مجله بوم شناسی آبزیان

Journal homepage: http://jae.hormozgan.ac.ir

ارزیابی اثرات سمیت سلولی عصاره‌های گیاهان دارویی آویشن و مرزه بر ناپلئوس *Artemia salina*

سکینه مشجور[1*]، زینب اذان[1]، الهام کاظمیان[1]، مهدی بی نیاز[2]

[1]گروه زیست شناسی، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، صندوق پستی :۳۹۹۵

[2]گروه مرتع و آبخیزداری، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه هرمزگان، صندوق پستی :۳۹۹۵

نوع مقاله:
مقاله کوتاه

تاریخچه مقاله:
دریافت: ۹۳/۰۳/۲۴
اصلاح: ۹۴/۰۶/۲۰
پذیرش: ۹۴/۰۶/۲۵

کلمات کلیدی:
سمیت سلولی
گیاهان دارویی
LC_{50}
Lamiaceae

چکیده

در این مطالعه اثرات سمیت سلولی عصاره‌های خام گیاهانی از تیره نعناعیان (Lamiaceae) نظیر، *Zataria multiflora*، *Thymus daenensis*، *Satureja khuzistanica* و *Satureja rechingeri*، علیه لارو ناپلئوس آرتمیا در شرایط *in vitro* بررسی شد. نتایج نشان داد که عصاره‌های آبی این گیاهان، فاقد اثرات کشنده شایان توجه بر لارو آرتمیا بود. همچنین عصاره‌های متانولی این گیاهان همگی به جز آویشن دنایی اثرات سمیت سلولی را نشان دادند، لکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد اختلاف آنها معنی‌دار نبود ($p>0.05$). در این میان، عصاره متانولی مرزه خوزستانی با LC_{50}= ۴۲۶/۷ µg/ml در قیاس با عصاره‌های متانولی مرزه رشینگری و آویشن شیرازی، واجد اثرات قوی‌تری بود. به طورکلی، اثرات سمیت سلولی این گیاهان پایین ارزیابی گردید که تایید کننده استفاده از آنها در طب سنتی است.

مقدمــه

بیش از ۳۵۰۰ سال است که از گیاهان در درمان انواع سرطان ها بهره گرفته شده (Mans *et al*., 2000) و حدود۶۰ ٪ از آنها به صورت طبیعی مورد استفاده قرار می گرفته اند (Dai and Mumper, 2010). سیاست داروسازی نوین طی دو دهه اخیر به شکل قابل توجهی به سوی گیاهان دارویی و درمان با داروهای گیاهی و طبیعی پیش رفته است (قاسمی پیر بلوطی، ۱۳۸۸). داروهای گیاهی به دلیل عواملی چون ارزش اقتصادی، کم هزینه بودن، کمی عوارض جانبی در قیاس با داروهای شیمیایی، از منابع ارزشمند دارویی محسوب می شوند، شناسایی یک ترکیب با خواص بیولوژیک خود مشتمل بر گروهی از آزمون ها، تحت عنوان آزمون های غربالگری است، به نحوی که این آزمون ها انواعی از ارزیابی های بیولوژیک در مقاطع سلولی و مولکولی و جانوری را شامل می شوند. چندین نوع از عوامل ضد سرطان برای آزمون‌های غربالگری مورد توجه هستند، از آن جمله می توان ترکیبات سمیت سلولی و ترکیبات مؤثر بر سیستم ایمنی را نام برد (Hanskell, 1995).

داروهای سمیت سلولی عواملی هستند که مستقیماً سلول را می کشند و یا تقسیم سلولی را مهار می‌کنند. این عوامل عبارتند از: آنتی متابولیت ها، شلات کننده ها، آلکیله کننده ها، متصل شونده های به DNA و مهارکننده‌های میتوزی. تاکنون بسیاری از داروهای سمیت سلولی از منابع طبیعی مانند سیکلوسپورین، آلکالوییدهای وین کریستین و وین بلاستین شناسایی شده اند (رضایی پور کاردوست، ۱۳۷۵). از این رو به منظور دستیابی و تکامل این داروهای ضدسرطان از منابع طبیعی چون عصاره‌های خام گیاهی، نیاز به یک سری آزمایش های غربالگری اولیه در شرایط *in vitro* وجود دارد که هم هزینه کمتری داشته، از حساسیت بالایی برخوردار باشند و هم آزمایش در زمان کوتاه قابل اجرا و مقدار نمونه مورد نیاز برای هر آزمایش نیز کم باشد.

