بررسی اثرات ضد باکتریایی عصاره الکلی گیاه ناخنک (*Astragalus hamosus*) بر روی باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی

امیررضا عبادی[1]*، علیرضا منادی[2]، مهرداد پاشازاده[3]، سولماز ذخیره[4]

چکیده

هر چقدر که افراد از عوارض جانبی خطرناک آنتی‌بیوتیک‌های سنتتیک مطلع می‌شوند، میزان تقاضا برای جایگزین‌های طبیعی این داروها افزایش پیدا می‌کند. مواد طبیعی، خطر این عوارض را کمتر می‌کنند و حتی اثرات جانبی مفیدی دارند. ناخنک گیاهی دارویی است که در طب سنتی کاربردهای گوناگونی دارد. هدف از این مطالعه بررسی اثرات ضد باکتریایی عصاره الکلی گیاه ناخنک بر روی باکتری‌های بیماری‌زا است. در این مطالعه تجربی ـ آزمایشگاهی از گیاه ناخنک با نام علمی Astragalus hamosusاستفاده گردید. پس از تهیه عصاره الکلی گیاه، تاثیر غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم در لیتر از این عصاره به روش انتشار چاهک بر روی باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سرئوس، اشریشیا کلی و سودوموناس آئروژینوزا مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش تعیین حداقل غلظت مهار کنندگی رشد باکتری ها و حداقل غلظت کشندگی باکتری ها (MIC/MBC) به روش رقت در لوله انجام گرفت. یافته ها نشان دادند که عصاره الکلی گیاه ناخنک از رشد باکتریهای استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سرئوس، اشریشیا کلی و سودوموناس آئروژینوزا جلوگیری می‌کند. با اندازه گیری قطر هاله‌های عدم رشد باکتری در روش انتشار چاهک مشخص گردید که اثرات مهاری بر رشد باکتری‌ها در روش انتشار چاهک در غلظت‌های مشابه، به مراتب بهتر و موثرتر از روش انتشار دیسک می‌باشد. در نتیجه عصاره الکلی گیاه ناخنک بر رشد باکتری‌های بیماری زا اثرات مهار کنندگی قابل ملاحظه‌ای دارد. به منظور کاربرد بالینی این عصاره‌ها انجام تحقیقات بالینی ضروری است.

واژگان کلیدی: *Astragalus hamosus*، *انتشار چاهک*، *غلظت مهار کنندگی رشد*، *غلظت کشندگی*، *ضد باکتری*.

تاریخ دریافت: ۹۲/٤/۲۷ تاریخ پذیرش: ۹۲/٦/۹

مقدمه

تعداد زیادی از آنتی بیوتیک‌های تجاری در سراسر جهان برای کنترل عفونت‌ها و بیماری‌های عفونی انسان استفاده می‌شوند. استفاده طولانی مدت از این آنتی بیوتیک‌ها باعث ظهور باکتری‌های مقاوم به چند دارو شده و مشکلات بالینی مهمی را در درمان بیماری‌های عفونی ایجاد کرده است (۱۵). ریشه‌های گونه *trojanus* یکی از قدیمی ترین مواد مخدر شناخته شده در طب سنتی است و در طب سنتی استفاده ی آن به عنوان یک ضد عرق، مقوی، درمان دیابت قندی، نفریت، لوسمی و سرطان رحم در منطقه آناتولی واقع در جنوب شرقی ترکیه و عصاره آبی ریشه این گونه به طور سنتی در برابر لوسمی و برای التیام زخم مورد استفاده قرار گرفته است (٦).

بنابراین لازم است تا بر روی کشف مواد ضد میکروبی جدید از سایر منابع مانند گیاهان تحقیقات گسترده‌ای انجام شود. گیاهان دارویی به عنوان یک منبع بالقوه از داروهای ضد میکروبی جدید مورد توجه ویژه هستند، زیرا مشخص شده است که این گیاهان مواد ضد میکروبی متنوعی دارند و دارای اثرات سمی کم و یا فاقد اثرات سمی هستند (۷). گیاهان طی متابولیسم ثانویه خود ترکیبات بسیاری با ساختمان مولکولی پیچیده می‌سازند که برخی از آنها خاصیت ضد میکروبی دارند (۹).

