Medical Journal of Tabriz University of Medical Sciences and Health Services
Vol. 36, No. 6, Feb. – Mar. 2015, Pages: 74-79

Antibacterial Effects of Different Fractions of Extract of *Falcaria vulgaris* Bernh Fruits and Bioautography of Its Effective Fraction

Mohammad Hassan Moshafi[1], Mitra Mehrabani[2], Simin Mahdikhani[3], Fereshteh Saffari[4*]

[1]Department of Pharmaceutics, School of Pharmacy, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran
[2]Department of Pharmacognosy, School of Pharmacy, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran
[3] Pharmacists
[4] Department of Microbiology, School of Medicine, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran

Received: 19 Aug, 2013 Accepted: 4 Nov, 2013

Abstract

Background and Objectives:*"Ghaze-yaghi"* with scientific name of *Falcaria Vulgaris* Bernh has different uses in Iranian traditional medicine such as treatment of skin trauma, gastric and liver disorders. In this study, antibacterial effects of different extract of *Falcaria Vulgaris* fruits were investigated.

Materials and Methods: Methanolic extraction of the fruits of was fractionated using different solvents including petroleum ether, dichloromethane and ethyl acetate. After drying and concentrating minimum inhibitory concentration (MIC) of crude extract was determined using agar dilution method. Disk diffusion method was used to study antibacterial effects of fractions against 8 standard bacterial strains. Constituent compounds of the most effective fraction were separated on silica gel chromatography plates, using thin layer chromatography (TLC) method. Then chromatograms were analyzed using immersion bioautography.

Results: According to disk diffusion method, ethyl acetate fraction was the most effective extract. In bioautography of this fraction, antibacterial effect against *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Klebsiella pneumonia* and *Pseudomonas aeroginosa* was appeared in $R_{f:}$ 0.9. In addition, *S. aureus* and *S. epidermidis* dishes did not show any growth in the site of fraction loading.

Conclusion: Some components in ethyl acetate fraction of *Falcaria Vulgaris* Bernh have synergism effects against gram positive bacteria (*S.aureus, S.epidermidis*), while they show antagonistic effects against gram negative ones *(K.pneumonia, P.aeroginosa*).

Keywords: *Falcaria vulgaris* Bernh extract, antibacterial activity, bioautography

***Corresponding author:**
E-mail: fereshtesaffari@yahoo.com

مقاله پژوهشی

اثرات ضد باکتریایی فراکسیون های مختلف عصاره میوه غازیاقی (*Falcaria vulgaris* Bernh) و بیواتوگرافی فراکسیون موثر آن

محمد حسن مصحفی[۱]، میترا مهربانی[۲]، سیمین مهدی خانی[۳] ، فرشته صفاری[۴*]

[۱]گروه فارماسیوتیکس، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران
[۲]گروه فارماکوگنوزی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران
[۳]دکتر داروساز
[۴]گروه میکروبشناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران

دریافت: ۹۲/۵/۲۸ پذیرش: ۹۲/۸/۱۳

چکیده

زمینه و اهداف: گیاه "غازیاقی" با نام علمی *Fulcaria vulgaris* Bernh. یک گیاه بومی ایران است که در طب سنتی کاربردهای مختلفی از جمله درمان زخم های پوستی، مشکلات معدی و بیماریهای کبدی دارد. در این مطالعه تجربی، اثرات ضد باکتریایی عصاره میوه گیاه غازیاقی بر روی هشت سویه استاندارد باکتری بررسی شد.