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: sakynemashjoor@gmail.com

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2024-09-27]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1394.5.3.15.0]

در این مطالعه، برای سنجش اثرات سمیت سلولی به روش Brine Shrimp Citotoxicity Bioassay از سیست گونه‌ای از سخت پوستان آبزی از شاخه بندپایان، خانواده برانشیوتیده به نام گونه *Artemia salina* استفاده شده است. این گونه خاص از آرتمیا، گونه استاندارد جهت بررسی اثرات سمیت سلولی می باشد. چرخه زندگی آرتمیا شامل مراحل تخم، لارو، ناپلئوس، متاناپلئوس و زوآ می باشد. مراحل لاروی رشد، بخش اعظم رشد این سخت پوست را تشکیل داده و این مرحله از حساسیت بالایی در مقابل ترکیبات سیتوتوکسیک برخوردار است (Clark and Bowen, 1978).

گیاهان دارویی خانواده نعناعیان (Lamiaceae)، به واسطه داشتن ترکیباتی نظیر آلکالوئیدها، ساپونین‌ها، ترکیبات معطر و اسانس‌دار در صنایع مختلف کاربرد دارند (اکبرزاده، ۱۳۸۲). یکی از گونه های انحصاری آویشن در ایران، آویشن دنایی (*Thymus daenensis*) است؛ این گونه به صورت بوم زاد (اندمیک) در مناطق گسترده ایی از ایران به ویژه در مناطق غربی و مرکزی رویش دارد؛ دو ترکیب تیمول و کارواکرول از مهمترین ترکیبات موجود در آویشن دنایی هستند (الوندی، ۱۳۷۵). آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*) یکی دیگر از جنس‌های مهم این خانواده است که در ایران ۱۸ گونه پایا و معطر دارد و در مناطق مختلف کشور رویش دارند (جم زاد، ۱۳۷۳). این گیاه دارای مواد چرب، مواد رنگی، رزین، منگنز فراوان و ویتامین های A، B و E است. اسانس این گیاه دارای اثر ضدعفونی‌کنندگی قوی و سمیت کم می باشد. این سمیت مربوط به ماده موثر تیمول و کارواکرول می‌باشد که در اسانس به مقدار نسبتاً زیادی وجود دارد. تیمول نوعی فنل است و در فرآورده های دارویی به عنوان ماده ثابت کننده مصرف می شود (زرگری،۱۳۶۹؛ مومنی و شاهرخی نوبهار،۱۳۷۰). جنس مرزه با نام علمی *Satureja* از خانواده نعناعیان اغلب در مناطق مدیترانه ای پراکندگی دارد. گیاه مرزه خوزستانی (*Satureja khuzistanica*) از جمله گیاهان دارویی بومی ایران است که به طور گسترده در نواحی جنوبی ایران می روید (Jamzad, 1996). گونه های اندمیک مرزه خوزستانی و مرزه رشینگری به دلیل داشتن کارواکرول بالا در اسانس و اسیدهای فنولی آزاد به ویژه رزمارینیک اسید در عصاره از گیاهان دارویی ارزشمند به شمار می روند (هادیان، ۱۳۸۸). با توجه به نتایج مطالعات پیشین مبنی بر بالا بودن میزان ترکیبات فنلی کارواکرول و یا تیمول در اسانس گونه های آویشن و مرزه، بررسی عملکرد کمی و کیفی عصاره های آنها نیز ضروری به نظر می رسد. لذا در مطالعه حاضر ارزیابی اثرات سیتوتوکسیک عصاره های آنها مورد ملاحظه قرار گرفته است، تا هم اثرات احیاناً سمی عصاره های آبی این گیاهان در قالب دم نوش ها بررسی شده و هم اثرات سیتوتوکسیک عصاره های متانولی آنها با هدف وجود خواص درمانی، بر مبنای آزمون کشندگی آرتمیا با ضریب دقت بالا مورد سنجش قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

گیاهان مورد استفاده

گیاهانی که در این مطالعه مورد استفاده قرار گرفته اند، آویشن شیرازی (*Z. multiflora*)، آویشن دنایی (*T. daenensis*)، مرزه خوزستانی (*S. khuzistanica*) و مرزه رشینگری (*S. rechingeri*) می باشند که پس از جمع آوری از رویشگاه طبیعی و شناسایی و تائید نام علمی، یک نمونه هرباریومی نیز از هر گیاه تهیه شده و در دانشکده علوم پایه در دانشگاه هرمزگان نگهداری شد.