گیاه ناخنک یکی از گیاهان خوراکی خود رو با نام علمی (*Astragalus hamosus*) و از تیره نخود و تیره فرعی پروانه واران (*Papilionaceae*) می‌باشد در طب سنتی ایران از میوه این گیاه به عنوان داروی ضد صرع یاد شده است. گیاه ناخنک قابلیت نفوذپذیری مویرگ‌ها را کاهش داده و خون را رقیق و از لخته شدن خون جلوگیری می‌کند. ضد واریس، ورم‌های مفصلی، خلط آور، ضدعفونی کننده مجاری ادرار، ضد تشنج، درمان اسهال خونی، ورم روده، ضد آسم و برونشیت می‌باشد.

۱*- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اهر، گروه میکروبیولوژی، اهر، ایران (a-r-ebadi@iau-ahar.ac.ir)
۲ـ دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تبریز، گروه میکروبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، تبریز، ایران
۳- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اهر، گروه علوم پایه، اهر، ایران
٤- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اهر، گروه شیمی، اهر، ایران

Archive of SID
www.SID.ir

نام‌های دیگر آن عبارتند از: شبدر شیرین، اکلیل الملک، بسنگ، بسیه، شاه‌بسه، یونجه زرد، گیاه قیصر. گل‌های آن دارای خواص ضد تشنّج، مرحم سینه، قبض کننده و ضد عفونی کننده است. بوی ادرار را از بین برده، ترشحات آن را زیاد می‌کند، مجاری ادرار را ضد عفونی می‌نماید و در اسهال خونی، ورم روده و روماتیسم نیز مصرف می‌شود. این گیاه چون مسکن و خواب‌آور است آن را در تحریکات عصبی، انواع نورالژی، سرفه‌های عصبی و گاز روده‌ها استعمال می‌کنند و نیز برای معالجه نزله برونش‌ها و ورم عقب حلق مصرف می کنند. برای معالجهٔ ورم ملتحمهٔ چشم خوب است. سی تا چهل گرم آن را در یک لیتر آب باید جوشاند و مصرف کرد. همچنین مقوی، محرک و مصلح معده است. در امراض رعشه، ضعف عصبی، حزن و اندوه، خستگی جسمی و روحی، میگرن، ورم کلیه، یرقان ابیض، خنازیر، ضعف و طپش قلب مفید است.

دم کردهٔ برگ و گل آن برای آسم و نفخ معده، سیاه سرفه، ترشحات کیسهٔ صفرا، نارسایی کبد، امراض جلدی و مخلوط آن به روغن زیتون برای گرفتگی عضلات و کمپرس آن برای درد مفاصل خوب است. در جنوب الجزیره گرده آن را جهت ضد عفونی بر ختنه اطفال می‌ریزند و این گیاه از فساد گوشت هم مانع می‌شود(١٦ و ٤، ١).

در این مطالعه خواص ضد باکتریایی عصاره الکلی گیاه ناخنک بر روی تعدادی از باکتری‌های بیماری‌زا مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش کار

در این تحقیق برای تهیه عصاره از برگ و ساقه گیاه ناخنک به میزان ١٠٠٠ گرم از گیاه خشک را به صورت پودر در آورده، در داخل مخلوط کلروفرم: متانول (٣٠:٧٠) حداقل به مدت ٢٤ ساعت خیس نموده، سپس مخلوط به دست آمده را تحت فشار خلاء در دستگاه روتاری اپراتور (Heidolth Wb2001) حلال زدائی کرده تا عصاره خام بدست آید. سپس عصاره را به کمک دستگاه روتاری صاف و سپس به عصاره ١٠-١٥ میلی لیتر متانول اضافه و به مدت ٢٤ ساعت در دمای ١٥ درجه سانتی گراد نگهداری کرده تا عصاره فاقد چربی به دست آمد و سپس به منظور آب زدایی، عصاره چربی زدایی شده را در دی کلرومتان حل کرده و با منیزیم سولفات خشک نموده و در دستگاه روتاری اوپراتور تحت خلاء حلال زدایی شد تا اینکه عصاره خالص به دست آمده و برای تغلیظ عصاره متانولی در دمای ٧٠ درجه سانتی گراد داخل بن ماری قرار دادیم(٣).