مواد و روش ها: ابتدا عصاره گیری متانولی از میوه گیاه مورد آزمایش انجام شد. پس از تغلیظ و خشک کردن عصاره بدست آمده، با استفاده از حلال های مختلف شامل پترولئوم اتر، دی کلرو متان و اتیل استات، فراکسیون های مختلفی تهیه شدند. حداقل غلظت مهار کننده از رشد (MIC)، با استفاده از روش رقیق سازی در آگار ابتدا بر روی عصاره تام تعیین شد. سپس به دلیل ناکافی بودن مقدار فراکسیون ها، از روش انتشار از دیسک برای بررسی اثر ضد میکروبی آنها استفاده شد. در ادامه ترکیبات سازنده موثرترین فراکسیون به روش کروماتوگرافی لایه نازک (TLC)، و بر روی صفحات کروماتوگرافی سیلیکاژل، جداسازی شدند. سپس کروماتوگرام ها با روش بیواتوگرافی تعلیقی بر روی سویه های مورد نظر مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته ها: بر اساس نتایج حاصل از روش انتشار از دیسک، اثر مهاری فراکسیون اتیل استاتی بیش از سایرین بود. در بیواتوگرافی این فراکسیون، اثر ضد میکروبی علیه *استافیلوکوکوس اورئوس*، *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس*، *کلبسیلا پنومونیه* و *سودوموناس ائروژینوزا* در محدوده R_f : ۰/۹ ظاهر شد. در ضمن، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* در محل کاشت فراکسیون نیز فاقد رشد بودند.

نتیجه گیری: برخی ترکیبات موجود در فراکسیون اتیل استاتی، اثر هم افزایی در مهار رشد باکتری های گرم مثبت (*استافیلوکوکوس اورئوس* و *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس*) دارند در حالی که بر روی باکتری های گرم منفی (*سودوموناس ائروژینوزا* و *کلبسیلا پنومونیه*) اثر آنتاگونیستی از خود نشان می دهند.

کلید واژه ها: عصاره غازیاقی، فعالیت ضد میکروبی، بیواتوگرافی

* ایمیل نویسنده رابط: fereshtesaffari@yahoo.com

مقدمه

امروزه ظهور میکروارگانیزم های بیماریزا با مقاومت آنتی بیوتیکی چندگانه، به عنوان یک تهدید جهانی، کارایی بالینی بسیاری از آنتی بیوتیک های رایج را مورد تهدید قرار داده است. به علاوه اثرات جانبی ناشی از مصرف داروهای شیمیایی، دست یابی به گیاهان دارای خواص ضد میکروبی را بیش از پیش مورد توجه محققین قرار داده است (۱-۲). ایران یکی از غنی ترین کشورها از نظر دارا بودن منابع بالقوه گیاهان دارویی است. استفاده از گیاهان به صورت خام و یا فراورده های آنها در درمان عفونت ها، سابقه ای طولانی نزد ایرانیان دارد. هر چند قدمت استفاده از گیاهان دارویی در بسیاری از نقاط دیگر جهان نیز به قرن ها پیش بر می گردد.

گیاه غازیاقی (*Falcaria vulgaris* Bernh) از خانواده چتریان، در طب سنتی غرب کشور، به عنوان پاک کننده کلیه و مثانه و در درمان زخم معده و دوازدهه استفاده می شود و پودر آن به صورت موضعی در التیام زخم ها کاربرد دارد (۳-۴). در بررسی های انجام شده، تاثیر آن در گشاد کنندگی عروق کرونری موش صحرایی (۵) و خاصیت ضد باروری آن (۶) به اثبات رسیده است. همچنین اثر بهتر عصاره الکلی ۵٪ نسبت به پودر خشک شده این گیاه، در تسریع بهبود بریدگی های پوستی عمیق در موش صحرایی اثبات شده است (۷).

در بین تحقیقات انجام شده بر روی خاصیت ضد میکروبی این گیاه، تنها یک مورد و آن هم بر روی اسانس آن گزارش شده (۸) که در آن، خاصیت ضد باکتریایی ونیز آنتی اکسیدانی اسانس حاصل از گل، برگ و ریشه این گیاه اثبات شد. با توجه به نتایج تحقیقات به عمل آمده، بررسی خصوصیات ضد میکروبی عصاره این گیاه ضروری به نظر می رسید.