عصاره گیری

سرشاخه های هوایی گیاهان مورد آزمایش در فصل گلدهی جمع آوری، در سایه خشک شده و سپس پودر و آسیاب شده و در ظروف تیره نگهداری شد. عصاره گیری با حلال‌های آب و متانول صورت گرفت. برای این منظور از هر گیاه خشک به میزان ۵۰ گرم در ارلن ریخته و ۶۰۰ میلی لیتر حلال متانول به آن اضافه شد. درب ارلن در این مرحله بسته و به مدت ۴۸ ساعت در فضای تاریک و دمای اتاق نگه‌داری شد. پس از دو روز محتویات درون ارلن از صافی عبور داده شد. محلول به دست آمده در یک ظرف تمیز ریخته شده و در فضای اتاق قرار گرفت تا متانول آن تبخیر شود و عصاره‌ی خشک شده باقی بماند. عصاره‌ی به دست آمده نیز وزن گردیده و در ظروف تیره و در بسته در دمای یخچال نگه‌داری شد. عصاره های آبی نیز در حمام آب گرم با دمای ۴۰ تا ۴۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند تا حلال آنها کاملاً تبخیر شود و رسوب خشکی برجا بماند. سپس غلظت های مورد نیاز از هر یک از عصاره‌ها تهیه شده و تا زمان استفاده در یخچال و برای مدت طولانی تر در فریزر نگهداری گردید.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2024-09-27]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1394.5.3.15.0]

آزمون سمیت سلولی به روش Brine Shrimp Citotoxicity Bioassay

در این روش برای سنجش اثرات سمیت سلولی از سیست های گونه ای آبزی و سخت پوست به نام *Artemia salina* استفاده شد. ابتدا غلظت‌های مختلف از هر عصاره (چهار غلظت ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر) در آب مقطر حاوی ۳/۵٪ درصد از محیط آب دریا (Sea salt) تهیه شده و سپس کشت و پرورش سیست های آرتمیا در محیط حاوی ۳۰۰ میلی لیتر نمک دریا (که به وسیله پمپ هوادهی شده و در دمای ۲۹- ۳۰ درجه سانتی گراد نگهداری شده است) تا هنگام پوسته‌اندازی سیست‌ها و تبدیل شدن به لارو فعال صورت پذیرفت. لاروهای زنده و فعال به کمک نوردهی جداسازی شدند (Sorgeloos *et al*., 2001). ناپلی ها به طور تصادفی در چاهک های پلیت میکروتیتر (پلیت های حاوی ۲۴ چاهک) که از قبل حاوی ۵۰۰ میکرولیتر آب دریا بودند تقسیم شدند و ۲۴ ساعت پس از افزودن غلظت‌های مختلف عصاره های آبی و متانولی گیاهی به چاهک های حاوی لارو فعال، میزان اثر سمیت سلولی با شمارش لاروهای زنده و فعال در هر غلظت بررسی گردید. این آزمایش در حضور کنترل مثبت (حاوی حلال ها) و کنترل منفی (حاوی آب دریا) و با ۳ بار تکرار برای هر غلظت صورت پذیرفت (Mongelli *et al*., 1996). برای تعیین درصد مرگ و میر در غلظت‌های متفاوت و محاسبه LC_{50} از نرم‌افزار Excell 2010 و آنالیز رگرسیون خطی استفاده شد. همچنین برای آنالیز داده ها از نرم افزار آماری PASW® version 18 (SPSS18)، نیز استفاده گردید.