از عصاره‌های حاصله توسط حلال ٥٪ DMSO ، غلظت‌های ٥٠ ، ١٠٠ ، ٢٠٠ و٤٠٠ میلی‌گرم در میلی لیتر جهت استفاده در آزمون انتشار چاهک و تعیین MIC/MBC تهیه گردید.

در این مطالعه از سوش‌های باکتریایی:

Staphylococcus aureus (*ATCC: 25923*), *Bacillus cereus* (*PTCC: 1052*), Escherichia *coli (ATCC: 25922*), *Pseudomonas aeruginosa* (*ATCC: 27853*)

که به صورت لیوفیلیزه از کلکسیون میکروبی موسسه تحقیقات بیوتکنولوژی دانشگاه تهران تهیه گردیده بود استفاده کردیم. نمونه‌های میکروبی بر اساس روش‌های استاندارد از حالت لیوفیلیزه خارج گردیدند. به منظور تهیه سوسپانسیون میکروبی از کشت تازه و جوان باکتری چند کلنی به محیط کشت مولر هینتون براث منتقل شد تا کدورت حاصله مشابه کدورت لوله ٠/٥ مک فارلند (1.5×10^8 باکتری در هر میلی‌لیتر) باشد (١١).

بررسی اثرات ضد باکتریایی عصار ه الکلی گیاه ناخنک به دو روش انجام شد، ابتدا از روش انتشار چاهک در آگار استفاده گردید. برای این منظور از سوش‌های یاد شده با کدورتی معادل لوله ٠/٥ مک فارلند تهیه و به روش معمول در پلیت حاوی محیط کشت مولر هیتون آگار گسترش داده شد. در مرحله بعدی در سطح پلیت چاهک‌هایی به قطر ٥ میلی‌متر و به فاصله ٢ سانتی متر از هم ایجاد گردید. هر یک از چاهک‌ها ر ا بوسیله رقت‌های مایع مختلفی از عصاره که در ابتدا به آنها اشاره شده است پر شد. به عنوان شاهد مثبت آزمایش از آنتی بیوتیک استرپتومایسین با توجه به حلالیت در حلال‌های مختلف در

www.SID.ir

نرمال سالین۹٪ درصد رقیق و غلظت ۱میکروگرم در میلی لیتر تهیه شده است و به عنوان شاهد منفی از DMSO (دی متیل سولفاکسید) استفاده شد. بعد از اتمام کار، تمامی محیط کشت‌ها به مدت ٢٤ ساعت در حرارت ۳۷ درجه سانتی گراد در انکوباتور قرار داده شدند. پس از گذشت این مدت، کشت های باکتریایی از نظر تشکیل یا عدم تشکیل هاله رشد بر حسب میلی متر توسط کولیس اندازه گیری شد (۱۸ و ۱۷، ۱۰، ۲).

قطر هاله ها عکس العملی از غلظت عصاره مورد آزمایش می‌باشد. این پدیده یک ارتباط خطی بین هاله و لگاریتم غلظت عصاره مورد آزمایش می‌باشد که با اندازه گیری قطر هاله عدم رشد و مقایسه آن با استاندارد مشخص، قدرت ضدمیکروبی عصاره مورد آزمایش تعیین می‌شود(۸).

روش دوم، آزمون تعیین حداقل غلظت مهار کنندگی رشد باکتری (MIC) و حداقل غلظت کشندگی باکتری (MBC) به صورت رقت لوله ای صورت گرفت. جهت تعیین (MIC)، از عصاره الکلی تهیه شده، سری های رقت ۲۰۰، ۱۰۰، ۵۰، ۲۵، ۱۲/۵، ٦/۲۵، ۳/۱۲۵، ۱/۵٦ و ۰/۷۸ میلی گرم در میلی لیتر در محیط کشت مولر هینتون براث تهیه شد. سپس به هر کدام از رقت ها ۱میلی لیتر از سوسپانسیون میکروبی تهیه شده اضافه گردید. به عنوان شاهد مثبت لوله ای با محتویات (محیط کشت حاوی باکتری، بدون عصاره) و به عنوان شاهد منفی لوله ای با محتویات (محیط کشت بدون باکتری) نیز تهیه شدند. بعد از اتمام کار، تمام لوله ها به انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و به مدت ٤٨– ٢٤ انتقال داده شدند (۵).