هدف از این تحقیق، بررسی اثر ضد میکروبی فراکسیون های مختلف عصاره میوه این گیاه به دو روش رقت در آگار و انتشار از دیسک و به دنبال آن، بیواتوگرافی تعلیقی به منظور شناسایی مقدماتی ترکیبات موثر می باشد.

مواد و روش ها

گیاه مورد استفاده: گیاه غازیاقی از منطقه بافت کرمان جمع آوری و پس شناسایی و تایید توسط گیاه شناس، در دمای اتاق، خشک شده و سپس مورد استفاده قرار گرفت در این تحقیق از میوه این گیاه استفاده شد.

عصاره گیری متانولی: پودر گیاهی با متانول ۸۰٪ به مدت ۴۸ ساعت (سه مرتبه) خیسانده شد. عصاره حاصل با استفاده از دستگاه تقطیر در خلا چرخان (فراز طب تجهیز- ایران) در حرارت ۴۵ درجه تغلیظ و به مدت سه روز تا خشک شدن کامل در دمای ۴۵ درجه آون، نگهداری شد (۹).

تهیه فراکسیون های گیاه: عصاره گیاه خشک همراه با پترولئوم اتر به مدت نیم ساعت در حرارت ۳۰ درجه، در دستگاه سونیکاتور قرار گرفت. به تفاله حاصل از صاف شدن عصاره، مجددا پترولئوم اتر اضافه شده و در سونیکاتور گذاشته شد. این مراحل تا ۵ مرتبه تکرار و عصاره نهایی به دست آمده (فراکسیون پترولئوم اتری)، به وسیله دستگاه تقطیر در خلا چرخان، در حرارت ۴۵ درجه تغلیظ گردید. به منظور تهیه فراکسیونهای دی کلرومتانی و اتیل استاتی ، مراحل فوق، بر روی تفاله باقی مانده از مرحله قبلی و به ترتیب با استفاده از دی کلرومتان و اتیل استات انجام شد. تفاله باقی مانده نهایی، فراکسیون باقی مانده متانولی می باشد.

بررسی اثرات ضد باکتریایی: در مجموع هشت سویه استاندارد باکتریایی، تهیه شده از مرکز پژوهش های علمی- صنعتی ایران، مورد استفاده قرار گرفت:

استافیلوکوکوس اورئوس (PTCC 1112)، *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس*(PTCC 1114)، *باسیلوس سابتیلیس* (PTCC 1023)، *باسیلوس لیکنی فرمیس*(PTCC 1320)، *کلبسیلا پنومونیه* (PTCC 1053)، *سودوموناس ائروژینوزا* (PTCC 1074)، *اشریشیا کلی* (PTCC 1330) و *سالمونلا تیفی* (PTCC 1639).

تعیین حداقل غلظت مهار کننده رشد (MIC):جهت تعیین کمترین غلظت مهار کننده از رشد، از روش رقت در آگار استفاده شد (۱۰). به این منظور، رقت های های مختلف عصاره تام با محیط کشت مذاب مولر هینتون آگار مخلوط و به پلیت های استریل منتقل شد. پس از جامد شدن محیط، ۵ میکرولیتر از رقت ۱:۱۰۰ سوسپانسیون های میکروبی با غلظت استاندارد نیم مک فارلند، به پلیت ها تلقیح و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه گرما گذاری شد. در اینجا از دی متیل سولفوکسید (DMSO) به عنوان کمک حلال استفاده شد. به منظور اطمینان از رشد باکتری ها و عدم اثر ضد باکتریایی DMSO، از همان غلظت درصد مورد استفاده به عنوان کمک حلال، به عنوان کنترل استفاده شد. در ضمن غلظت ۷/۸۱۲ میکروگرم درلیتر جنتامایسین به عنوان شاهد مثبت به کار رفت.

