

فصلنامه پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران
جلد ۲۰ شماره ۴، صفحه ۴۵۷-۴۶۸، (۱۳۸۳)

اثر فعالیت ضد باکتریایی اسانس *Salvia officinalis L.*

زهرا آبروش^۱، محمدباقر رضایی^۲ و فاطمه اشرفی^۳

چکیده

بسیاری از فرآورده‌های خام گیاهان دارویی به علت داشتن روغن فرار به‌طور مستقیم در پزشکی مصرف می‌شوند، ولی در بیشتر موارد روغنهای فرار را از مواد خام جدا نموده و به‌عنوان دارو بکار می‌برند. اسانس سرشاخه گلدار مریم گلی (*Salvia officinalis L.*) به روش تقطیر با آب استخراج و تأثیر آن بر روی ۴ گونه باکتری گرم مثبت و گرم منفی با نامهای: *Shigella sonnei*, *E.coli*, *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus* به روش چاهک مطالعه و ترکیبهای شیمیایی اسانس توسط دستگاههای کروماتوگرافی گازی GC و کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی (GC/MS) تجزیه و شناسایی شده و با محاسبه شاخصهای بازدارندگی روشن گردید که در مجموع ۱۰ ترکیب مختلف در اسانس مزبور شناسایی شد. عمده‌ترین ترکیبها α -pinene (۵/۵ درصد)، borneol (۹/۴ درصد)، α -humulene (۸/۴ درصد) و globulol (۹/۳ درصد) بود.

روغن فرار مؤثر در برابر سوسپانسیون باکتریهای فوق‌الذکر با تراکم 10^8 میکروارگانیسم در هر میلی‌لیتر تعیین گردیده تا میزان باکتری‌کشی آن مورد مطالعه قرار گیرد. فعالیت باکتری‌کشی اسانس سرشاخه گلدار مریم گلی بعد از مدت زمان ۴۸-۲۴ ساعت به‌صورت هاله‌های عدم رشدی مشاهده شد. قطر این هاله‌ها به ترتیب در مورد باسیلوس سرنوس ۴۰mm، باسیلوس آنتراسیس ۲۵ mm، شیگلا سونه‌ای ۲۴mm و اشرشیا کلی ۲۰mm به دست آمد.

E-mail: abravesh@rifr-ac.ir

- ۱- کارشناس ارشد مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع،
- ۲- عضو هیأت علمی مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع.
- ۳- عضو هیأت علمی دانشگاه آزاد اسلامی - واحد تهران شمال.

واژه‌های کلیدی: مریم گلی، باسیلوس سرئوس، باسیلوس آنتراسیس، شیگلا سونه‌ای، اشرشیاکلی

مقدمه

بخش بزرگی از بیماریهای عفونی در پزشکی به کثرت، وقوع و مسری بودن آنها در ارتباط با بهداشت عمومی نسبت داده می‌شود. گرچه موارد استثنایی وجود دارد، ولی بیماریهای عفونی را می‌توان آسانتر از هر گروه مهمی از اختلالات دیگر پیشگیری و درمان کرد (ملک‌زاده، ۱۳۶۸).

مریم گلی (*Salvia officinalis L.*) مهمترین گیاه دارویی متعلق به تیره نعناعیان (*Labiatae*) است که استفاده‌های درمانی آن به زمانهای خیلی دور بر می‌گردد. در قرون وسطی مردم آن را دارویی برای همه دردها دانسته، و اسانس‌گیری از آن نیز از همان زمان بین مردم معمول بوده است. طبای قدیم مانند *casin* و پزشکان معاصر مانند *Dr. H. Leclere* آن را در رفع ضعف مفرط با منشاء عصبی، ضعف اعصاب، خستگی عمومی، سرگیجه‌های عصبی، لرزش اندامها و فلج مؤثر تشخیص داده‌اند (زرگری، ۱۳۶۹).

