بررسی نیازهای اکولوژیکی، اتنوفارماکولوژیکی، ارزیابی فنل و فلاونوییدکل، آنتی‌اکسیدانی عصاره اندام‌های مختلف گیاه دارویی *Stachys inflata* Benth. و تهیه طیف فلورستیک گیاهان کوهستان چهارباغ (شمال ایران)

معصومه مازندرانی[1*]، امیر محمدی[2]

[1] گروه ریست‌شناسی، واحد گرگان، دانشگاه آزاد اسلامی، گرگان، ایران

[2] گروه ریست‌شناسی، واحد گرگان، دانشگاه آزاد اسلامی، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: ۹۳/۱۱/۵ ؛ تاریخ پذیرش: ۹٤/۲/۵

چکیده

گیاه سنبله‌ای بادکنکی (*Stachys inflata* Benth.) از مهمترین گونه‌های بومی نواحی کوهستانی شمال ایران است که در طب سنتی استان گلستان به‌عنوان ضد التهاب و ضدعفونی کننده استفاده می شود. این تحقیق با هدف بررسی اوت اکولوژی، اتنوفارماکولوژی، فیتوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی عصاره اندام‌های مختلف گیاه سنبله بادکنکی به همراه تهیه طیف فلورستیک گیاهان منطقه در کوهستان چهار باغ انجام گرفت. در عملیات صحرایی، ضمن تعیین رویشگاه طبیعی، مهمترین نیازهای اکولوژیکی و فنولوژی گیاه در منطقه ثبت گردید و همزمان طیف فلورستیک گونه‌های همراه منطقه به انضمام پراکنش جغرافیایی و اشکال زیستی با استفاده از روش‌های زوهری و راون کیه بدست آمد. به‌منظور بررسی فیتوشیمیایی، سرشاخه‌های گلدار گیاه در تیرماه و ریشه‌ها در آبان‌ماه ۱۳۹۲ از ارتفاع ۲۱۰۰ متر کوهستان چهارباغ جمع آوری و همزمان اطلاعات استفاده‌های سنتی گیاه (اتنوفارماکولوژی) از مردم محلی بدست آمد. استخراج عصاره اتانولی نمونه‌ها به روش پرکولاسیون، ارزیابی فیتوشیمیایی (فنول، فلاونویید و آنتوسیانین کل) با استفاده از روش‌های اسپکتروفتومتری و بررسی عملکرد آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها نیز با استفاده از تست DPPH ارزیابی و داده‌ها در سطح $P<0.05$ ارزیابی گردید. نتایج نشان داد سنبله بادکنکی گیاهی علفی چند ساله و ریزوم دار است که رویشگاه طبیعی آن در مراتع کوهستانی چهار باغ (۲۲۰۰متر) با اقلیم خشک و سرد، بارش سالانه ۲۷۵ میلی‌متر، متوسط درجه حرارت سالانه ۱۱/۵ درجه سانتی‌گراد و در خاک‌هایی با بافت شن، رس لومی، اسیدیته ۷/٦ و شوری ۰/٦ دسی زیمنس می‌روید. رشد رویشی گیاه در اوایل اردیبهشت، گلدهی در خرداد تا تیرماه و پراکنش میوه در فاصله شهریور تا آبان‌ماه انجام می گیرد. در این رویشگاه تعداد ٤۸ گونه گیاهی، متعلق به ٤۵ جنس و ۲۱ تیره شناسایی گردید که به‌ترتیب تیره‌های Asteraceae، Rosaceae و Fabaceae از بیشترین غنای گونه ای با غالبیت فرم‌های زیستی تروفیت (٤۲ درصد) و ژئوفیت (٤۰ درصد) متعلق به نواحی رویشی ایرانو-تورانی و مدیترانه‌ای بودند.محتوای فنل کل (۱۲۹/۹٦±۵/٦ mgGAE/g)، فلاونوئید کل (۲۹/٦۲±۱/٤ mgQUE/g) و آنتوسیانین کل (۰/۰۲۱±۰/۰۰۱µg/g) در عصاره سرشاخه‌های گیاه تقریباً ۱/۵ تا ۳ برابر عصاره ریشه بود. عصاره سرشاخه‌ها به دلیل کثرت مواد موثره ثانوی نسبت به ریشه از پتانسیل بیشتری در مهار رادیکال‌های آزاد با میزان $IC_{50=}$ ۷٦/۳±٤/۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر برخوردار بود. لذا نتایج بدست آمده در تایید مصارف سنتی آن به عنوان مقوی، مسکن، ضدالتهاب و ضدعفونی کننده در درمان روماتیسم، زخم و سوختگی و اسهال قابل بحث است.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان، آنتوسیانین، اتنوفارماکولوژی، اوت اکولوژی، سنبله‌ای بادکنکی *Stachys inflata* Benth.، فنل، فلاونویید کل، طیف فلورستیک، گلستان

*نویسنده مسئول: mazandarani.m@gorganiau.ac.ir

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

استفاده از گیاهان دارویی بومی که علاوه بر سازگاری‌های اکولوژیکی قادرند با سنتز مواد موثره ثانوی و فعال در بحث پیشگیری و درمان بیماری‌ها موثر واقع شوند، در سال‌های اخیر جایگاه ویژه‌ای در علم پزشکی یافته است (Mazandarani et al., 2015) از آنجایی که که تنوع پوشش گیاهی و کیفیت مواد موثره دارویی در گیاهان هر منطقه، متاثر از تنش‌های اکولوژیکی و حتی فنولوژی گونه‌های آن منطقه می‌باشد (Sindambiva et al., 1999; Yuan and lin, 2000)، لذا رویکرد جامعه جهانی بهداشت (WHO) به سمت شناسایی نیازهای اکولوژیکی گونه‌ها در رویشگاه‌های طبیعی، اتنوفارماکولوژی، استخراج مواد موثره و از همه مهمتر بررسی خواص آنتی اکسیدانی آنها با هدف احیا، کشت، استخراج مواد موثره طبیعی و تولید داروهای طبیعی و کم خطر می‌باشد (Aturi, 2004; Bodeker, 2000; Rechinger and Hedge, 1982). از آن جمله گیاه دارویی: سنبله بادکنکی (*Stachys inflate* Benth.) است که تاکنون درباره اوت اکولوژی، فنولوژی، اتنوفارماکولوژی، فیتوشیمی و آنتی اکسیدانی آن در استان گلستان پژوهشی انجام نشده است