تعیین قطر هاله عدم رشد به روش انتشار از دیسک: از هر یک از عصاره های تام، پترولئوم اتری، دی کلرومتانی، اتیل استاتی و باقیمانده متانولی، ۱۵ میلی گرم بر روی دیسک های کاغذی استریل تلقیح شد. این دیسک ها با فواصل مناسب بر روی پلیت های مولر هینتون آگار ی که سطح آنها به طور یکنواخت با غلظتی معادل استاندارد نیم مک فارلند ($۱/۵ \times ۱۰^{۸}$) از هر یک از سویه های میکروبی پوشانده شده بود، قرار داده شدند. پس از گرما گذاری، قطر هاله عدم رشد در اطراف هر یک از دیسک ها، اندازه گیری شد (۱۱-۱۲). این آزمایش برای هر یک از سویه ها، سه بار تکرار و نتایج به صورت میانگین گزارش شد.

بیواتوگرافی تعلیقی: اولین مرحله، یافتن یک سیستم حلال مناسب جهت جدا کردن فراکسیون های موجود در عصاره اتیل استاتی بود. به این منظور، سیستم های حلال زیر مورد بررسی قرار گرفت و در نهایت، سیستم شماره ۷، دارای بهترین قدرت جداسازی تشخیص داده شد:

۱- سیستم حلال اتیل استات: اسید فرمیک: اسید استیک: آب (۲۶: ۱۱ : ۱۱ : ۱۰۰)
۲- سیستم حلال اتیل استات: اسید فرمیک: اسید استیک: اتیل متیل کتون: آب (۱۰ : ۳۰ : ۳ : ۷ : ۵۰)
۳- کلروفرم: استون: اسید فرمیک (۸/۵ : ۱۶/۵ : ۷۵)
۴- کلروفرم: اتیل استات (۴۰ : ۶۰)
۵- کلروفرم
۶- بنزن: پیریدین: اسید فرمیک (۱۰ : ۱۸ : ۷۲)
۷- بوتانول: اسید استیک: آب (۵۰ : ۱۰ : ۴۰)
۸- اتیل استات: کلروفرم: اسید استیک (۱۰ : ۵۰ : ۴۰)
۹- اتیل استات: کلروفرم: متانول (۱۰ : ۵۵ : ۳۵)
۱۰-اتیل استات: کلروفرم: متانول (۱۵ : ۵۳ : ۳۲)
۱۱-اتیل استات: تری فلورو استیک اسید: متانول: آب (۱ : ۰/۴ : ۰/۰۴ : ۹)

۱۲-اتیل استات: تری فلورو استیک اسید: متانول: آب (۰/۵ : ۰/۴ : ۹ : ۰/۱)
۱۳-اتیل استات: تری فلورو استیک اسید: آب (۲۶ : ۰/۰۵ : ۱۰۰)
۱۴-اتیل استات: تری فلورو استیک اسید: متانول: آب (۰/۵ : ۰/۵ : ۹ : ۰/۱۵)
۱۵-بوتانول: تری فلورو استیک اسید: آب (۵ : ۰/۰۴ : ۴)

جداسازی اجزای عصاره اتیل استاتی با کمک سیستم حلال بوتانول: اسید استیک : آب (۵۰ : ۱۰ : ۴۰) به روش کروماتوگرافی لایه نازک (TLC) به کمک صفحات کروماتوگرافی سیلیکاژل GF_{254} (شرکت Merck، آلمان)، انجام گرفت (شکل ۱). پس از سرد شدن و تبخیر کامل حلال، کروماتوگرام ها در داخل محیط مولر هینتون آگار مذاب که با رقت ۱۰۰ : ۱ از سوسپانسیون نیم مک فارلند میکروبی تلقیح شده بود، غوطه ور شدند. این صفحات در داخل پتری دیش های حاوی محیط کشت جامد، گذاشته شده و پس از ۴۸ ساعت نگه داری در یخچال، به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد، گرماگذاری شده و سپس معرف دهیدروژناز (INT; *p*-iodonitrotetrazolium violet)، بر روی صفحات، اسپری و مجددا ۳ ساعت گرماگذاری شدند (۱). تشکیل لکه شفاف بر روی زمینه ارغوانی، نشانه حضور ترکیب ضد باکتریایی است. در ادامه R_F (نسبت فاصله پیموده شده توسط ترکیب ضد باکتریایی از مبدا، به میزان حرکت حلال از مبدا)، تعیین شد. آنالیز داده ها با محاسبه میانگین و انحراف معیار انجام شد.

