [۱۱]، ضدباکتری [۱۲] و ضدسرطان [۱۳] می‌باشند.

براساس این مطالعه مشخص شد که عصاره تام این گیاه حاوی مقادیر زیاد تانن می‌باشد و خاصیت قابض بودن ریزوم گیاه به دلیل تانن فراوان آن است. نتایج ضدمیکروبی عصاره تام و فراکسیون‌ها روی استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیاکلی نشان داد که عصاره تام و فراکسیون‌های دی کلرومتان، متانل و آبی روی استافیلوکوکوس اورئوس اثر دارند. این نمونه‌ها روی اشریشیاکلی و فراکسیون اتردوپترول روی هیچ‌کدام از میکروب‌ها تاثیر ندارند.

فراکسیون متانلی روی استافیلوکوکوس اورئوس بزرگ‌ترین هاله عدم رشد و در نتیجه بیشترین اثر ضدمیکروبی را دارا می‌باشد. پس مراحل بعدی مطالعات ضدمیکروبی را با فراکسیون متانلی ادامه دادیم.

در مقایسه اثر ضدمیکروبی فراکسیون متانلی با آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد مشخص شد که این فراکسیون روی سویه شیگلا از بقیه موثرتر است.

به منظور جداسازی مواد موجود در فراکسیون متانلی، سیستم‌های حلال مختلف برای کروماتوگرافی امتحان شد و سیستم بوتانل ـ آب ـ اسیداستیک (٦: ۱/۵ : ۱) به عنوان بهترین سیستم حلال انتخاب شد.

با این سیستم حلال دو لکه با ۰/۹۱ و R_f = ۰/۷۳ مشاهده شد که با انجام آزمون بیواتوگرافی لکه با R_f = ۰/۷۳ دارای اثر ضدمیکروبی می‌باشد. نتایج آزمون MIC عصاره تام نشان داد که حساس‌ترین میکروب استافیلوکوکوس اپیدرمیس و بعد از آن سویه شیگلا و باسیلوس سوبتیلیس می‌باشد.

به منظور بررسی بیشتر فراکسیون فعال متانلی، این فراکسیون با روش رسوب دادن تانن‌ها با ژلاتین، به دو بخش فراکسیون سرشار از تانن و محلول باقی‌مانده تقسیم شد. در مقایسه اثر ضدمیکروبی فراکسیون تانن دار و محلول باقی‌مانده

Archive of SID
www.SID.ir

مشخص شد که هر دو موثر هستند و اثر فراکسیون تانن‌دار بیشتر است.

با مقایسه R_f لکه‌های مشاهده شده از دو محلول مذکور روی TLC، احتمال می‌رود علاوه بر تانن‌ها که مسؤول اثر ضدمیکروبی فراکسیون متانلی هستند، مواد دیگری هم اثر ضدمیکروبی داشته باشند که در محلول باقی‌مانده اثرات خود را اعمال می‌نمایند.

برای بررسی بیشتر این موضوع کروماتوگرافی با سیستم بوتانل ـ آب ـ اسید استیک (٦: ١/٥ : ١) روی فراکسیون متانلی، فراکسیون تانن‌دار و محلول باقی‌مانده انجام شد و مشخص شد یک لکه مشترک با R_f = ٠/٧٣ در هر سه وجود دارد که به دنبال آزمایش بیواتوگرافی روی فراکسیون تانن‌دار و محلول باقی‌مانده هاله عدم رشد در همین منطقه تشکیل شد که در مورد فراکسیون تانن‌دار بزرگ‌تر از محلول باقی‌مانده بود.

در نتیجه ماده اصلی مسؤول اثر ضدمیکروبی که در فراکسیون اولیه موجود بوده و در فراکسیون تانن کاملاً تغلیظ شده، دارای ساختمان مربوط به ترکیبات تانن می‌باشد و باقی‌مانده این مواد در محلول باقی‌مانده مسؤول اثرات ضدمیکروبی جزیی محلول می‌باشد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از همکاری آقای جمالی‌فر در آزمایشگاه میکروب‌شناسی دانشکده داروسازی تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

1. Zakaria M. Isolation and characterization of active compounds from medicinal plants. *Asia pacific J. Pharmacol.* 1991; 6 (1): 15 - 20.

2. Mitscher LA, Drake S, Golloapudi SR and Okwute SK. A modern look at folkloric use of anti – infective agents. *J. Nat. Prod*. 1987; 50: 1025 – 40.

3. Zargari A. Medicinal Plants. 6st ed. Tehran University Press. Iran. 1997, Vol. II, pp: 134 - 5.

4. Fariborz M, Samsamshariat H and Afsharipoor S. Plant Therapy. Mashal Press. Iran. 1987, pp: 136 - 7.

5. Abutorabi H. Ethnobotany and Phytochemical Studies of Rouin Region Plants. Pharm. D. dissertation No. 4247. Faculty Tehran University of Medical Sciences. 2001, pp: 134 - 5.

6. Monsef HR, Faramarzi MA, Moghimi M. and Shahverdi AR**.** Essential oil compositions of the roots, rhizomes and the aerial parts of *Geum kokanicum*. 35th International Symposium on Essential Oils. 2004, Messina, Italy.

7. L Panizzi S, Catalano C, Miarelli PLC and Campeol E. In vitro antimicrobial activity of extracts and isolated constituents of *Geum rivale*. *Phytother. Res*. 2000; 14: 561 – 3.

8. Hui D, Shao XC, Manjunatha KR and Hong X. Effect of tannins from *Geum japonicum* on the catalytic activity of thrombin and factor X_a of blood coagulation cascade. *J. Nat. Prod*. 1998; 61 (11): 1356 – 60.

9. Yoshida T, Okuda T, Memon MU and Shingu T. Tannins of rosaceous medicinal plants Part 2.Gemins A, B and C, new dimeric ellagitannins from *Geum japonicum*. *J. Chem. Sci.* 1985; 1: 315 – 21.

10. Munoz O, Montes M and Wilkomirsky T. Quimicay Farmacologia In: Maldonado S. *Plantas Medicinales de uso en Chile*. Editorial Universitaria, S.A. Santiago. Chile. 2004, pp: 129 – 32.

11. Nakashima H, Murakami T, Yamamoto N, Sakagami S, Tanuma SI, Hatano T, Yoshida T and Okuda T. Inhibition of human immunodeficiency viral replication by tannins and related compounds. *Antiviral Research*. 1992; 18: 91 – 103.

12. Chung KT, Lu Z and Chou MW. Mechanism of inhibition of tannic acid and related compounds on the growth of intestinal bacteria. *Food and Chem. Toxicol*. 1998; 36: 1053 – 60.

Archive of SID

www.SID.ir

13. Gali-Muhtasib HU, Younes IH, Karchesy JJ and Sabban ME. Plant tannins inhibit the induction of aberrant crypt foci and colonic tumors by 1, 2-dimethylhydrazine in mice. *Nutr. Can.* 2001; 39: 108 – 16.

Archive of SID

www.SID.ir