گیاه سنبله‌ای بادکنکی (*Stachys inflata* Benth.) با نام‌های فارسی "پولک و گل ارغوان" از گونه‌های مشترک مدیترانه‌ای و ایرانو-تورانی محسوب می گردد که اغلب در مناطق گرم و خشک تا سرد و خشک نواحی کوهستانی دیده می‌شود (Akhani, 2004; Kartsev et al., 1994). در منابع طب سنتی ایران و جهان نیز اثرات درمانی متعددی را به گونه‌های مختلف جنس *Stachys* نسبت می‌دهند، از جمله اثرات خواب‌آور، آرام‌بخش، پایین آورنده فشار خون، التیام زخم، توقف خون‌ریزی، افزایش‌دهنده ترشحات صفراوی، ضدسرفه و گلودرد، عفونت‌های کلیه و مسکن (Mazandarani et al., 2012; Sharifzadeh et al., 2005)، همچنین در تحقیقات مختلف دیگر نیز به اثرات آنتی‌اکسیدانی، ضد باکتریایی، ضدالتهابی و ضدسرطانی آنها اشاره شده که اغلب به کمیت و کیفیت مواد موثره ترپنوییدی، فنولی و فلاونوییدهای موجود در اسانس و عصاره گونه‌های جنس *Stachys* اشاره شده است (Maleki et al., 2001; Skattsa et al., 1999; Sonboli et al.,2005; Norouzi et al., 2006; Santos et al., 2013).

از آنجایی که استان گلستان به‌دلیل برخورداری از شرایط متفاوت اکولوژیکی، رویشگاه‌های متنوعی از گیاه سنبله‌ای بادکنکی را در خود جای داده که از اهمیت بالقوه‌ای نیز در طب سنتی منطقه برخوردار است، بنابراین پژوهش حاضر با هدف بررسی اتنوفارماکولوژی، فیتوشیمیایی و آنتی اکسیدانی عصاره اندامهای مختلف گیاه سنبله‌ای بادکنکی جمع‌آوری شده از کوهستان چهارباغ (استان گلستان-ارتفاع ۲۱۰۰ متر) انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

تهیه نمونه، اتنوفارماکولوژی، نیازهای اکولوژی، فنولوژی و تهیه لیست فلورستیک گونه‌ها: در این تحقیق طی بازدیدهای مختلف صحرایی، رویشگاه طبیعی و نیازهای اکولوژیکی گیاه سنبله بادکنکی در منطقه شناسایی و ثبت گردید، همزمان با حضور در روستای کوهستانی چهار باغ و با مصاحبه چهره به چهره تلاش شد که مهمترین اطلاعات سنتی (اتنوفارماکولوژی) در مورد نام محلی گونه‌ها، اندامهای مصرفی و طرق مصرف آن گیاهان از مردم محلی روستای چهار باغ واقع در ۷۵ کیلومتری جنوب شرق گرگان جمع‌آوری و ثبت گردد. پس از نمونه برداری خاک رویشگاه، به جهت بررسی فنولوژیکی تعداد ۱۰ پایه از گیاه سنبله بادکنکی، به‌طور تصادفی

Archive of SID

www.SID.ir

که از نظر ریجتی و رویشی شرایط نسبتاً یکسانی داشتند انتخاب و علامت گذاری گردید و تقریبا هر ماه به‌طور متناوب مورد بازدید و تاریخ وقوع پدیده‌های حیاتی گیاه تا مرحله خشک شدن آن در طبیعت ثبت گردید. به‌منظور تهیه طیف فلورستیک، مهمترین گونه‌های همراه سنبله بادکنکی از رویشگاه مورد مطالعه جمع‌آوری و شناسایی گردیدند که شکل زیستی آنها با استفاده از روش Raunkiaer تعیین گردید. پراکنش گونه‌های گیاهی منطقه نیز با استفاده از فلورهای مذکور تعیین و سپس پراکنش جغرافیایی گونه‌ها بر اساس تقسیم بندی نواحی رویشی توسط Zohary و Thakhtajan و Leonard تعیین گردید. سرشاخه‌های گلدار و ریشه گیاه سنبله‌ای بادکنکی در تیرماه و آبانماه ۱۳۹۲ از ارتفاع ۲۱۰۰ متری کوهستان جمع‌آوری و سپس نام علمی گونه سنبله بادکنکی (*Stachys inflata* Benth.) با کد هرباریومی ۵۲٤۰ در مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان شناسایی، ثبت و بقیه نمونه‌های برداشت شده در محیط آزمایشگاه خشک و برای انجام عملیات عصاره‌گیری پودر گردید.

تهیه و آماده‌سازی عصاره اتانولی: مقدار ۵۰ گرم از هر نمونه (بخش هوایی و ریشه) توزین شده و هر کدام در ۱۰۰۰ میلی لیتر اتانول ۷۰ درصد خیسانده شده و به‌مدت ۲٤ ساعت بر روی دستگاه شیکر با دور ۲۵۰ قرار داده شد. پس از طی شدن زمان مورد نظر، عصاره‌ها صاف شد. سپس حلال در دمای کمتر از ۵۰ درجه سانتی گراد توسط دستگاه تبخیر در خلاء (روتاری) تبخیر و عصاره خشک به دست آمد. ظرف محتوی نمونه‌ها را تا شروع آزمایشات با فویل آلومینیومی پوشانده و در یخچال با دمای ٤ درجه سانتی‌گراد نگهداری می کنیم (Pourmorad et al., 2006).

سنجش محتوای آنتوسیانین کل: برای اندازه‌گیری آنتوسیانین مقدار ۱ گرم از نمونه‌های بخش هوایی و ریشه را با ۱۰ میلی لیتر اتانول اسیدی ساییده و عصاره برای مدت ۲٤ ساعت در تاریکی در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از این به‌مدت ۱۰ دقیقه در دور g ٤۰۰۰ عصاره را سانترفیوژ نموده و جذب محلول رویی با استفاده از اسپکتروفتومتر (مدل Heidolph Instruments GmbH & Co.KG 91126 Schwabach.Walpersdorfer Str.12) ساخت آلمان، در طول موج ۵۲۰ نانومتر خوانده شد. مقدار آنتوسیانین با استفاده از فرمول $A=\varepsilon bc$ به دست می‌آید که در آن مقدار ε یا ضریب خاموشی معادل $۳۳۰۰ mMm^{-1}$، A مقدار جذب، b عرض کووت، اندازه‌گیری برابر ۱ سانتی‌متر و c مقدار آنتوسیانین بر حسب مول بر گرم وزن تر گیاه می باشد. در نهایت میزان آنتوسیانین بر حسب میکرومول در گرم وزن تر بیان می‌گردد (Wagner, 1979).

