

اثرات ضد قارچی اسانس گیاه ساتوریا خوزستانیکا منطقه لرستان به روش *invitro*

اصغر سپهوند^۱، پریوش کرد بچه^۲، بهرام دلفان^۳، فریده زینی^۴، سید جمال هاشمی^۵، محمود محمودی^۶

۱- عضو هیئت علمی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان (گروه انگل شناسی)

۲- دانشیار - عضو هیئت علمی دانشگاه علوم پزشکی تهران (گروه فارماکولوژی)

۳- استاد یار - عضو هیئت علمی دانشگاه علوم پزشکی لرستان

۴- استاد - عضو هیئت علمی دانشگاه علوم پزشکی تهران

۵- استاد یار - عضو هیئت علمی دانشگاه علوم پزشکی تهران

۶- استاد - عضو هیئت علمی دانشگاه علوم پزشکی تهران

یافته / دوره هفتم / شماره ۲ / تابستان ۸۴ / مسلسل ۲۵

چکیده

دریافت مقاله: ۸۴/۱/۲۸، پذیرش مقاله: ۸۴/۳/۸

*** مقدمه:** با توجه به محدود بودن داروهای ضدقارچی، عوارض جانبی ناخواسته آنها و ظهورسوسشهای مقاوم به دارو، تحقیق و پژوهش برای یافتن داروهای ضد قارچی جدید با عوارض جانبی کمتر، لازم و ضروری می نماید. در این پژوهش اثرات ضد قارچی اسانس گیاه ساتوریا خوزستانیکا که بومی استان لرستان است بر روی ده قارچ کپکی و مخمر مورد ارزیابی قرار گرفت.

*** مواد و روش ها:** جهت تهیه اسانس گیاه ساتوریا خوزستانیکا عملیات اسانس گیری با روش تقطیر با آب و دستگاه کلونجر انجام شد. محیط های سابورو دکستروز آگار حاوی غلظتهای گوناگونی از اسانس، برای بررسی در ماتوفیتها و ساپروفیتها تهیه و میانگین قطر رشد کلنی ها، پس از ۷ و ۱۴ روز اندازه گیری شد. در بررسی مخمر کریبتوکوکوس نئو فورمنس دیسکها با غلظتهای گوناگون تهیه و میانگین قطرهای عدم رشد پس از ۷ و ۱۴ روز اندازه گیری گردید. اطلاعات حاصله بوسیله نرم افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند.

*** یافته ها:** نتایج این بررسی نشان داد که غلظت $\geq 2\text{mg/ml}$ اسانس مرزه خوزستانی، رشد « تریکو فایتون متناگروفیتس، میکروسپیوروم جیپسئوم و اپیدرموفایتون فلوکوزوم» و غلظت $\geq 6\text{mg/ml}$ رشد « آسپرژیلوس فومیگاتوس، آسپرژیلوس فلاووس، فوزاریوم، تریکوفایتون وروکوزوم، تریکوفایتون روبروم، میکروسپیوروم کنیس» را صد درصد مهار نمود ($p < 0.05$). در مورد کریبتوکوکوس نئوفورمنس، غلظت های مختلف، درصدهای مختلف مهار رشد را نشان داد ($p < 0.05$)، اما حتی در غلظت ماکزیمم 1000mg/ml (اسانس خالص) مهار رشد حدود ۶۲ درصد را نشان داد.

*** نتیجه گیری:** با توجه به نتایج حاصله، می توان امیدوار بود که اسانس ساتوریا خوزستانیکا را می توان در درمان بسیاری از بیماریهای قارچی «درماتوفیت، ساپروفیت و مخمری» و همچنین به عنوان یک ضد عفونی کننده استفاده نمود.