از اسانس مریم گلی در صنایع عطرسازی (*Piccagha, 1997*) در صنایع غذایی (به‌عنوان چاشنی و طعم‌دهنده و از گلهای آن به‌عنوان نوعی نوشابه مانند چای (پس از انجام عمل قهوه‌ای شدن روی گل، ...)) (*Reineccius, 1996, Lambert Ortiz*) و صنایع دارویی (خاصیت کرم‌کشی، ضد اسپاسم، ضد قابض، ضد عفونی کننده، آنتی بیوتیک و به‌عنوان آرام بخش، محرک کبد و بهبود دهنده عمل هضم، ...) (*Odyminih, 1995*) استفاده‌های زیادی می‌شود.

فعالیت ضد میکروبی اسانس گیاهان بر روی میکروارگانیسم‌ها از دیر باز شناخته شده و مطالعات زیادی درباره‌ی گونه‌های مختلف گیاهی و تأثیر اسانس یا عصاره آنها روی میکروارگانیسم‌ها انجام شده است (رسولی، ا. ۱۳۷۷) (مطالعات *Roussis, 1996*)

تأثیرپذیری اشرشیاکلی و مقاومت استافیلوکوکوس اورئوس را در برابر روغنهای اسانس دار *Lamium garganicum* نشان داد.

در سالهای اخیر گزارش شده است که اسانس مریم گلی به خصوص برخی ترکیبهای موجود در آن از جمله، cineole-1,8, thujone, comphor دارای خاصیت ضد میکروبی، آنتی اکسیدان و ضد سرطان است (Piccagha & et al, 1997 و 1996 Carata & et al).

بیشتر گونه‌های جنس *Salvia* (*Labiatae*) از زمانهای بسیار دور در طب بکار می‌رفت. جنس *Salvia* دارای ترکیبهای بیولوژیکی فعالی هستند ترکیبهای جدا شده از ریشه‌های *Salvia miltiorrhiza* موجب مهارآدنیلات سیکلاز می‌شود که آنزیم مسؤل تولید AMP-سیکلیک و یک تنظیم کننده مهم هورمونی و فرستنده عصبی می‌باشد (Kohda et al, 1989). همچنین مطالعات زیادی درباره اثرات بیولوژیکی و ضد باکتریایی (Janssen et al; 1989, Gonzalez et al; 1990, Daris et al, 1989, 1987), , cytostatic (Daris et al, 1990) و ضد ویروسی (Tada et al, 1994) اسانس بدست آمده از گونه‌های *Salvia* و ترکیبهای اصلی آن انجام شده است. فعالیت ضد ویروسی *Salvia officinalis* مربوط به دی ترپنویدها می‌باشد.

فعالیت بیولوژیکی و کاربرد اسانس در صنایع مختلف به ترکیبهای شیمیایی موجود در آن بستگی دارد که خود تحت تأثیر عوامل محیطی، زمان برداشت، شرایط کشت، روشهای زراعت و اندام مورد اسانس‌گیری است (احمدی، ۱۳۷۲). در این تحقیق هدف مطالعه بررسی تأثیر اسانس گیاه مریم گلی بر روی شایع‌ترین باکتریهای دستگاه گوارش است که موجب عفونت می‌شوند. با توجه به بروز مقاومت‌های میکروبی از یک سو و علمی‌تر کردن موارد استفاده گیاهان دارویی، از سوی دیگر، نیاز به یافتن مواد ضد میکروبی ارزان و مؤثر بسیار ضروری است.

مواد و روشها

جمع‌آوری، خشک کردن و اسانس‌گیری گیاه

سرشاخه گلدار گیاه مریم‌گلی در اواخر فصل بهار ۱۳۸۱ از مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع جمع‌آوری شد و در محیط آزمایشگاه و در سایه خشک گردید و با آسیای برقی پودر شده و با روش تقطیر با آب اسانس‌گیری صورت گرفت. اسانس مورد نظر در شیشه‌های کوچک مخصوص اسانس نگهداری شد و برای کارهای میکروبی به آزمایشگاه میکروبیولوژی انتقال یافت.