سنجش محتوای فنل کل: برای اندازه گیری محتوای فنول کل به ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره‌های بخش هوایی و ریشه گیاه، ۲ میلی‌لیتر کربنات سدیم (۲ درصد)، ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر و ۱۰۰ میکرولیتر معرف فولین سیوکالتو (Folin–Ciocalteu's) ۵۰ درصد اضافه شد. پس از گذشت ۳۰ دقیقه جذب آنها در طول موج ۷۲۰ نانومتر نسبت به شاهد و با سه بار تکرار ثبت گردید. شاهد حاوی تمام ترکیبات فوق بود، اما به جای عصاره، همان حجم اتانول ۷۰ درصد به آن اضافه گردید. از گالیک اسید به‌عنوان استاندارد و با غلظت‌های مختلف (۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰) برای رسم منحنی استاندارد استفاده شد. محتوای فنل کل عصاره‌ها بر اساس میلی گرم معادل گالیک اسید بر گرم وزن خشک گیاه گزارش شد (Meda et al., 2005).

Archive of SID

www.SID.ir

سنجش محتوای فلاونوئید کل: برای سنجش میزان فلاونوئید کل به ۵۰۰ میکرولیتر از عصاره‌های بخش هوایی و ریشه گیاه، ۱/۵ میلی‌لیتر اتانول ۷۰ درصد، ۱۰۰ میکرولیتر محلول آلومینیوم کلرید (۱۰درصد)، ۱۰۰ میکرولیتر محلول استات پتاسیم ۱ مولار و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد. جذب مخلوط پس از گذشت ٤۰ دقیقه در طول موج ٤۱۵ نانومتر نسبت به شاهد اندازه گیری شد. شاهد حاوی تمام ترکیبات یاد شده در بالا بود، اما به جای عصاره، همان حجم اتانول ۷۰ درصد به آن اضافه شده بود. برای رسم منحنی استاندارد از کوئرستین و با غلظت‌های مختلف (۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰) استفاده شد. میزان فلاونوئید کل عصاره‌ها بر اساس میلی گرم معادل کوئرستین بر گرم وزن خشک گیاه، گزارش شد (Chang et al., 2002).

سنجش عملکرد آنتی اکسیدانی به روش DPPH (رادیکال ۲و۲-دی فنیل پیکریل هیدرازیل): توانایی ترکیب با هیدروژن یا الکترون دهندگی عصاره‌ها به وسیله توانایی بی رنگ کردن محلول اتانولی DPPH که به رنگ صورتی بود، انجام شد. در این اندازه گیری که براساس اسپکتروفتومتری انجام شد از رادیکال ۲و۲-دی فنیل پیکریل هیدرازیل به عنوان معرف استفاده شد (Brand et al., 1995). ۰/۰۱ گرم از عصاره‌های خشک بخش هوایی و ریشه گیاه را با اتانول به حجم ۱۰۰ میلی لیتر رسانده شد و از روی آن غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر هر کدام در ۳ تکرار آماده شد.

۵۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف نمونه‌های اتانولی به ۵ میلی لیتر محلول اتانولی ۰/۰۰٤ درصد DPPH افزوده شد. پس از ۳۰ دقیقه قرار گرفتن در دمای آزمایشگاه، جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر در مقایسه با شاهد خوانده شد. درصد مهار رادیکال آزاد DPPH به طریق ذیل محاسبه گردید:

$$I\% = (A_{blank} - A_{sample} / A_{blank}) \times 100$$

A_{blank} عبارت است از جذب بلانک واکنش کنترل (حاوی تمام مواد به جز ترکیبات مورد آزمایش) و A_{sample}جذب نمونه مورد آزمایش می‌باشد. غلظتی از عصاره که باعث مهار ۵۰ درصد شود (IC_{50}) بر اساس نموداری که درصد مهار در مقابل غلظت عصاره نشان می‌دهد، محاسبه می‌گردد. این آزمایش برای هر نمونه سه بار تکرار گردید (Miliauskas et al., 2004).

تجزیه و تحلیل آماری

آنالیز آماری داده‌ها تحت ANOVA و توسط نرم‌افزار SPSS (نسخه ۲۱) انجام شد و مقایسه میانگین داده‌ها توسط آزمون دانکن و با ضریب اطمینان ۹۹ درصد ($P<0/01$) صورت پذیرفت. نمودارها به وسیله نرم‌افزار اکسل (نسخه ۲۰۰۷) رسم شد. نتایج به صورت میانگین± انحراف معیار (SD) بیان شد.

نتایج

نتایج نشان داد سنبله بادکنکی گیاهی علفی چند ساله و ریزوم دار متعلق به تیره نعنا ست که رویشگاه طبیعی آن در مراتع کوهستانی چهار باغ (۲۲۰۰ متر) در فاصله ۷۵ کیلومتری کوه‌های جنوب شهرستان گرگان واقع گردیده، دارای اقلیم خشک و سرد، بارش سالانه ۲۷۵ میلی‌متر، متوسط درجه حرارت سالانه ۱۱/۵ درجه سانتی‌گراد و در خاک‌هایی با بافت شن، رس لومی با اسیدیته ۷/٦ و شوری ۰/٦ دسی زیمنس می‌روید رویش گیاه در اوایل اردیبهشت، گلدهی در خرداد تا تیرماه و پراکنش میوه در فاصله شهریور تا آبانماه انجام می‌گیرد. در این رویشگاه تعداد ٤۸ گونه گیاهی، متعلق به ٤۵ جنس و ۲۱ تیره شناسایی گردید که به‌ترتیب تیره‌های Asteraceae، Rosaceae و Fabaceae از بیشترین غنای گونه‌ای که بیشتر متعلق

Archive of SID

www.SID.ir

به فرم‌های زیستی تروفیت (۴۲ درصد) و ژئوفیت (۴۰ درصد)، متعلق به نواحی رویشی ایرانو-تورانی و مدیترانه‌ای است (جدول ۱).

یافته‌های اتنوفارماکولوژی گیاه نیز در منطقه نشان داد که از دمکرده ریشه گیاه سنبله بادکنکی با گیاه پونه (*Mentha longifolia* L.) در التیام زخم و عفونت‌های قارچی انگشتان و ناخن، از جوشانده سرشاخه‌های گلدار گیاه مخلوط با گیاه ویسک (*Perovskia abrotanoides*) و درمنه (*Artemisia sieberi*) به‌عنوان ضد التهاب و مسکن در تسکین دردهای روماتیسمی و مفاصل، از دمکرده سرشاخه‌های گیاه به همراه سیاه دانه و زرشک در درمان فشار خون و عفونت سینوزیت استفاده می شود. نتایج بررسی‌های آزمایشگاهی نیزنشان داد که میزان فنل، فلاونوئید و آنتوسیانین کل (جدول ۲ و شکل‌های ۱ و ۲) در بخش هوایی گلدار و ریشه تفاوت معنی‌داری داشته و در تمام تکرارها، مقادیر مربوط به بخش هوایی وگلدار گیاه بیشتر از ریشه بوده است. به‌طوری‌که میزان فنل کل در بخش هوایی گلدار تقریباً ۱/۵ برابر ریشه و میزان فلاونوئید کل آن تقریباً ۱/۷ برابر ریشه و میزان آنتوسیانین کل آن تقریباً ۳ برابر ریشه است.در سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH (جدول ۲ و شکل ۱) میزان IC_{50} سنجش شده در بخش هوایی گلدار بیشتر از ریشه بود.