نتایــج

نتایج مربوط به آزمون سنجش اثرات سمیت سلولی در مورد چهار غلظت از هر عصاره گیاهی به صورت میانگین درصد مرگ و میر، LC_{50} در جداول زیر بیان شده است. شکل ۲ نشان می دهد که اختلاف معنی‌داری در LC_{50} بین عصاره های متانولی گیاهان *S. rechingeri*، *S. khuzistanica*، *T. daenensis* و *Z. multiflora* در سطح اطمینان ۹۵ درصد وجود ندارد ($p>0.05$). مقایسه عددی این نتایج در جدول ۲ ارائه شده است.

جدول ۱. نتایج مربوط به اثرات سیتوتوکسیک عصاره آبی گونه های گیاهی آویشن و مرزه

نام عصاره	درصد مرگ ومیر لاروها در غلظت های انتخابی از عصاره آبی هر گیاه (µg/m)					LC_{50} µg/ml
	۱۲۵	۲۵۰	۵۰۰	۱۰۰۰		
عصاره آبی آویشن دنایی (*Thymus daenensis*)	۰	۱	۶	۷		> ۱۰۰۰
عصاره آبی آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*)	۵	۴	۶	۳۰		> ۱۰۰۰
عصاره آبی مرزه رشینگری (*Satureja rechingeri*)	۰	۳	۵/۵	۸		> ۱۰۰۰
عصاره آبی مرزه خوزستانی (*Satureja khuzistanica*)	۱۴	۲۵	۳۷	۴۸		(۹۸۸/۶)

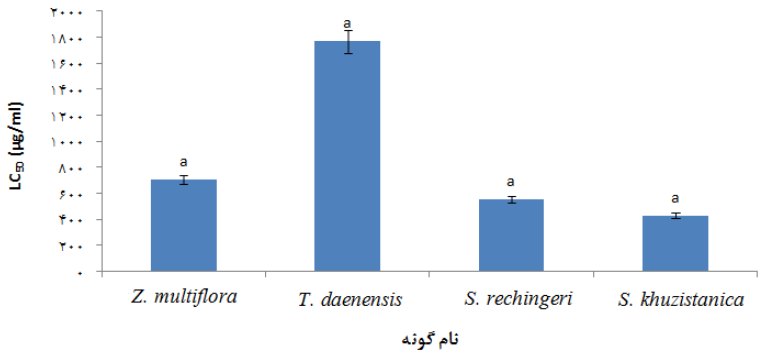
شکل ۱. تفریخ (تخم گشایی) *Artemia salina* . ۲۴ ساعت بعد از اضافه نمودن سیست آرتمیا به انکوباتور، ناپلیوس‌ها از سیست خارج شده و نورگرایی مثبت نشان می دهند.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2024-09-27]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1394.5.3.15.0]

جدول ۲. نتایج مربوط به اثرات سیتوتوکسیک عصاره متانولی گونه های گیاهی آویشن و مرزه

نام عصاره	درصد مرگ و میر لاروها در غلظت های انتخابی از عصاره آبی هر گیاه (µg/m)					LC_{50} µg/ml
	۱۲۵	۲۵۰	۵۰۰	۱۰۰۰		
عصاره متانولی آویشن دنایی (*Thymus daenensis*)	۹	۲۱	۲۲	۳۲		> ۱۰۰۰
عصاره متانولی آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*)	۱۷	۱۵	۲۲	۷۷		۷۰۷/۱
عصاره متانولی مرزه رشینگری (*Satureja rechingeri*)	۸	۱۲	۵۴	۹۲		۵۵۳/۲
عصاره متانولی مرزه خوزستانی (*Satureja khuzistanica*)	۳۵	۳۹	۵۰	۸۶		۴۲۶/۷



شکل ۲. مقایسه LC_{50} عصاره های متانولی گونه‌های گیاهی آویشن و مرزه بر ناپلی *Artemia salina*