یافته ها:

تعیین MIC: پایین ترین میزان MIC عصاره تام، برای *استافیلوکوکوس اورئوس*، *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس*، *سالمونلا تیفی* و *باسیلوس لیکنی فرمیس* ۸۰۰۰ میکروگرم در میلی لیتر به دست آمد. این میزان در مورد *سودوموناس ائروژینوزا* و *باسیلوس سابتیلیس*، ۱۶۰۰۰ میکروگرم در میلی لیتر و برای *اشریشیا کلی* و *کلبسیلا پنومونیه*، ۳۲۰۰۰ میکروگرم در میلی لیتر بود.

تعیین اثر ضد میکروبی به روش انتشار از دیسک: از آنجا که مقادیر فراکسیون های به دست آمده برای تعیین MIC کافی نبود، لذا از روش انتشار از دیسک، جهت بررسی اثر ضد میکروبی آنها استفاده شد. نتایج در جدول ۱ نشان داده شده است:

نتایج بیواتوگرافی: نتایج حاصله از روش انتشار از دیسک نشان داد که بهترین اثرضد میکروبی مربوط به عصاره اتیل استاتی است. پس از جداسازی اجزای این فراکسیون بر روی کروماتوگرام ها، بیواتوگرافی انجام شده و R_f لکه ها (جدول ۲)، تعیین شد (شکل۲).

بحث

ترکیبات ضد میکروبی به دست آمده از گیاهان، با مکانیزم‌هایی متفاوت باکتری ها را حذف می‌کنند که این مسئله در درمان عفونت های ناشی از سویه های مقاوم میکروبی حائز اهمیت است. با توجه به رویکرد دوباره برای مصرف داروها و فراورده های گیاهی، بررسی خواص دارویی گیاهان اندمیک هر منطقه از اهمیت خاصی برخوردار است. مطالعات انجام شده نشان داده است که بسیاری از گیاهان خانواده چتریان دارای اثرات ضد میکروبی می باشند (۱۳). در این تحقیق، گیاه غازیاقی از همین خانواده مورد بررسی قرار گرفت. مقایسه نتایج روش انتشار از دیسک، نشان داد که اثر ضد باکتریایی (میانگین قطر هاله عدم رشد) فراکسیون اتیل استاتی که ترکیبات فنلی و فلاونوئید های نسبتا غیر قطبی را جدا می کند بیشتر از سایر عصاره هاست. این یافته با نتایج سایر مطالعات مبنی بر اینکه مواد دارای خواص ضد میکروبی عمدتا به صورت غیر قطبی در طبیعت موجودند، سازگار است (۱). در روش اتوبیوگرافی نیز از این عصاره برای بررسی بیشتر ترکیبات سازنده استفاده شد. هرچند در روش انتشار از دیسک، اثر ضد میکروبی این عصاره بر روی تمامی سویه های مورد آزمایش، مشاهده شد اما در روش بیواتوگرافی، این عصاره بر روی تمامی سویه ها اثر ضد میکروبی نشان نداد.