جدول ۱: معرفی لیست فلورستیک به همراه فرم‌های زیستی، رویشی و عرصه‌های جغرافیایی گونه‌های موجود در زیستگاه طبیعی گیاه سنبله بادکنکی.

تیره	تعداد	نام علمی گیاه	فرم رویشی	نام فارسی	فرم زیستی	کوروتیپ
Amaranthaceae	۱	*Amaranthus sp* L.*	Th	تاج خروس، زلف عروسان، باروتک	A	M,IT
Asteraceae	۸	*Achillea millefolium**	Ge	بومادران	P	M , IT
		Acroptylon repense L.*	Th	تلخه گیجه	A	IT
		Carduus crispus L.*	Th	تاتاری	A	M,IT
		Centurea iberica L.*	Th	گل گندم چمن زار، قنطوریون	A	M,IT
		Cichorium intybus L.*	Ge	کاسنی	P	M, IT
		Tanacetum parthenium (L.)Schults.*	Ge	پیرتر، بابونه گاوی، مخلصه	P	Es, M
		Taraxacum officinalis L.	Hem	گل قاصد دارویی	P	M , IT
		Tussilago farfara L.	Ge	پای خر	P	IT
Boraginaceae	۱	*Myosotis scorpiodes* L.	Th	فراموشم مکن	A	Es
Brassicaceae	۲	*Cardaria draba* L.*	Th	اُزمک	A	Es,M,IT
		Descuraina sophia L.(Schur.)*	Th	خاکشیر ایرانی	A	M,IT
Campanulaceae	۱	*Campanula trachelium* L.	Th	گل استکانی شابیلی	A	M , IT
Caprifoliceae	۱	*Sambucus ebulus* L.*	Ge	آقطی، شوند، پلم	P	Es,M,IT
Convolvulacae	۳	*Calystegia* L.*	Th	پیچک جنگلی	A	Es
		Convolvulus arvensis L.*	Ge	پیچک صحرایی،پیچک	P	Es,M,IT
		Cuscuta epithymum (L.)L.(Murr.)*	Th	سس شبدری، سس آویشنی	A	Es , M , IT
Corylaceae	۱	*Carpinus betulus* L.	Ph	ممرز، آساف، فاغ، کارزول	P	ES, M
Cupresaceae	۲	*Juniperus communis* L.*	Ph	پیرو، اَربس	P	IT
		Juniperus Sabina L.*	Ph	مای مرز، ابهل	P	IT

Archive of SID

www.SID.ir

Euphorbiaceae	۱	*Euphorbia paralias* L.*	Th	فرفیون	A	Es, M
Fabaceae		*Coronilla varia* L.*	Ge	یونجه باغی، یونجه تاجی	P	M, IT
	۵	*Lotus corniculatus* L.*	Th	آهومـاش زرد،یونجـه زرد،یونجـه پاکلاغی	A	M,IT
		Medicago sativa L.*	Th	یونجه	A	M,IT
		*Trifolium repense**	Th	شبدرسفید، شبدرخزنده	A	Es, M
		Trifolium scabrum L.*	Th	شبدر زبر	A	M
Hypericaceae	۱	*Hypericum perforatum* L.*	Ge	علف چای	P	Es , M , IT
Lamiaceae	٤	*Marrubium vulgare* L.*	Ge	فراسیون	P	M , IT
		Mentha longifolia (L.)Hud.*	Ge	پونه	P	Es, M
		Salvia pratensis L.*	Th	مریم گلی	A	Es, M
		Stachys byzantina L.*	Ge	زبان بره، سنبله ای نقره ای	P	M, IT
Malvaceae	۱	*Malva neglecta* L.*	Th	پنیرک معمولی	A	Es,M
Orobanchaceae	۱	*Orobanche purpurea* Jacb.*	Ge	گل جالیز ارغوانی	P	M,IT
Plantaginaceae	۱	*Plantago major* L.*	Hem	بارهنگ	B	Es, M
Poaceae	٤	*Bromus tectorum* L.	Th	علف بام، جاروعلفی بامی	A	IT
		Cynodon dactylon L.*	Ge	مَرغ	P	Es, M
		Dactylis glomerata L.	Th	علف باغ	A	IT
		Stipa arabica L.	Th	استپی،چمن پری،چمن سوزنی	A	IT
Polygonaceae	۲	*Polygonum aviculare* L.*	Ge	علف هفت بند	P	Es, M
		Rumex crispus L.*	Ge	ترشک مواج	P	Es, M
Rosaceae	٦	*Agrimonia eupatoria* L.*	Hem	غافث	B	M
		Fragaria vesca L.*	Ge	توت فرنگی	P	Es,M
		Potentila erecta L.*	Ph	پنجه برگ ایستاده	P	Es,M
		Potentila reptanse (L.)*	Ge	پنجه برگ	P	M,IT
		Rosa galica L.*	Ph	رُز وحشی، نسترن وحشی	P	Es
		Sanguisorba minor L.*	Ge	توت روباهی	P	M , IT
Scrophulariaceae	۱	*Verbascum Thapsus**	Hem	گل ماهور اروپایی،خرگوشک	B	IT
Urticaceae	۱	*Urtica dioica* L.*	Ge	گزنه دو پایه	P	Es, M,IT

Ge، ژئوفیت؛ Th، تروفیت؛ Hem، همی کریپتوفیت؛ Ch، کامفیت؛ Ph، فانروفیت؛ A، یکساله؛ B،دوساله؛ P،چندساله ؛ Es، اروپا-سیبری؛M، مدیترانه‌ای؛ IT، ایرانو-تورانی؛ *: گیاه دارای خواص دارویی.

رویشگاه تعداد ٤۳ گونه از طیف فلورستیک گونه‌های منطقه، خاصیت دارویی داشتند که بیشتر در سبد غذایی و دارویی مردم روستا و درمانگران محلی به عنوان دارو استفاده می‌شدند که به‌طور خلاصه در جدول ۲ نام آن گیاهان به همراه استفاده‌های دارویی آن‌ها ذکر شده است.