بحث

اسانس ها (EO[1])، ترکیبات فرار طبیعی و پیچیده ای هستند که توسط گیاهان معطر به صورت متابولیت ثانویه تولید می شوند. اگرچه تاکنون اسانس گیاهان دارویی چون آویشن شیرازی (*Z. multiflora*)، آویشن دنایی (*T. daenensis*)، مرزه خوزستانی (*S. khuzistanica*) و مرزه رشینگری (*S. rechingeri*) به عنوان مواد ضد میکروبی، ضد درد، ضدالتهاب و آنتی اکسیدان مورد بررسی و تحقیق قرار گرفته و حتی اثرات سمیت سلولی اسانس های این گیاهان بر مبنای مدل سیتوتوکسیک آرتمیا (بارانی و همکاران، ۱۳۹۲) و نیز رده های سلولی سرطانی انسانی (Yousefzadi *et al*., 2013) مورد پژوهش واقع شده است، لیکن در ارتباط با ایمنی و سمیت عصاره های این گیاهان اطلاعات چندانی وجود ندارد. از این رو هدف از این تحقیق یافتن غلظت نیمه کشنده LC_{50} عصاره های آبی و متانولی این گیاهان دارویی بر لارو میگوی آب شور به عنوان یک رویکرد سیتوتوکسیک استاندارد است. نگاهی به نتایج آزمون سمیت سلولی این گیاهان متعلق به خانواده نعنائیان نشان می دهد که عصاره های آبی گیاهان، همگی فاقد اثرات کشنده شایان توجه بر لارو آرتمیا بوده (LC_{50} = >۱۰۰۰ µg/ml) و تنها عصاره آبی مرزه خوزستانی از اثرات ضعیفی برخوردار است(LC_{50} = ۹۸۸/۶ µg/ml). بر اساس پروتکل‌های موجود چنانچه LC_{50} یک گیاه بالاتر از ppm ۱۰۰۰ گزارش شود، گیاه غیرسمی محسوب می شود (Silva *et al*., 2007). در مطالعه حاضر میزان LC_{50} عصاره آبی مرزه خوزستانی اندکی کمتر از ۱۰۰۰ بوده، پس می بایست واجد ترکیبات سیتوتوکسیک بوده باشد، زیرا اثرات بسیار ضعیفی را آن هم در غلظت های بالا نشان داده است. عصاره های متانولی هر سه گیاه مرزه خوزستانی (*S. khuzistanica*)، مرزه رشینگری (*S. rechingeri*) و آویشن شیرازی (*Z. multiflora*) دارای اثرات کشنده بر روی لارو میگوی آرتمیا سالینا در غلظت های بالا بودند و این اثر با افزایش غلظت عصاره ها ارتقاء یافت. با این وجود عصاره های متانولی این سه گیاه از اثرات سمیت سلولی نسبتاً

[1] Essential oil

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2024-09-27]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1394.5.3.15.0]