تجزیه با دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC)

دستگاه کروماتوگراف گازی الگوی GC-9A Shimadzu مجهز به دتکتور FID (یونیزاسیون با شعله هیدروژن) و داده‌پرداز EuroChrom 2000 از شرکت Knauer آلمان، ستون DB-1 (غیر قطبی) به طول ۶۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلیمتر و ضخامت لایه فاز ساکن برابر ۰/۲۵ میکرون است. برنامه حرارتی ستون: دمای اولیه ۵۰ درجه سانتیگراد، دمای نهایی ۲۵۰ درجه سانتیگراد و سرعت افزایش دما برابر ۴ درجه سانتیگراد در دقیقه، دمای محفظه تزریق و آشکارساز به ترتیب ۲۵۰ و ۲۶۵ درجه سانتیگراد تنظیم شد.

تجزیه با دستگاه کروماتوگراف گازی متصل به طیف سنج جرمی (GC/MS)

دستگاه کروماتوگراف گازی الگوی Varian 3400 متصل به طیف سنج جرمی Saturn II، با سیستم تله‌یونی^۱ و با انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت. ستون مورد استفاده مانند ستون مورد استفاده در دستگاه GC می‌باشد. درجه حرارت ۴۰ تا ۲۵۰ درجه سانتیگراد با سرعت افزایش ۴ درجه سانتیگراد در دقیقه، درجه حرارت محفظه تزریق ۲۶۰ درجه سانتیگراد و دمای ترانسفرلاین ۲۷۰ درجه سانتیگراد تنظیم شده است. شناسایی طیفها به کمک شاخصهای بازداري آنها که با تزریق هیدروکربنهای نرمال (C₇-C₂₅) تحت شرایط یکسان با تزریق اسانسها و توسط برنامه کامپیوتری نوشته شده (زبان بیسیک) محاسبه شدند. و در ضمن مقایسه آنها با مقادیری که در منابع مختلف منتشر شده (Sandra و Bicchi، ۱۹۸۷ و Davies، ۱۹۹۸) صورت پذیرفت و نیز با استفاده از طیفهای جرمی ترکیبهای استاندارد، استفاده از اطلاعات موجود در کتابخانه ترپنوییدها در کامپیوتر دستگاه GC/MS تأیید شدند. محاسبه‌های کمی (تعیین درصد هر ترکیب) به کمک داده‌پرداز EuroChrom 2000 به روش نرمال کردن سطح^۱ و نادیده گرفتن ضرایب پاسخ^۲ مربوط به طیفها انجام شده است.

باکتریهای مورد مطالعه و روش بررسی اثر ضد میکروبی

محیطهای کشت میکروبی مورد استفاده عبارت بودند از: مولر هیتتون، نوترینت آگار (مرک، آلمان).

سویه‌های میکروبی *Bacillus PTCC 1010* *Bacillus cereus* PTCC 1015 *E. coli* PTCC 1037, *Shigella sonnei* PTCC 1235, *anthracis* برای مطالعه اثرات ضد میکروبی از روش چاهک استفاده شد. غلظت سوسپانسیون میکروبی با لوله شماره ۰/۵ مک فارلند به تعداد تقریبی $10^8 \times 1/5$ cfu/ml تعیین شد.

1- Ion trap

1- Area normalization method

2- Response factors

بعد از کشت میکروب مورد نظر را به صورت کشت متراکم (Slide culture) در سطح پلیتهایی با قطر ۸cm حاوی محیط کشت مولر هیتون آگار، چاله‌هایی به وسیله پیت پاستور استریل به قطر ۶ mm روی محیط کشت ایجاد کرده این چاله‌ها از یکدیگر و از لبه پیت با فاصله مناسب قرار گرفتند. سپس در محل این چاله‌ها با سمپلر استریل مقدار ۵۰ μ l از اسانس، درون چاله‌ها ریخته شد (هیچ حلالی بکار گرفته نشد). بعد از انجام این مراحل پلیتهای را در داخل انکوباتور و در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد قرار داده و بعد از مدت زمان ۴۸-۲۴ ساعت، قطر هاله‌های عدم رشد با خطکش مدرج اندازه‌گیری شدند (این آزمایش ۵ بار تکرار گردید).