واژه های کلیدی: آنتی فونگال، ساتوریا خوزستانیکا، اسانس

مقدمه

در این مطالعه اثرات اسانس گیاه ساتوریا خوزستانیکا بر روی ده قارچ مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش ها

این مطالعه یک مطالعه تجربی بود. عملیات اسانس گیری با روش تقطیر با آب و با دستگاه کلونجر انجام شد. این اسانس مایعی بی رنگ یا مایل به زرد بوده و در اثر، کلروفرم، الکل، روغنهای چرب و دی متیل سولفوکساید (DMSO)^۱ قابل حل است (۳). عمده ترین ترکیبات این اسانس شامل: کارواکرول (۳۷/۹۰٪) و اوژنول (۳/۵۶٪) می باشد (۶).

تهیه کلنی قارچهای مورد بررسی: برای تهیه کلنی تازه از قارچها، ابتدا قارچهای مورد نظر بر روی محیط کشت سابورو دکستروز آگار (SDA) کشت داده شد و به مدت دو هفته در انکوباتور ۳۰ درجه سانتی گراد، نگه داری شد. سپس از کشتهای تازه جهت بررسی اثر اسانس استفاده شد.

تهیه رقت ها و محیط کشت: برای تهیه رقت های مناسب از اسانس ساتوریا، به کمک حلال DMSO رقتهای ۱٪، ۲٪، ۳٪، ۴٪، ۶٪، ۸٪، ۱۰٪، ۱۲٪، ۱۵٪، ۱۶٪، ۱، ۵، ۲/۵، ۵، ۱۰، ۵۰، ۱۰۰ mg/ml در محیط سابورو دکستروز آگار استریل شده ای که دمای آن در داخل بن ماری به ۵۰ درجه سانتی گراد رسیده بود، در شرایط کاملا استریل تهیه و در پلیت ها تقسیم شدند. به دلیل حلالیت اسانس در DMSO و غیر محلول بودن آن در محیط آبی، ابتدا محیط کشت سابورو دکستروز آگار را طبق دستور ساخته و پس از اتو کلاو کردن، در بن ماری با دمای ۵۰ درجه سانتی گراد قرار داده شد تا حلالیت مایع خود را از دست ندهد. سپس در لوله های آزمایش یکسان و استریل شده، حجم خاصی را با توجه به حجم پلیتها در نظر گرفته و با محاسبه مقادیر (اسانس + DMSO) محیط کشت (SDA) در آن حجم یکسان، رقتهای مختلف اسانس درست شد. سپس در لوله ها، ابتدا حجم محاسبه شده DMSO، بعد مقدار محاسبه شده اسانس و در آخر محیط کشت سابورو

گیاهان دارویی، میراثی منطقه ای با اهمیت جهانی هستند که ثروت عظیمی به جهان ارزانی داشته اند. تنوع و کثرت گیاهان با خواص درمانی همه را شگفت زده کرده است، چرا که تخمین زده می شود حدود ۷۰۰۰۰ گونه گیاه از گلشنک ها تا درختان تنومند، حداقل یکبار در طول تاریخ طب سنتی به عنوان دارو در جوامع بشری استفاده شده اند (۱). طبق گزارش سازمان بهداشت جهانی، حدود ۴ میلیارد نفر یعنی ۸۰ درصد مردم جهان به عنوان بخشی از درمان خود از داروهای گیاهی استفاده می کنند (۱). کشور ایران با ۱۱ اقلیم مختلف آب و هوایی و بیش از ۷۵۰۰ گونه گیاهی، بستر بسیار مناسبی برای دست یابی به گونه های با ارزش دارویی و نادر می باشد (۱،۲). با توجه به محدود بودن داروهای ضد قارچی، عوارض جانبی و واکنشهای ناخواسته آنها و ظهور سوشهای مقاوم به دارو، تحقیق و پژوهش برای یافتن داروهای ضد قارچی جدید با عوارض جانبی کمتر، ضروری است. بنابراین، با استفاده از ترکیبات طبیعی موجود در گیاهان از جمله اسانسها و بررسی اثرات ضد قارچی آنها، یافتن ماده موثره، جداسازی و تخلیص و شناسایی ساختمان شیمیایی آنها، داروهای جدید با عوارض جانبی کمتر و ارزانتر تهیه نمود. گیاه ساتوریا خوزستانیکا از جمله گیاهان دارویی است که محل رویش این گیاه ضلع شمالی خوزستان و جنوب لرستان می باشد (۳). اثرات دارویی مهمی برای آن بیان شده. از جمله:

- اثرات ضد دندان درد (۳)
 - ضد اکسیدان، ضد دیابت، ضد افزایش چربی خون، تحریکات تولید مثلی (۴)
 - درمان دیسمنوره (۱)
 - تغییر در فعالیتهای انعقادی (۱)
- اثرات ضد باکتری و ضد قارچهای کاندیدا آلبیکنس و آسپرژیلوس نایجر (۵).