متوسطی در تست غربالگری حاضر برخوردار بوده و در سطح اطمینان ۹۵ درصد اختلاف آنها معنی دار نبود ($p>0.05$) (شکل۲). هر چند اثرات سمیت سلولی عصاره متانولی مرزه خوزستانی با LC_{50}= ۴۲۶/۷ µg/ml در قیاس با عصاره متانولی مرزه رشینگری با LC_{50} = ۵۵۳/۲ µg/ml و عصاره متانولی آویشن شیرازی با LC_{50} = ۷۰۷/۱ µg/ml قوی تر بوده است. با این وجود، در غلظت‌های بالا عصاره متانولی مرزه رشینگری نیز به همان نسبت قوی ظاهر شده و حتی در غلظت ۱۰۰۰ اثرات کشنده لارو میگوی آرتمیا سالینا را تا ۹۲ درصد نشان داده است. به علاوه یک مقایسه کلی بین گیاه مرزه و آویشن از حیث اثرات سمیت سلولی بر مبنای یافته های مطالعه حاضر گواه قوی تر بودن این تاثیرات در گیاه مرزه نسبت به گیاه آویشن است (جدول۲). تجزیه اسانس مرزه خوزستانی، مرزه رشینگری و آویشن شیرازی با GC/MS منجر به شناسایی ترکیبات عمده تشکیل دهنده آنها شده است. در آویشن شیرازی این ترکیبات عبارتند از: کارواکرول (۰۸/ ۲۶٪)، پاراسیمن (۲۰/۳۴٪) و تیمول (۱۷/۲۳٪) (شهسواری و همکاران، ۱۳۸۷)، در مرزه رشینگری مشتمل بر۲۰ ترکیب هستند که کارواکرول (۹۵٪) تنها ترکیب عمده آن است (عباسی و همکاران، ۱۳۸۴) و در ارتباط با مرزه خوزستانی از مشخصات بارز اسانس آن وجود مقادیر بالای کارواکرول ۹۲/۸ درصد همراه با سایر ترکیبات فنولی، فلاون ها، تری ترپنوئیدها، استروئیدها و تانن ها می باشد (Farsam *et al.*, 2004). پیشنهادها بر این است که اثر مسمومیت حاد این اسانس ها در آبزیان در نتیجه وجود دو ترکیب تیمول (نوعی فنل که در فرآورده های دارویی به عنوان ثابت کننده به کار می رود و دارای اثر ضد عفونی کنندگی است) و کارواکرول است. کارواکرول که ترکیب اصلی اسانس هر سه این گیاهان را تشکیل می دهد، یک منوترپن فنولی، به صورت مایع بیرنگ و تا اندازه ای چسبناک است که ایزومر تیمول بوده و بوئی شبیه تیمول دارد که در آب نامحلول ولی در الکل و اتر حل می شود (Amanlou *et al.*, 2005). از این رو نظر به اینکه در مطالعه حاضر از عصاره های متانولی این گیاهان استفاده شده است، این احتمال می رود که، کارواکرول عامل اصلی وجود اثرات سیتوتوکسیک این عصاره ها به شمار آید. نتایج آزمون سمیت سلولی گزارش شده توسط گوهری و همکاران در سال ۱۳۸۷ نشان داد که، در مورد گیاهان متعلق به خانواده نعناعیان گونه *Scutellaria Tornefortii* دارای اثرات کشنده قوی بر لارو میگوی آرتمیا سالینا است و این اثر با افزایش پلاریته عصاره ها افزایش می یابد (LC_{50} = ۶ µg/ml). به نحوی که عصاره متانولی- آبی قوی ترین عصاره سمیت سلولی در غربالگری انجام شده بوده است. آزمون آرتمیا سالینا یک روش کاربردی در ارزیابی غربالگری و جداسازی ترکیبات فعال زیستی می باشد و در حدود ۳۰ سال است که از آرتمیا سالینا جهت بررسی سمیت های کلی و سم شناسی محیطی استفاده می شود (Costello *et al.*, 1993). بررسی رابطه بین میزان سیتوتوکسیته آرتمیا سالینا و کشت های سلولی سرطان ریه (A-54) و سرطان کولون (HT-29) نیز وجود این ارتباط مثبت را نشان داده است (Costello *et al.*, 1993). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که گیاهان مرزه و آویشن طی این آزمون غربالگری اولیه، واجد اثرات سمیت سلولی بر لارو آرتمیا سالینا می باشند، لکن بررسی دیگر اثرات سمیت سلولی دارویی آنها مستلزم آزمون های اختصاصی تر ضد سرطان و ضد تومور است.

منابـع

اکبرزاده، م.، ۱۳۸۲. گیاهان دارویی از خانواده نعنائیان (Labiatae)، در منطقه واز مازندران. تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. سال نوزدهم، شماره ۱، صفحات ۴۵-۳۷.

الوندی، م.، ۱۳۷۵. بررسی مورفولوژی و فیتوشیمیایی گیاه *Thymus daenensis* Celak. پایان نامه دکترای عمومی داروسازی. دانشکده داروسازی و علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان.

بارانی، م.، یوسف زادی، م.، هادیان، ج.، ۱۳۹۲. استفاده از *Artemia salina* به عنوان مدل، جهت تعیین اثرات سیتوتوکسیک اسانس‌های گیاهی. همایش ملی علوم جانوری آبزیان رشت.

جم زاد، ز. ۱۳۷۳. آویشن. انتشارات موسسه تحقیقات جنگل ها و مراتع تهران. ۱۷ ص.

رضایی پور کاردوست، ر. ۱۳۷۵. سایتوکاینها و درمان. انتشارات علوم پزشکی فاطمیه قم، موسسه فرهنگی انتشاراتی حیان. صفحات ۶۱-۹۵.

زرگری، ع. ۱۳۶۹. گیاهان دارویی. چاپ ششم. انتشارات دانشگاه تهران. جلد چهارم. ۶۲۵ ص.