با توجه به اشکال زیستی مندرج در جدول ۱، فرم‌های تروفیت (٤۲ درصد) و ژئوفیت (٤۰ درصد) فرم‌های زیستی غالب رویشگاه بودند و احتمالاً حاکی از آن است که در ارتفاع بالا، دمای هوای پایین و شدت اختلاف دمای روز و شب باعث غالب بودن فرم‌های زیستی تروفیت و ژئوفیت نسبت به فرم‌های رویشی دیگر در این رویشگاه شده است. در این

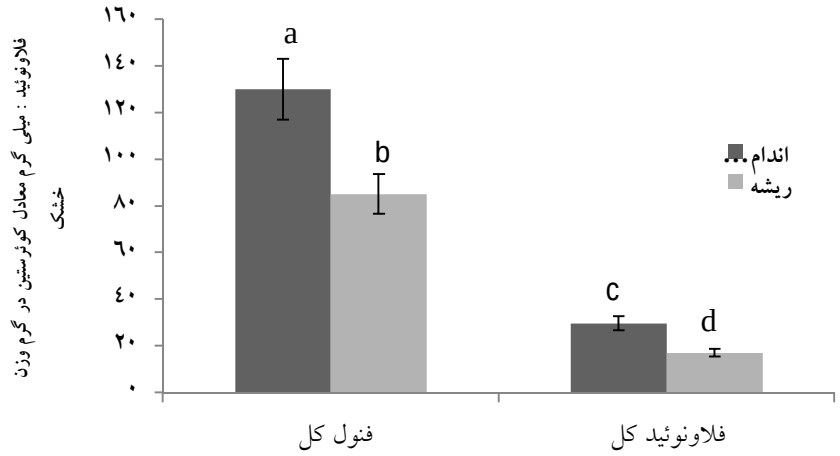
Archive of SID

www.SID.ir

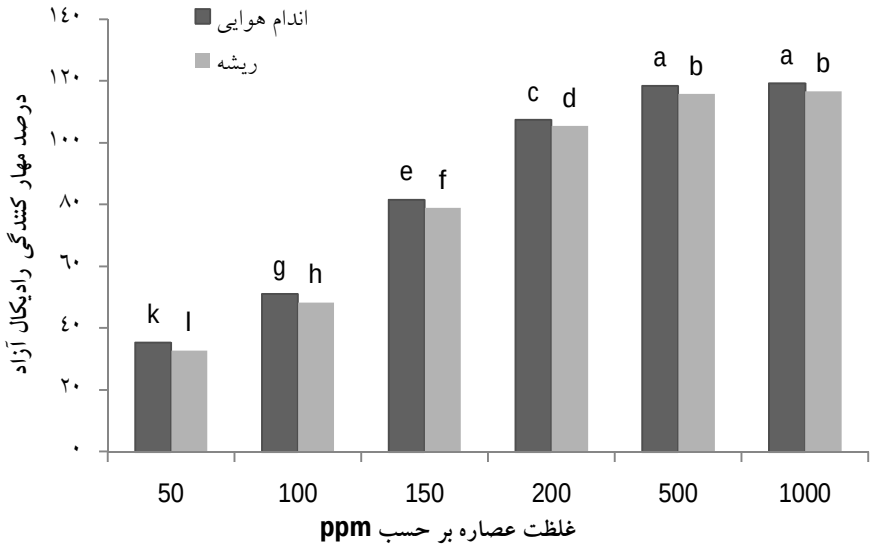
جدول ۲ : مقایسه محتوای فیتوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی اندام‌های هوایی گلدار و ریشه گیاه مورد مطالعه

تست	فنول کل (mg GAE g^{-1} DW)	فلاونوئید کل (mg QUE g^{-1} DW)	آنتوسیانین کل (µm g^{-1} WW)	IC_{50} (µg/ml)
اندام هوایی	۱۲۹/۹٦±٥/٦	۲۹/٦۲±۱/٤	۰/۰۲۱±۰/۰۰۱	۷٦/۳۳±٤/۲
ریشه	۸٤/۹۹±۲/۳	۱۷/۰٥±۰/۹	۰/۰۰۷±۰/۰۰۰۳	۱۰۰/۰۳±٥/۸

ارائه نتایج به‌صورت میانگین ± انحراف معیار (۳ تکرار).



شکل ۱: مقایسه میزان فنول و فلاونوئید کل در بخش هوایی گلدار و ریشه



شکل ۲: مقایسه درصد مهار رادیکال آزاد DPPH در غلظت‌های مختلف عصاره اندام‌های مورد مطالعه

بحث

در این تحقیق در بررسی لیست فلورستیک گونه‌ها (جدول ۱)، تعداد ٤۸ گونه گیاهی دارویی در رویشگاه گیاه سنبله بادکنکی شناسایی گردید و می‌توان گفت که منطقه مورد مطالعه از تنوع گونه‌ای بسیار خوبی برخوردار است.تیره‌های Asteraceae (۱٦/۳ درصد)، (۱۲/۲ درصد) Rosaceae (۱۰/۲ درصد) Lamiaceae، (۱۰/۲) Fabaceae،

www.SID.ir

درصد)، Poaceae (۹ درصد) و Bracicaceae (٤ درصد) بیشترین تعداد گونه‌ها را به خود اختصاص داده و همچنین فرم‌های بیولوژیکی غالب شامل تروفیت (٤۲ درصد) و ژئوفیت (٤۰ درصد) که بیشتر متعلق به عرصه‌های اکولوژیکی ایرانو-تورانی و مدیترانه ای گزارش گردید. طبق نظر آرچی بولد (Archibold, 1995) فراوانی گیاهان ژئوفیت و همی کریپتوفیت در یک منطقه نشان دهنده اقلیم سرد و کوهستانی است که نتایج بررسی اقلیمی در این تحقیق نشان می دهد که کوهستان چهار باغ با اقلیم سرد و مرطوب سبب فراوانی فرم‌های زیستی ژئوفیت و همی کریپتوفیت شده است.

مازندرانی و همکاران (Mazandarani et al., 2013) نیز در بررسی فلورستیک مراتع ییلاقی چهار باغ و دراز نو از فرم‌های زیستی ژئوفیت و همی کریپتوفیت به عنوان اشکال زیستی غالب در مناطق کوهستانی جنوب استان گلستان گزارش نمودند (Mazandarani et al., 2012).