به علت رنگی بودن عصاره خواندن MIC ممکن نیست و برای رفع این مشکل از تمام لوله های تلقیح شده به میزان ۱۰۰ میکرو لیتر به پلیت های حاوی محیط کشت مولر هینتون آگار به روش پور پلیت پخش گردید پلیت ها به انکوباتور ۳۷ درجه انتقال یافت تا بعد از ٢٤ ساعت نتایج خوانده شود. پس از یک شب انکوباسیون، تعداد کلنی‌های رشد یافته در پلیت‌ها شمارش و با هم مقایسه گردید. پلیتی که دارای کمترین غلظت از عصاره بوده و تعداد کلنی‌های کمتری نسبت به سایرین دارد به عنوان MIC و پلیتی حاوی کمترین غلظت از عصاره بوده و کلنی در آن رشد نکرده به عنوان MBC در نظر گرفته شد (۱۹).

نتایج

نتیجه بررسی تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره الکلی گیاه ناخنک بر روی باکتریهای بیماریزا، نشان داده است که این عصاره اثر بازدارندگی قابل ملاحظه ای بر روی هر چهار باکتری مورد آزمایش داشت و هر چقدر میزان غلظت عصاره الکلی افزایش می یافت، اثر باز دارندگی نیز به صورت افزایش قطر هاله عدم رشد بیشتر و چشمگیر تر می شد. نتایج حاصل از تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره الکلی گیاه ناخنک به روش انتشار چاهک در جدول ۱ آمده است.

جدول ۱ـ قطر هاله عدم رشد باکتری بر حسب میلی متر در غلظت‌های مختلف عصاره الکلی بر حسب میلی‌گرم در میلی لیتر به روش انتشار چاهک

غلظت عصاره mg/ml / سوش باکتریایی	۵۰	۱۰۰	۲۰۰	٤۰۰	DMSO	استرپتومایسین ۱mic g/ml
استافیلوکوکوس اورئوس	۱۰	۱۲	۱٦	۲۰	–	۱۳
باسیلوس سرئوس	۱۲	۱٤	۱۸	۲۰	–	۱۸
ای کولای	۱۰	۱۲	۱٦	۱۸	–	۱٦
سدوموناس آیروژینوزا	۸	۱۲	۱٤	۱۸	–	۱۳

Archive of SID

www.SID.ir

در آزمایش دوم که تعیین MIC/MBC بود، نتایج نشان می دهد که در بین باکتری‌های مورد آزمایش، باکتری باسیلوس سرئوس بیشترین حساسیت و باکتریهای گرم منفی کمترین حساسیت را در برابر عصاره الکلی گیاه ناخنک دارند(جدول ۲). نتایج مربوط به حداقل غلظت مهارکنندگی رشد باکتری (MIC) و حداقل غلظت کشندگی باکتری (MBC) عصاره الکلی گیاه ناخنک علیه باکتری‌های منتخب به روش رقت لوله ای در جدول ۲ آمده است.

جدول ۲ـ حداقل غلظت مهار کنندگی و کشندگی باکتری بر حسب mg/ml در غلظت‌های مختلف عصاره الکلی به روش لوله ای

غلظت عصاره mg/ml / سوش باکتریایی	MIC	MBC
استافیلوکوکوس اورئوس	۱۲/۵	۵۰
باسیلوس سرئوس	۱۲/۵	۲۵
ای کولای	۵۰	۱۰۰
سودوموناس آیروژینوزا	۲۵	۵۰