جدول ۱: میانگین قطر هاله عدم رشد فراکسیون های مختلف گیاه (میلی متر) ± انحراف معیار، بر روی سویه های استاندارد میکروبی پس از سه بار تکرار آزمایش به روش انتشار از دیسک

سویه باکتری	عصاره تام	فراکسیون پترولئوم اتری	فراکسیون دی کلرومتانی	فراکسیون اتیل استاتی	فراکسیون باقیمانده متانولی
استافیلوکوکوس اورئوس	۱۵/۳ ± ۱/۲	۱۳ ± ۲/۶	۱۳/۳ ± ۱/۲	۱۸ ±۱	۱۷/۳ ± ۰/۶
استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس	۶/۷ ± ۰/۶	۷/۳ ± ۰/۶	----------	۱۰/۳ ± ۰/۶	۷/۳ ± ۰/۶
باسیلوس سابتیلیس	۷/۳ ± ۰/۶	۹/۳ ± ۰/۶	----------	۸ ± ۱	۷/۳ ± ۰/۶
باسیلوس لیکنی فرمیس	۱۰ ± ۱/۷	۱۰/۳ ± ۰/۶	۹/۳ ± ۱/۵	۱۴/۳ ± ۱/۲	۷/۳ ± ۱/۵
اشریشیا کلی	----------	----------	----------	۱۰/۳ ± ۰/۶	----------
کلبسیلا پنومونیه	----------	----------	----------	۸ ± ۱	----------
سودوموناس ائروژینوزا	----------	۱۳/۳ ± ۱/۵	۱۰/۳± ۰/۶	۸/۳ ± ۰/۶	۱۲ ± ۱
سالمونلا تیفی	۱۰ ± ۱	----------	----------	۱۱/۳ ± ۱/۲	۱۰/۳ ± ۰/۶

جدول ۲: R_f هر یک از سویه های باکتریایی پس از انجام اتوبیوگرافی بر روی فراکسیون اتیل استاتی

سویه باکتری	R_f
استافیلوکوکوس اورئوس	۰/۹ و در محل کاشت
استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس	۰/۹ و در محل کاشت
باسیلوس سابتیلیس	ــــــــــ
باسیلوس لیکنی فرمیس	ــــــــــ
اشریشیا کلی	ــــــــــ
کلبسیلا پنومونیه	۰/۹
سودوموناس ائروژینوزا	۰/۹
سالمونلا تیفی	ــــــــــ

شکل ۱: جداسازی اجزای فراکسیون اتیل استاتی توسط سیستم حلال بوتانول : اسید استیک : آب به روش TLC

شکل ۲: بیو اتوگرافی فراکسیون اتیل استاتی و نواحی مربوط به عدم رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* در مقایسه با کروماتوگرام شاهد

کم بودن غلظت ترکیب فعال و جدا شدن آن بر روی صفحه TLC ، تبخیر و یا اکسیداسیون نوری می تواند توجیه کننده این مسئله باشد (۱). به علاوه، از آنجا که در باکتری های گرم مثبت (*استافیلوکوکوس اورئوس*، *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس*)، در محل کاشت فراکسیون نیز لکه ضدمیکروبی مشاهده شد، می توان چنین استدلال کرد که برخی از ترکیبات موجود در فراکسیون اثر هم افزایی دارند. به علاوه می توان چنین گفت که برخی ترکیبات در نفوذ بهتر ترکیب دارای اثر ضد میکروبی به درون سلول باکتری نقش دارند. در مقابل، در مورد باکتری های گرم منفی (*کلبسیلا پنومونیه* و *سودوموناس ائروژینوزا*)، اثر آنتاگونیستی در میان ترکیبات دیده می شود چرا که با جدا شدن ترکیبات از طریق سیستم حلال، اثر ضد میکروبی دیده می شود. اختلاف دیواره سلولی باکتری های گرم مثبت و گرم منفی در ایجاد این وضعیت، می تواند دخیل باشد. لذا خالص سازی و شناسایی بیشتر این ترکیبات به توجیه دقیق تر این مسئله کمک خواهد کرد که در مطالعات بعدی می بایست مد نظر قرار گیرد. در این تحقیق، تمام عصاره های گیاهی به صورت تازه و با فاصله کمی از زمان تهیه مورد آزمایش قرار گرفتند و لذا مشخص نیست که آیا گذشت زمان تاثیری بر نتایج حاصله خواهد داشت یا نه. به علاوه نتایج این مطالعه در محیط آزمایشگاه (in vitro)، به دست آمده و استفاده کاربردی از آن، نیازمند انجام بررسی های بیشتر در شرایط درون تنی (in vio) و در نظر گرفتن اثرات سمی و عوارض جانبی احتمالی آن می باشد.