نتایج

به منظور تعیین ترکیبهای شیمیایی و ارزیابی فعالیت ضد باکتریایی روغن فرار، اسانس سرشاخه گلدار مریم گلی به روش تقطیر با آب استخراج و فعالیت ضد میکروبی آن بر روی باکتریهای *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus*, *E. coli*, *Shigella sonnei* مورد مطالعه قرار گرفتند. تأثیر ضد میکروبی اسانس این گیاه به وسیله روش چاهک نسبت به چهار میکروارگانیزم فوق‌الذکر را نشان داد. در این تحقیق اسانس سرشاخه گلدار مریم گلی بر روی باسیلوس سرئوس بیشترین تأثیر را داشته است. در واقع باکتری گرم مثبت باسیلوس سرئوس نسبت به ۳ باکتری دیگر حساسیت بیشتری داشته است. ۳ باکتری باسیلوس آنتراسیس، شیگلا سونه‌ای و اشرشیا کلی نیز نسبت به اسانس سرشاخه گلدار مریم گلی حساسیت نشان داده‌اند. این حساسیتها که به صورت هاله‌های عدم رشد مشاهده می‌شوند به ترتیب در باکتری باسیلوس سرئوس (۲ \pm SD) ۴۰ mm، باسیلوس آنتراسیس (۱/۵ \pm SD) ۲۵ mm، شیگلا سونئی (۱ \pm SD) ۲۴ mm و در اشرشیاکلی (۱/۴ \pm SD) ۲۰ mm اندازه‌گیری شده است طبق نتایج بدست آمده

حساسیت باکتریهای گرم مثبت بسیار بیشتر از باکتریهای گرم منفی می‌باشد (نمودار شماره ۱).

تجزیه و شناسایی ترکیبهای اسانس سرشاخه گلدار مریم گلی (جدول شماره ۱) نشان می‌دهد که عمده‌ترین ترکیبهای اسانس سرشاخه گلدار مریم گلی عبارتند از: β pinene (16%)، α -thujone (16/4%)، α -pinene (5/5%)، camphene (5%)، α -humulene (5%) و globulol (9/3%)

بحث

سیورپولو و همکاران (1997) دریافتند که اسانس گیاه *Salvia fruticosa* تجزیه شده به وسیله GC و GC/MS نشان می‌دهد که میزان 1,8-cineole (47.48%)، thujone (11.93%) و camphor (9.04%) در میان تمام ترکیبهای اسانسی بیشترین مقدار را داشته است ترکیبهای thujone و 1,8-cineole در مقابل باکتری *E.coli* به روش دیسک (Disk Diffusion Assay) فعالیت ضد باکتریایی دارند، در حالی که camphor در مقابل این باکتری غیرفعال و بی‌اثر است سیورپولو و همکاران (1995) فعالیت ضدباکتریایی اسانس بعضی از گیاهان تیره نعناع را در مقابل باکتریهای گرم مثبت و گرم منفی نشان دادند. در این مطالعه نیز تأیید شد که فعالیت‌های ضد میکروبی اسانس بر روی میکروارگانیسم‌ها متغیر است.

اختلاف اثر روغنهای فرار بر عوامل بیماریزا نشان دهنده ترکیب شیمیایی متفاوت آنها نسبت به عوامل بیماریزا است. به نظر می‌رسد که تأثیر میکروب‌کشی اسانسها در ارتباط با ترکیبهای مونوترپنی باشد. ترکیبهای اصلی در اسانس *Salvia* منوترپن‌های کتونی شامل thujone, camphor می‌باشد (2002, Moretti MDL et al). اسانس *Salvia fruticosa* و *Salvia officinalis volatile* در مقابل رنج وسیعی از باکتریها از جمله *E.coli*, *Bacillus cereus* آزمایش شده و نشان دادند که دارای اثر ضد باکتریایی می‌باشند (2000, Final Repert June) نتایج محققان نشان می‌دهد که وجود camphor

thujone به میزان بالا موجب سمیت اسانس می‌شود. thujone به فعالیت ضد میکروبی پاسخ می‌دهد (www.ashburys.com/oil/eo-sage.htm).