بحث

در این تحقیق مشخص گردید که عصاره الکلی گیاه ناخنک اثرات مهاری قابل توجهی بر روی باکتری‌های مورد آزمایش دارد. اثرات مهاری عصاره این گیاه برای باکتری‌های گرم مثبت بیش از باکتری‌های گرم منفی بود، به طوریکه در غلظت‌های بالا ($۴۰۰_{mg/ml}$) باکتری‌های گرم منفی نتوانستند مقاومت زیاد خود را حفظ کنند در حالیکه در غلظت‌های پائین ($۵۰_{mg/ml}$) باکتری‌های گرم مثبت حساسیت قابل توجهی از خود نسبت به عصاره الکلی نشان دادند. همچنین مشخص شد که از بین چهار باکتری استفاده شده، باسیلوس سرئوس حساس ترین و گرم منفی ها مقاوم ترین باکتری‌ها در برابر عصاره گیاه بودند. شایان ذکر است که پس از انجام تست ها این نتایج حاصل شد که اثرات مهاری عصاره الکلی بر باکتری‌های گرم مثبت بیش از باکتری‌های گرم منفی است و علت تاثیر متفاوت عصاره بر روی این ۲ گروه از باکتری‌ها را می توان به تفاوت ساختاری موجود بین دیواره آن ها نسبت داد است. نتایج هر دو آزمایش نشان دهنده این بود که عصاره الکلی گیاه ناخنک تاثیر متفاوتی بر روی باکتری‌ها داشته است پس علت تاثیر متفاوت عصاره‌های الکلی گیاه ناخنک بر رشد باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت ممکن است به دلیل تفاوت ساختاری موجود بین دیواره این دو گروه از باکتری‌ها باشد. همانگونه که در بخش نتایج مشخص گردید عصاره الکلی گیاه اثرات قابل توجهی علیه باکتری‌های گرم مثبت از جمله استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سرئوس داشته و از باکتری‌های گرم منفی بر روی سودوموناس آئروژینوزا و بویژه روی باکتری اشریشیا کلی اثر ضعیف‌تری داشت که علت احتمالی آن وجود لیپو پلی ساکارید های دیواره سلولی باکتری‌های گرم منفی می باشد که مانند سدی از عبور مولکول های بزرگ و آب گریز ممانعت می کند و از آنجایی که اکثر ترکیبات موثر موجود در عصاره‌ها و اسانس‌ها ماهیت آبگریزی دارند لذا می توان چنین نتیجه گرفت که این مواد امکان نفوذ و دسترسی به نقاط فعال داخل باکتری‌های گرم منفی را ندارند و به همین دلیل معمولا باکتری‌های گرم منفی در مقایسه با باکتری‌های گرم مثبت مقاومت بیشتری نسبت به ترکیبات گیاه نشان می دهند.و در مورد علت مقاومت باکتری سودوموناس آئروژینوزا شاید ناشی از اختلاف بین فاکتورهای مقاومت آنتی بیوتیکی از جمله غشا لیپو پلی ساکاریدی و اختلاف سوش‌های باکتری باشد.

در مطالعه‌ای توسط Waterman مشاهده شد که چندین گونه از Astragalus hamosus از فعالیت آنتی اکسیدانی بیولوژیکی و خواص ضد ویروسی برخوردار هستند (۱۳).

در مطالعه Platikanov و همکاران مشاهده شد که در گیاه *Astragalus hamosus* نسبت فلاونوئیدها خیلی بالاتر از دیگر گونه های خود بوده و این میزان در زمان گل دهی گیاه به بیشترین مقدار خود می‌رسد. در این مرحله با مطالعات فیتو شیمیایی به طور کامل و واضح معلوم شد که قسمتی از گیاه که

Archive of SID
www.SID.ir

به صورت نوک تیز است از پویایی بهتر در تجمع فلاونوئیدها برخوردار است. لازم به ذکر است که از مهم‌ترین فعالیت‌های دارویی فلاونوئیدها، آنتی اکسیدان و ضد میکروبی بودن آن است (۱۲) .

در مطالعه‌ای دیگر توسط sayyah همکاران خاصیت ضدصرع و ضدتشنجی عصاره الکلی این گیاه در روی موش‌های سوری بررسی شده است (١٤).

شایان ذکر است که آزمایش تعیین حساسیت و یا مقاومت میکروبی دیگری توسط افراد دیگر توسط این گیاه انجام نشده است.

بنابراین باتوجه به مقاومت دارویی درحال گسترش در این پاتوژن‌های مهم و نیز نتایج حاصل از این تحقیق پیشنهاد می‌شود عصاره این گیاه حداقل به عنوان یک آنتی سپتیک موضعی بتواند مورد استفاده قرار گیرد این بررسی می‌تواند راهگشای مناسب برای جایگزین کردن این داروی گیاهی با داروهای شیمیایی باشد.