بررسی عرصه‌های جغرافیایی گونه‌ها نشان می‌دهد که بیشترین فراوانی مربوط به ناحیه ایران-تورانی است که مطابق نظر گویل و سینگ (Govil and Singh, 2010) در بیشتر نواحی کوهستانی سرد و مرطوب (۲۰۰۰-۲۵۰۰ متر) گونه‌ها بیشتر متعلق به عرصه‌های ایران-تورانی می‌باشند، لذا غلبه گونه‌های انحصاری ناحیه رویشی ایرانو-تورانی بیانگر افزایش سریع دامنه‌های ارتفاعی منطقه است (Zohary, 1973).

در حال حاضر با توجه به تاثیر تنش‌های اکولوژیکی در تنوع گونه‌ای پوشش‌های گیاهی مناطق و از طرفی نقش آن عوامل در تغییرات کمی و کیفی مواد موثره دارویی، لزوم انجام تحقیقات بنیادی به‌منظور معرفی نیازهای اکولوژیکی و فیتوشیمیایی آن گیاهان را در مستندسازی علمی اطلاعات سنتی، بیش از پیش ضروری می‌سازد که بسیار مورد توجه پژوهشگران و مسئولان سازمان جهانی بهداشت قرار گرفته است (Mazandarani et al., 2012).

بر طبق نظر جم زاد (Jamzad, 2012) گونه‌های مختلف جنس *Stachys* دارای ۳٤ گونه علفی چند ساله دارای پراکندگی جغرافیایی وسیعی در نواحی کوهستانی کشور می‌باشند و به مقدار زیاد تحت تأثیر شرایط رویشگاهی می‌باشند (Jamzad, 2012; Mozaffarian, 1996). از جمله آن گونه‌ها می‌توان به گیاه دارویی سنبله‌ای بادکنکی اشاره کرد که در طب سنتی از آن با اثر ضد التهابی، ضدمیکروبی و مسکن یاد می برند (Gevaidui et al., 2003; Grujic et al., 2004) و در بررسی‌های مختلف نیز گزارش شده که توانایی این گیاه در تولید ترکیب‌های فعال ثانوی (پلی‌فنولی، فلاونوئیدی، تانن و ترپنوئیدها) است که در طب سنتی به صورت منفرد یا ترکیبی با سایر گیاهان بومی در کنترل و درمان بیماری‌های التهابی، به‌عنوان ضدعفونی‌کننده، مسکن دردهای روماتیسمی، فشار خون و قلبی- عروقی موثر واقع شود (Aroudi et al., 2011; crozier et al., 2006; Fraga, 2010).

همان‌طور که نتایج این تحقیق نشان داد (جدول ۲ و شکل‌های ۲،۱) سرشاخه‌های هوایی گیاه سنبله ای بادکنکی به علت کثرت سنتز متابولیتهای فنلی و فلاونوییدی نسبت به اندام ریشه از بیشترین عملکرد آنتی اکسیدانی برخوردار بود. ابراهیم آبادی و همکاران (Ebrahimabadi et al., 2013) گزارش کردند که ترپنوییدهای: لینالول (۲۸/۵ درصد)، آلفا-ترپینئول (۹/٤۵ درصد)، اسپاتونلول (۸/۳ درصد) از مهمترین ترکیبات موثره اسانس گیاه سنبله بادکنکی است که با میزان مهار رادیکال‌های آزاد (IC50 = 19.72 µg/ml) دارای اثر آنتی‌اکسیدانی است (Ebrahimabadi et al., 2010; Matkowski and piotrowska, 2006; Norouzi et al., 2006; Sajjadi

Archive of SID

www.SID.ir

and somae, 2004) و این موضوع در تایید یافته‌های اتنوفارماکولوژیکی این تحقیق که در طب سنتی منطقه فقط از سرشاخه‌های گیاه استفاده می‌کنند، قابل بحث است.

امروزه مشخص شده که پلی‌فنلها و فلاونوئیدها در گیاهان دارویی خودرو (از جمله گونه‌های مختلف جنس *Stachys*)، به‌دلیل فعالیت جاروب کنندگی یا کلاته کردن در حذف رادیکال آزاد دارای اثر آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی ویژه، از اهمیت خاصی در امر تغذیه و سلامت انسان بر خوردارند (Hashemi et al., 2011; Ebrahimabadi et al., 2010; Vundac et al., 2007; Klaunig and Kamendulis, 2004). در تایید یافته‌های این تحقیق، برخی از محققان نیز گزارش کردند که یک رابطه مستقیم میان فعالیت آنتی‌اکسیدانی و محتوای فنل و فلاونویید کل در عصاره گیاهان دارویی وجود دارد. بنا به گزارش استاد و همکاران در سال ۲۰۱٤، پلی‌فنلها، فلاونوییدها و ترپنوییدهای موجود در اغلب گونه‌های جنس *Stachys* دارای اثر آنتی اکسیدانی ویژه و سیتوتوکسیک در جلوگیری از رشد سلولهای سرطانی با میزان IC50<100 µg/lit داشتند (Ostad et al., 2014; Morteza-Semnani et al., 2006b; Matkowski and piotrowska, 2006).

در بسیاری از تحقیقات، از ترپنوییدها و پلی‌فنل‌های عصاره‌های آبی و اتانولی گونه‌های *Stachys* به‌عنوان ضدالتهاب (Khanavi et al., 2004; Kukik et al., 2006;; Sharifzadeh et al., 2005;، ضداضطراب (Rabbani et al., 2003)، ضد باکتری و ضدعفونی کننده (Sonboli et al., 2005)، ضدسرطان (Amirghofran et al., 2007)، ضدهلیکوباکتر (Grujic et al., 2004) و آنتی‌اکسیدان (Aydin et al., 2006; Kukik et al., 2006; Matkowski and Piotrowska, 2006) است و این نتایج در تایید استفاده‌های سنتی این گیاه در درمان زخم‌های پوستی، زخم معده، شکم درد، تب بر و شد اسپاسم است.

محققین گزارش دادند که فلاونوئیدهای آپی‌ژنین، لوتئولین، هسپریدین و ترکیب فنولی اسید رزمارینیک موجود در عصاره متانولی و ترپنوییدهای سابینن، اسپاتونلول و ژرماکرن-دی موجود در گونه‌های مختلف جنس *Stachys* از جمله: (*S. cretica* L.) و (*S. cretica* subsp. *smyrnaea* Rech. fil.) از خاصیت بسیار بالای ضدمیکروبی مخصوصا علیه مایکوباکتریوم برخوردارند که این موضوع در تایید اثرات ضد میکروبی این گیاه در منطقه مورد مطالعه قابل بحث است (Sonboli et al., 2005). آنتوسیانین‌ها نیز از مهمترین ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی آنتی اکسیدان هستند که در شواهد آزمایشگاهی و بالینی از آن‌ها به عنوان ضدسرطان، ضد التهاب و ضد عفونی کننده در پیشگیری و درمان بیماریهای قلبی- عروقی، عصبی، دیابت‌ها و فشار خون نام برده می شود (Khanavi et al., 2009; Maharik et al., 2009).