فعالیت ضد میکروبی اسانس در مقابل گونه‌های *Salmonella*, *Klebsilla ozanne*, *E.coli*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* و *Shigella sonnei* تعیین شده است (www.ashburys.com/oil/eo-sage.htm). همچنین اسانس *Salvia officinalis* فعالیت ضد قارچی نیز دارد (www.ashburys.com/oil/eo-sage.htm). ترکیبهای *Salvin monomethyl ether* و *phenolic acids* دارای فعالیت ضد میکروبی به‌خصوص در مقابل *Staphylococcus aureus* است (www.ashburys.com/oil/eo-sage.htm). محققان در بریتانیا با تحقیقات جدیدشان دریافتند که در *Salvia officinalis* ترکیبهایی وجود دارد که موجب جلوگیری و معالجه الزایمر می‌شود مطالعات انجام شده در آلمان نشان می‌دهد که مصرف این گیاه به‌صورت نوشیدنی در معده خالی موجب کاهش قند خون در بیماران دیابتی می‌شود (2004, Gail Faith, E. February).

تحقیقات Balchin و همکارانش (1997) نشان می‌دهد که cineole - 1,8 قدرت میکروب‌کشی نداشته و از طرفی دیگر خاصیت ضد میکروبی گیاهان حاوی α -pinene را تأیید می‌کند. Bektas Tepe و همکاران (2003) فعالیت‌های ضد باکتریایی اسانس و عصاره‌های متانولی دو گونه *Salvia cryptantha* و *Salvia muticaulis* را به روش دیسک پلیت و انتشار چاهک بر روی باکتریهای باسیلوس سرئوس، اشرشیاکلی آزمایش کردند و مشاهده کردند که اسانس و عصاره متانولی این دو گونه اثر ضد باکتریایی مثبتی از خود نشان دادند وجود ترکیبهایی مانند borneol, α - pinene, camphor, 1,8 - cineole در این دو گونه و همچنین در گونه *Salvia officinalis* نشان می‌دهد که اثر ضد باکتریایی را می‌توان به این ترکیبها نسبت داد. 1,8- cineole و camphor ترکیبهای شیمیایی معروفی هستند که دارای توان ضد میکروبی می‌باشند.

(Tzakov, et al, 2001 و Pattnaik, et al, 1997). براساس یک گزارش، α -pinene (هیدروکربن منوترپن) و borneole (اکسیژنات منوترپن) فعالیت کندی در مقابل میکروارگانیسم‌ها دارند (Dorman and Deans, 2000). نتایج مقدماتی روی مواد تجاری به فعالیت قابل ملاحظه α -pinene در مقابل مخمرها اشاره می‌کند (اطلاعات منتشر نشده). اثرات ضد میکروبی borneol همچنین در جای دیگری گزارش شده بود (Vardar-Unlu et al, 2003; Tabanca et al, 2001; knobloch et al, 1989). بنابراین نتایج این یافته‌ها، فعالیت‌های ضد میکروبی اسانس *Salvia cryptantha*, *Salvia multicaulis* می‌تواند به camphor, 1,8-cineole و مشتقات borneole نسبت داده شود. در این مطالعه نیز اسانس مریم گلی حاوی (2%) 1,8-cineole، (5.5%) α -pinene و (16%) β -pinene، (2.9%) camphor، (9.4%) borneol و (5%) camphen است. با توجه به اینکه اسانس توانسته است خاصیت باکتری کشی نسبت به باسیلوس سرئوس، باسیلوس آنتراسیس، شیگلا سونه‌ای و اشرشیاکلی داشته باشد. می‌توان خاصیت باکتری کشی را در برابر ترکیب‌های مونوترپنی استنباط نمود.