فهرست منابع

۱. زرگری، ع. (١٣٦٩): گیاهان دارویی، چاپ چهارم، انتشارات دانشگاه تهران، تهران ، ایران: ۸-٤٤٩، ١٠٩، ٧٤٤-٦٣.

۲. شیرازی، م. (۱۳۸۲): بررسی اثر ضد میکروبی ۱۰ عصاره گیاهی بر روی هلیکو باکتر پیلوری و مقایسه آن با آنتی بیوتیک‌های موثر انتخابی، فصلنامه گیاهان دارویی، شماره هفتم: ٦٠-٥٣.

۳. صمصام شریعت، س. (۱۳۷۱): عصاره گیری و استخراج مواد موثره گیاهان دارویی و روش‌های شناسایی و ارزشیابی آن، چاپ اول، انتشارات مانی ، اصفهان، ایران: ۲۰-۳.

٤. صمصام شریعت، س. (١٣٨٦): گزیده گیاهان دارویی ، چاپ دوم، انتشارات مانی، اصفهان، ایران، ۲۳۵.

5. Baner, A., Kirby, W., Truck, M. (1991): Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. Am. J. Clin. Pathology. 45:493-496.
6. Bedir, E., Iffet tatli, I., Calis, I., Ahmad khan, I. (2001): New Cycloartane-Type Glycosides from the Aerial Parts of Astragalus trojanus, Chem. Pharm. Bull. 49(11):1482-1486.
7. Beg, A.Z., Ahmad, I. (2000): Effect of Plumbagozeylanica extract and certain curing agents on multidrug resistant bacteria of clinical origin. World J Microbiol Biotechnol. 16 (8-9): 841-4.
8. Declercq, P., Neef, H., Laekeman, G. (1995): Hypoglycaemic activity of selected European plants. Phytother Res. 9:45-48.
9. De Souza, E.L., Stamford, T.L.M. (2005): Antimicrobial effectiveness of spices: an approach for use in food conservation systems, Braz Arch Bio Technol. 48(4):549-58.
10. Koneman, E.W, Allen, S.D., Janda, W.M., Schreckenberger, P.C, Winn, W.C. (1997): Color atlas and text book of diagnostic microbiology. 5 th ed. US: lippinCottwilliams&wilkins. P: 321.
11. Murray, p., Baron, R., Fauer, E.J., Tenoyer, M. (1999): Manual of clinical Microbiology 7 ed, American society for microbiology.P:1567-70.
12. Platikanov, S., Evstatieva, L., Nikolov, S. (2002): Dinamic of acumulation of the flavonoids in Astragalus hamosus L. Proceeding of the 7th Symposium on Flora of Southeastern Serbia and Neighbouring Regions, Dimitrovgrad. P: 214-6
13. Ríos, J.L., Waterman, P.G. (1997): A review of the pharmacology and toxicology of Astragalus. Phytother.Res. 11:411–18.
14. Sayyah, M., Faraji, H., Dehghani, A. (2011): Screening of the anti convulsant potential of some common medicinal plants of Iran in pentylenetetrazole and maximal electro shock seizure models in male mice, physiology and pharmacology. 15(1):66-71
15. Shariff, Z.U. (2001): Modern herbal therapy for common ailments. Nature pharmacy series In Spectrum Books limited, United Kingdom. (9):84.
16. Singh, G., Kapoor, I.P., Pandey, S.K. (2002): Studies on essential oils: part 10; antibacterial

Archive of SID

www.SID.ir

activity of volatile oils of some spices. Phytother Res Nov. 16(7): 680-2.
17. Skocibusic, M., Bezic, N., Dunkic, V. (2004): Antibacterial activity of Achilleaclavennae essential oil against respiratory tract pathogens, Fitoterapia. 75(7-8): 733-6.
18. Sokmen, A., Vardar-Unlu, G., Polissiou, M. 2003): Antimicrobial activity of essential oil and methanol extracts of Achilleasintenisii Hub. Mor. (Asteraceae). Phytother Res; 17(9): 1005-1010.
19. Stojanovic, G., Radulovic, N., Hashimoto, T. (2005): In vitro antimicrobial activity of extracts of four Achillea species: The composition of chilleaclavennae L. (Asteraceae) extract. J. Ethnopharmacol; 101(1-3): 185-90.

Archive of SID

www.SID.ir