سفید کن، ف.، صادق زاده، ل.، تیموری، م.، عسگری، ف.، احمدی، ش. ۱۳۸۶. بررسی اثرات ضد میکروبی اسانس دو گونه مرزه *Satureja bachtiarica* Bunge و *Satureja khuzistanica* Jamzad) در دو مرحله برداشت. تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. سال بیست و سوم، شماره ۲، صفحات ۱۸۲-۱۷۴.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2024-09-27]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1394.5.3.15.0]

شهسواری. ن.، برزگر. م.، سحری. م. ع. ۱۳۸۷. بررسی اثر آنتی اکسیدانی اسانس های آویشن شیرازی (*Zataria multiflora* Boiss) و زیره کوهی (*Bunium persicum* Boiss) در روغن سویا. هجدهمین همایش ملی علوم و صنایع غذایی مشهد.

عباسی. خ.، سفید کن. ف.، یمینی. ی. ۱۳۸۴. مقایسه بازده و ترکیب های اسانس دو گونه مرزه با استفاده از روش تقطیر و استخراج با سیال فوق بحرانی. تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران.سال بیست و یکم. شماره۳. صفحات ۳۰۷-۳۱۸.

قاسمی پیربلوطی، ع. ۱۳۸۸. گیاهان دارویی و معطر (شناخت و بررسی اثرات آنها). انتشارات دانشگاه آزاد اسلامی، صفحات ۵۴۲.

مومنی، ت.، شاهرخی نوبهار، ن. ۱۳۷۰. اسانس های گیاهی و اثرات درمانی آنها. انتشارات دانشگاه تهران. صفحات ۱۳۴.

هادیان، ج. ۱۳۸۸. بررسی تنوع ژنتیکی گونه های ایرانی *Satureja*. پایان نامه دکترای علوم باغبانی. دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران. ۱۸۰ص.

Amanlou, M., Dadkhah, F., Salehnia, A., Farsam, H., Dehpour, A.R. 2005. An anti-inflammatory and anti-nociceptive effects of hydroalcoholic extract of *Satureja khuzistanica* Jamzad extract. Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 8(1): 102-106.

Clark, L.S., Bowen, S.T. 1978. The genetic of *Artemia salina*. The Journal Heredity. 67: 385-388.

Costello, M.J., Fretwell, K., Read, P. 1993. Toxicity of sewage sludge to *Crangon crangon* and *Artemia salina*, with reference to other marine Crustacea. Aquatic Living Resources. 6(4) :351-356.

Dai, J., Mumper, R.J. 2010. Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. Molecules. 15: 7313-52.

Farsam, H., Amanlou, M., Radpour, M.R., Salehinia, A.N., Shafiee, A. 2004. Composition of the essential oils of wild and cultivated *Satureja khuzestanica* Jamzad from Iran. Flavour and Fragrance Journal. 19: 308-310.

Hanskell, C.M. 1995. Cancer treatment. 4th edition. W.B. Saunders Company. USA. pp: 31- 57.

Jamzad, Z.A. 1996. New species of the genus *Satureja* (Labiatae) from Iran. Iran Journal of Botany. 6: 215–218.

Mans, D.R.A., Schwartsmann, G. 2000. Anticancer drug discovery and development in brazil: Targeted plant collection as a rational strategy to acquire candidate anticancer compound. Oncologist. 5:185-98.

Mongelli, E., Martino, V., Coussio, J. 1996. Screening of Argentine medicinal plants using the Brine Shrimp Microwell Cytotoxicity assay. International Journal of Pharmacognosy. 34: 249-54.

Silva, T.M., Nascimento, R.J., Batista, M.B., Agra, M.F., Camara, C.A. 2007. Brine shrimp bioassay of some species of solanum from northeastern Brazil. Revista Brasileira de Farmacogn.17(21): 35-38.

Sorgeloos, P., Dehert, P., Candreva, P. 2001. Use of the brine shrimps, *Artemia spp*. in marine fish aviculture. Aquaculture. 200: 147-759.

Yousefzadi, M., Riahi-Madvar, A., Hadian, J., Rezaee, F., Rafiee, R., Biniaz, M. 2013. Toxicity of essential oil of *Satureja khuzistanica*: In vitro cytotoxicity and anti-microbial activity. Immunotoxicology. 11: 50-55.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2024-09-27]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1394.5.3.15.0]