نتایج بدست آمده در شکل ۲ مشخص می‌سازد که عصاره سرشاخه‌های هوایی گیاه سنبله‌ای بادکنکی نسبت به عصاره ریشه از قدرت مهاری بیشتری در بلوکه کردن رادیکال‌های آزاد DPPH برخوردار است و با افزایش غلظت عصاره از ۵۰ تا ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر میزان فعالیت آنتی اکسیدانی افزایش یافت، پیرو بررسیهای به عمل آمده، احتمالاً این روند صعودی به دلیل آن است که در غلظت‌های بالاتر عصاره، ترکیب‌های فنلی و تعداد گروه‌های هیدروکسیل موجود در محیط واکنش افزایش می‌یابد و احتمال اهدای هیدروژن به رادیکال‌های آزاد و به دنبال آن قدرت مهارکنندگی عصاره نیز افزایش خواهد یافت، یعنی یک رابطه مستقیم میان مواد موثره و عملکرد آنتی اکسیدانی عصاره گیاهان وجود دارد

Archive of SID

www.SID.ir

Motallebi et al., 2005; Santos et al., 2013;)
.(Ostad et al., 2014;

نتیجه‌گیری نهایی

فراوانی گیاهان تیره Asteraceae و فرم‌های زیستی تروفیت در منطقه بیشتر بدلیل تخریب پوشش گیاهی، جاده سازی و چرای بی رویه دام می باشد، همچنین حضور عناصر رویشی ایرانو- تورانی و درصد بالای همی کریپتوفیت‌ها نیز دلیل بر سازگاری بیشتر این گیاهان در منطقه است. همان‌طور که نتایج این تحقیق نشان داد عصاره سرشاخه‌های هوایی گیاه سنبله ای بادکنکی به‌علت کثرت سنتز متابولیت‌های فنلی و فلاونوییدی نسبت به اندام ریشه از بیشترین عملکرد آنتی‌اکسیدانی برخوردار بود و یک رابطه مثبت و معنی‌دار میان مواد موثره و اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاه وجود دارد و این موضوع در تایید و مستند سازی علمی یافته‌های اتنوفارماکولوژیکی این تحقیق که فقط از سرشاخه‌های گیاه در طب سنتی منطقه به عنوان ضد التهاب، ضد عفونی کننده و مسکن استفاده می‌کنند، قابل بحث است. لذا با توجه به اهمیت اکوسیستم منطقه، امید است کوشش‌های جدی تری در جهت حفظ این سرمایه ملی انجام گیرد.

سپاسگزاری

شایسته است که بدین وسیله مراتب سپاسگزاری خود را از کارشناسان محترم آزمایشگاه‌های فیتوشیمیایی و آنالیز مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان (آقایان صدیقی و مهندس آینه) ابراز داریم.

References

1. Akhani, H. 2004. Illustrated Flora of Golestan National Park.Tehran: Tehran University Institute of Publishing and Printing, First Edition, Vol. I, pp. 52-51.
2. Amirghofran, Z., Bahmani, M., Azadmehr, A., and Javidnia, K. 2007. Immunomodulatory and apoptotic effects of *Stachys obtusicrena* on proliferative lymphocytes. Med. Sci. Monit, 13: 145-150.
3. Aydin, A., Sener, B., Cakici, I., Turan, NN., and Erdemoglu, N. 2006. Antioxidant activities of some Lamiaceae plant extracts. Phytother. Res, 20: 91- 93.
4. Archibold, OW. 1995. Ecology of world vegetation. Chapman and Hall Inc., London.509p.
5. Aroudi, M., Ghorbanli, M., and Ahmadi-Golsefidi, M. 2011. Phytochemical investigation of the aerial parts of *Stachys byzantina* C. Koch. In the north of Iran (Chahar-Bagh Mountain).Journal of Plant Science, Serial 22- (2): 49-40.
6. Bodeker, G. 2000. Traditional health system: valuing biodiversity for human health and well being. In Cultural and Spiritual Values in Biodiversity, (ed.) D.A. Posey, pp. 261–284. Nairobi: Practical Action.
7. Brand-Williams, W., Cuvelier, M., and Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT - Food Sci. Technol, 28: 25 - 30.
8. Chang, C., Yang, M., Wen, H. and Chern, J. 2002. Estimation of total flavonoid content in prosopis by two complementary colorimetric methods. Journal of Food and Drug Analysis 10: 178-182.
9. Crozier, A., Clifford, M., Shihara, H. 2006. Plant secondary metabolites. Blackwell Publisher Ltd, USA, 383p.
10. Ebrahimabadi, A.H., Djafari-Bidgoli, Z., Kashi, F J., Mazoochi, A., and Batooli, H. 2010. Composition and antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and extracts of *Stachys inflata* Benth. From Iran. Food Chemistry, 119: 452-458.
11. Fraga, C.G. 2010.Plant phenolics and human health. Published by John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey. Published simultaneously, Canada.
12. Govil, J.N. and Singh, V.K. 2010 .Recent progress in medicinal plants. Vol. 1. Studium Press. Texas.