جدول شماره ۱- چند ترکیب عمده شیمیایی موجود در اسانس

سرشاخه گلدار گیاه مریم گلی

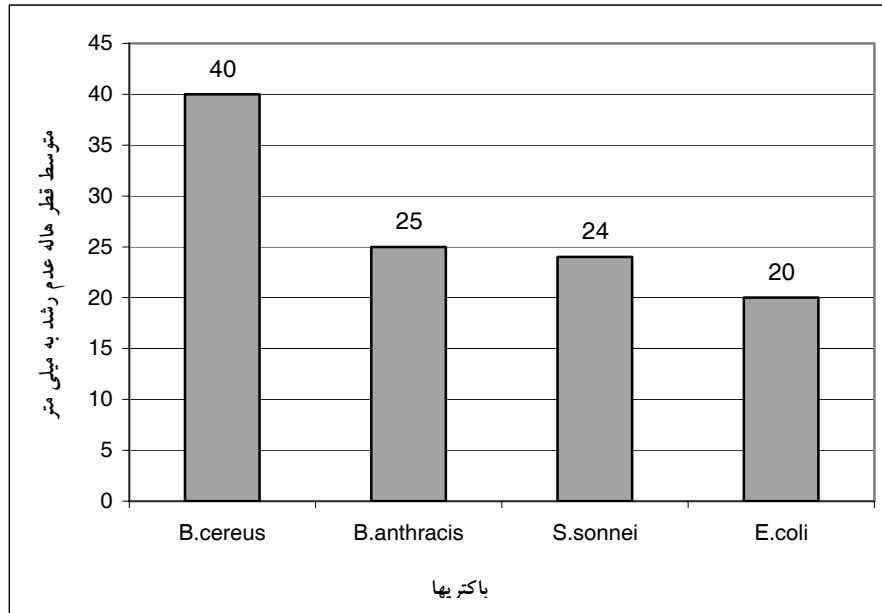
درصد	نام ترکیب	شاخص کواتس
۵/۵	α - pinene	۹۳۶
۵	Camphen	۹۴۶
۱۶	β -pinene	۹۷۴
۱/۷	Limonene	۱۰۲۶
۲	1,8 - cineole	۱۰۲۸
۶/۴	α - thujone	۱۱۰۳
۲/۹	Camphor	۱۱۴۱
۹/۴	Borneol	۱۱۶۵

۸/۴	α - humullen	۱۴۵۳
۹/۳	Globulol	۱۶۰۰

× شاخصهای بازداری با تزریق هیدروکربنهای نرمال (C₉-C₂₅) با ستون DB-1 محاسبه شده‌اند.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از مسئولان محترم مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع و آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی - واحد تهران شمال به منظور فراهم نمودن امکانات لازم جهت انجام این تحقیق قدردانی بعمل می‌آید.



نمودار شماره ۱- تأثیر ضد باکتریایی اسانس سرشاخه گلدارمریم گلی

منابع مورد استفاده

- احمدی، ل.، ۱۳۷۲. بررسی تأثیر مراحل مختلف رشد گیاه مریم گلی دارویی در تولید اسانس و ترکیبهای شیمیایی آن، تحقیقات گیاهان دارویی و معطر (۴)، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع، شماره انتشار ۲۱۲-۱۳۷۲، تهران.