نتیجه گیری

به طور کلی می توان گفت که ترکیبات سازنده فراکسیون اتیل استاتی اثرات ضد باکتریایی متفاوتی بر روی باکتری های گرم مثبت و گرم منفی نشان می دهند ولی تاثیر آن ها بر روی گرم مثبت ها بیشتر است.

References

1. Suleimana M, McGaw LJ, Naidoo V, Eloff JN. Detection of antimicrobial compounds by bioautography of different extracts of leaves of selected South African tree species. *Afr J Trad CAM*. 2010; **7**(1): 64-78.
2. Parekh J, Chanda SV. In vitro antimicrobial activity and phytochemical analysis of some Indian medicinal plants. *Turk J Biol* 2007; **31**(1): 53-58.
3. Khazaei M, Salehi H. Protective effect of *Falcaria vulgaris* extract on ethanol induced gastric ulcer in rat. *IJPT* 2006; **5**(1): 43-46.
4. Salehi H, Khazaei M, Gh R, Gh B, Izadi B. Microscopical evaluation of protective effect of gazayagi (*Falcaria vulgaris*) extract on ethanol induced gastric ulcer in rat. *IJPR* 2010; **3**(2): 59-61.
5. Shakibaei D, Goudini A. Effect of *Falcaria vulgaris* hydro-alcoholic extract on isolated rat heart. *Behbood* 2007; **11**(3): 237-244.
6. Yadegari M, Khazaei M, Hamzavi Y, Toloei AR. Antifertility effects of *Falcaria vulgaris* in female rat. *Arak Medical University Journal* 2011; **14**(2): 94-99.
7. Shakibaie D, Pasharavesh L, Khoshboo S, Kaboodi B. The Effect of the" *Falcaria vulgaris*" on deep skin wound remodeling time and skin tension power in rats. *Journal of Kermanshah University of Medical Sciences* 2006; **10**(3): 45-48.
8. Shafaghat A. Free radical scavenging and antibacterial activities, and GC/MS analysis of essential oils from different parts of Falcaria vulgaris from two regions. *Natural product communications* 2010; **5**(6): 981-917.

9. Moshafi MH, Mehrabani M, Zolhasab H. Antibacterial activity studies of *Salvia Mirzayanii* and *Salvia Atropatana* against six standard gram-positive and gram-negative bacteria. *Journal of Kerman University of Medical Sciences* 2004; **11**(2): 109-118.
10. Chomnawang MT, Surassmo S, Nukoolkarn VS, Gritsanapan W. Antimicrobial effects of Thai medicinal plants against acne-inducing bacteria. *J Ethnopharmacol* 2005; **101**(1-3): 330-333.
11. Onyeagba R, Ugbogu O, Okeke C, Iroakasi O. Studies on the antimicrobial effects of garlic (Allium sativum Linn), ginger (Zingiber officinale Roscoe) and lime (Citrus aurantifolia Linn). *Afr J Biotechnol* 2005; **3**(10): 552-554.
12. Dulger B, Gonuz A. Antimicrobial activity of certain plants used in Turkish traditional medicine. *Asian J Plant Sci* 2004; **3**(1): 104-107.
13. Jalali M, Abedi D, Asghari G, Rezaie Z. A study of anti-microbial effect of pycnocycla spinosa's fruit extracts. *Journal of Mazandaran University of Medical Sciences* 2007; **17**(59): 76-86.