Archive of SID
www.SID.ir

13. Grujic-Jovanovic, S., Skaltsa, HD., Marin, P., and Sokovic, M. 2004. Composition and antibacterial activity of the essential oil of six *Stachys* species from Serbia. Flavour Frag, 19: 139-144.
14. Hashemi Sohia, Eghdami, A., and Sadeghi, F. 2011. Antioxidant activity and High performance liquid chromatography analyzation of methanolic and aqueous extract of *Stachys Inflata*. Org.Chem, 1: 36-43.
15. Jamzad, Z. 2012. Flora of Iran, no. 76: Lamiaceae. Research Institute of Forests and Rangelands Publication, Tehran.
16. Kartsev, V., Stepanichenko, NN., and Auelbekov, SA. 1994. Chemical composition and pharmacological properties of plant of the genus *Stachys*. Chem. of Nature. Compounds, 30: 645-54.
17. Khanavi, M., Hadjiakhoondi, A., Amin, G., Amanzadeh, Y., Rustaiyan, A., and Shafiee, A. 2004. Comparison of the volatile composition *of Stachys persica* Gmel. and *Stachys byzantina* C. Koch. Oils obtained by hydrodistillation and steam distillation. Z. Naturforschung. 59: 463- 467.
18. Khanavi, M., Mannan Hajimahmoodi, M., Cheraghi-Niroomand, M., Kargar, Z., Ajani, Y., Hadjiakhoondi, A., and Oveisi, MR. 2009. Comparison of the antioxidant activity and total phenolic contents in some *Stachys* species. African Journal of Biotechnology 8 (6): 1143-1147.
19. Klaunig, J.E., and Kamendulis, L.M. 2004. The role of oxidative stress in carcinogenesis. Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 44: 239-267.
20. Kukik, J., Petrovic, S., and Niketic, M. 2006. Antioxidant activity of four endemic *Stachys* taxa. Biol. Pharm.
21. Maharik, N., Elgengaihi, S., and Taha, H. 2009. Anthocyanin production in callus cultures of *Crataegus sinaisa* Boiss.International Journal of Academic Research, 1(1): 30-34.
22. Maleki, N., Garjani, A., Nazemiyeh, H., Nilfouroushan, N., Eftekhar-Sadat, AT., Allameh, Z., and Hasannia, N. 2001. Potent anti-inflammatory activities of hydroalcoholic extract from aerial parts of *Stachys inflata* on rats. J. Ethnopharmacol, 75(2-3): 213-8.
23. Matkowski, A., and Piotrowska, M. 2006. Antioxidant and free radical scavenging activities of some medicinal plants from the Lamiaceae. Fitoterapia, 77: 346-353.
24. Mazandarani, M., and Khormali, A. 2015. Autecology, ethnopharmacology, total phenol and flavonoids and antioxidant activity of *Ditrichia graveolens* (L.)Greuter. In different extraction from Bandargaz region. Ecophytochemical Journal, 6 (2):69-78.
25. Mazandarani, M., Majidi, Z., Zarghami-Moghaddam, P., Abrudi, M., Bayat, H., and Hemmati, H. 2012. Essential oil composition, total phenol, flavonoid, anthocyanin and antioxidant activities in different parts of *Artemisia annua* L. in two localities (North of Iran.). J.of Medicinal plants and By-product, 1:1-12.
26. Meda, A., Lamien, C.E., Romito, M., Millogo, J. and Nacoulma, O.G. 2005. Determination of the total phenolic, flavonoid and pralin contents in Burkina Fasan honey, as well as their scavenging activity. Food Chemistry, 91: 571-577.
27. Miliauskas, G., Venskutonis, P., and Vanbeek, T. 2004. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. Food Chemistry, 85: 231-237.
28. Morteza-Semnani, K., Saeedi, M., and Shahani, S. 2006b. Antioxidant activity of the methanolic extracts of some spicies of *Phlomis* and *Stachys* on sunflower oil. Afr. J. Biotechnol. 5: 2428-2432.
29. Motallebi, G., Hanachi, P., Kua, SH., Fauziah, O. and Asemeh, R. 2005. Evaluation of phenolic content and total antioxidant activity in *Berberis vulgaris* fruit extract. J. Biol. Sci, 5: 648-653.
30. Mozaffarian, V. 1996. A Dictionary of Iranian Plant Names. Farhang Moaser, Tehran, Iran, 522 p.
31. Mazandarani1, M., Mirdeilami, S.Z. and Pessarakli, M. 2013. Essential oil composition and antibacterial activity of *Achillea millefolium* L. from different regions in North east of Iran. Journal of Medicinal Plants Research. 7(16):1063-1069.
32. Norouzi-Arasi, H., Yavari, I., Kia-Rostami, V., Jabbari, R., and Ghasvari-Jahromi, M. 2006. Volatile constituents of *Stachys inflata* Benth. From Iran. Flavour Fragr, 21: 262-264.
33. Ostad, S.N., Vazirian, M., Manayi, A., Hadjiakhoondi, A., and Khanavi, M. 2014.

Archive of SID

www.SID.ir

Comparison of cytotoxic activity of some Iranian *Stachys* spp. extracts on different cancer cell lines. Research Journal of Pharmacognosy, 1(2): 23-28.

34. Pourmorad, F., Hosseinimehr, S.J. and Shahabimajd, N. 2006. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. African Journal of Biotechnology, 5: 1142-1145.
35. Rabbani, M., Sajjadi, SE., and Zarei, H.R. 2003. Anxiolytic effects of *Stachys lavandulifolia* Vahl. on the elevated plus-maze model of anxiety in mice. J. Ethnopharmacol, 89: 271-276.
36. Rechinger. KH.and Hedge ,IC.1982. Flora Iranica. Akademisch Druck-und Verlagsanstalt. Graz, Austria, 150: 360-361.
37. Sajjadi, S.E., and Somae, M. 2004. Chemical composition of the essential oil of *Stachys inflata* Benth. from Iran. Chem. Nat. Compd, 4: 378-380.
38. Santos, C., Salvadori, M., Costa, L., Almeida, A., Oliveira, G., Costa, J., Sousa, D., and Freitas, R. 2013. Antinociceptive and antioxidant activities of phytol in vivo and in vitro models. Neuro science Journal, 9 p.
39. Sharifzadeh, M., Sharifzadeh, K., Khanavi, M., Hadjiakhoond, A., and Shafiee, A. 2005. Anti-inflammatory activity of aerial parts of *Stachys setifera* and *Stachys persica*. Int. J. Pharmacol, 1: 132-137.
40. Sindambiwe, JB., Calomme, M., Cos, P., Totte, J., Pieters, L., Vlietinck, A., and Vanden–Berghe, D. 1999. Screening of seven selected Rwandan medicinal plants for antimicrobial and antiviral activities. Journal of Ethnopharmacology, 65: 71–77.
41. Sonboli, A., Salehi, P., and Nejad Ebrahimi, S. 2005. Essential oil composition and antibacterial activity of the leaves of *Stachys schtschegleevii* from Iran. Chem. Nat. Comp. 41: 171-174.
42. Skaltsa, H D., Lazari, D M., Chinou, I B., and Loukis, A.E. 1999. Composition and antibacterial activity of the essential oils of *Stachys candida* and *S. chrysantha* from southern Greece. Planta Medica, 65(25):5–256.
43. Vundac, V.B., Brantner, A.H., and Plazibat, M. 2007. Content of phenolic constituents and antioxidant activity of some *Stachys* taxa. Food Chem. 104: 1277-1281.
44. Wanger, GJ. 1979. Content and vacuole/extra vacuole distribution of Neutral sugars, free amino acids, and anthocyanins in protoplasts. Plant Physiology, 64: 88-93.
45. Yuan, R., and Lin, Y. 2000. Traditional Chinese Medicine: an approach to scientific proof and clinical validation. Pharmacology & Therapeutics, 86: 191–198.
46. Zohary, M. 1973. Geobotanical foundation of the Middle East. 2vols, Stuttgart. 739p.

Archive of SID

www.SID.ir