- زرگری، ع.، ۱۳۶۹. گیاهان دارویی، جلد چهارم، صفحه ۶۱-۹۵، انتشارات دانشگاه تهران.
- ملک‌زاده، ف.، ۱۳۶۸. اصول طب داخلی هاریسون (بیماریهای عفونی باکتریها)، چاپ یازدهم، انتشارات شرکت سهامی چهر.
- رسولی، ا.، رضایی، م. ب.، ۱۳۷۷. ترکیب شیمیایی و فعالیت ضد باکتریایی اسانس آویشن (*ThymusX- porlock*) و گلپر (*Heracleum persicum*) مجله زیست‌شناسی ایران، جلد هفتم، شماره ۳ و ۴، چاپ ۷۹.
- Carata c. Morettim, D.L., & peana, A.T., 1996. Activity of the oil of *Salvia officinalis L.* Against *Botrytis cinerea*. J. Essen. oil Res., No8,399-404.
- Davies, N.W., 1998. Gas Chromatographic retention index of monoterpenes and sesquiterpenes on methyl and carbowax 20 M phases., J.Chromatography, 503, 1-24.
- Dorman. H.J.D., and Deans, S.G., 2000. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. Journal of Applied Microbiology 88, pp. 308-316. Abstract - Medline Abstract- Geobase Abstract-Biotechnobase Abstract-Embase Abstract- Elsevier Biboase full text via CrossRef
- Knobloch, K., Pauli, A., Iberi, B., Wegand H., and Weis, N., 1989. Antibacterial and antifungal properties of essential oil components. Journal of Essen. oil Res., 1, pp. 119-128.
- Lambert Ortiz, E., 1996. Encyclopedia of herbs, spices & Flavourings. Dorling Kinderslej, p 48-9
- Lis- Balchin, N., Deans.G., and Eaglesham. E.,1997. Relationship between bioactivity and chemical composition of commerical essential oils. Flavour and Fragr.J., 13: 98-104.
- Odyminh.p.,1995. Complete medicinal herbal, Dorling Kindersley, p95.
- Pattnaik, S., Subramanyam, V.R., Bapaji M., and Kole, C.R., 1997. Antibacterial and antifungal activity of aromatic constituents of essentialoils. Microbios 89, pp.39-46. Abstract-Medline
- Piccaggha, R., Marithi, M., & Dellaceae ,V., 1997. Effect of planting density & harvest date on yield & chemical composition of sage oil. J. Essen. oil Res., No 9, 187-191.
- Reineccius ,G., 1994. Source book of flavors, Chapman & hall.p 389.
- Roussis , V., 1996. Idetification and bacteriostatic activity of the essential oil of *Lamium garganicum L. ssp. Lavigatum Arcangeli*. J. Essen. oil Res.8: 291-293.

- Sandra, P.; Bicchi, C., 1987. Chromatographic method, capillary gas chromatography in essential oil analysis .,Chapter 8, Retention indices in essential oil analysis, p.259-274.
- Sivropolulov, A., Skokini, Thlanaros and Arsenakas. M., 1995. Antimicrobial activity of mint essential oil, j. Agric food chem. 43, 2334-2388.
- Tabanca, N., Krmer, B., Demirc F., and Baser, K.H.C., 2001. Composition and antimicrobial activity of the essential oils *Micromeria cristata* subsp. *Phyrgia* and the enantiomeric Medline Full text via CrossRef - Tepe,B., - - Donmez, E., Unlu. M., Candan, F., Daferera, D., Vardar-Unlu, G., Polissiou, M., and Sokmen, A., 2004. Antimicrobial and antioxidative activities of the essential oils and methanol extracts of *Salvia cryptantha* (Montbretet Aucher ex Benth.) and *Salvia multicaulis* (Vahl), Food Chemistry. P.519-525.
- Tzakou, O., Pitarokili, D., Chinou and Harvala C., 2001. Compisition and antimicrobial activity of the essential oil of *Salvia ringens*. Planta Medica 67, pp. 81-83. Abstract-Medline Abstract- Beilstein Abstracts Abstract-Elsevier Biobase Abstract- Embase full text via CrossRef
- Vardar -Unlu, G., Candan, F., Sokmen, A., Daferera, D., Polissiou, M., Sokmen, M., Donmez E., and Tepe, B., 2003. Antimicrobial and antioxidant activity of the essential oil and methanole extracts of *Thymus pectinatus* Fish. et Mey. Var. *pectinatus* (Lamiaceae). Journal of Agricultural and Food Chemistry 51, pp.63-67. Abstract- Medline full text via CrossRef - www.ashburys.com/oil/eo-sage.htm.