1. Dimethyl sulfoxide

۱۴ روز اندازه گیری شده و میانگین قطر کلنی ها به عنوان رشد ارگانیزم در نظر گرفته شد و میزان مهار رشد کلنی با توجه به میانگین قطر کلنی های شاهد مورد بررسی قرار گرفت و برحسب درصد کاهش رشد طبق فرمول زیر گزارش گردید:

$$\times 100 = \frac{\text{اندازه قطر کلنی در محیط حاوی اسانس-اندازه قطر کلنی شاهد}}{\text{اندازه قطر کلنی شاهد}} = \text{درصد کاهش رشد}$$

در مورد مخمر کریپتوکوکوس نتوفورمنس ابتدا کشت سفره ای با سواپ بر روی سری سه تایی (تری پلیکیت) محیط سابورو انجام و سپس از دیسکهای تهیه شده استفاده گردید. هاله عدم رشد در طی ۷ روز و ۱۴ روز بررسی شده و کاهش رشد با توجه به میانگین قطر هاله عدم رشد شاهدها مورد بررسی قرار گرفت و برحسب درصد کاهش رشد گزارش گردید. مجموعاً در این مطالعه ۱۰۰۰ پلیت محیط کشت و ۱۳۰۰ نمونه قارچی به کار رفت. اطلاعات به دست آمده از آزمون t در گروههای همتا و مستقل به وسیله نرم افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

یافته ها

در غلظتهای ۲mg/ml \geq اسانس، کاهش رشد ۱۰۰٪ در قارچهای « تریکو فایتون منتاگروفیتس، میکروسپوروم جیپسئوم و اپیدرموفایتون فلوکوزوم» مشاهده شد (جدول شماره ۱).

دکستروز آگار ۵۰ درجه سانتی گراد که مایع است، اضافه شد و با ورتکس^۱، محتویات لوله ها خوب مخلوط و یکنواخت شد. سپس محتویات لوله ها در کنار شعله، به پلیتهای استریل منتقل شد. در پلیت، محیط سابورو دکستروز آگار می بندد و هر پلیت حاوی یک غلظت خاصی از اسانس می باشد. از کلوتریمازول به عنوان شاهد دارویی، محیط سابورو حاوی DMSO به عنوان شاهد حلال فاقد دارو و محیط سابورو بدون DMSO و اسانس به عنوان شاهد محیط استفاده شد.

تهیه دیسکها: با توجه به شباهت نحوه رشد مخمر کریپتوکوکوس نتوفورمنس به باکتریها، دیسکهای با غلظت های ۴۰، ۵۰، ۶۰، ۷۰، ۸۰، ۱۰۰، ۳۰۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۷۰۰mg/ml، ۳۰، ۲۰ از اسانس و دیسکهای حاوی حلال DMSO و کلوتریمازول به عنوان شاهد تهیه شد.

نحوه آزمایش: از کلنی های تازه توسط پانچر استریلی، پلاکهای دایره ای به قطر ۶mm بریده و توسط نیدل^۲ استریل سرپارویی، در کنار شعله بر روی محیط های تهیه شده انتقال داده شد. به منظور کنترل صحت آزمایشها، در هر پلیت از هر کلنی دو پلاک در سری سه تایی کشت داده شد. پلیتها در انکوباتور ۳۰ درجه سانتی گراد به مدت دو هفته نگه داری شد. پس از این مدت قطر کلنی ها به ترتیب پس از ۷ روز و

جدول شماره ۱- میانگین و انحراف معیار و حدود اعتماد ۹۵ درصد میانگین مهار رشد قارچهای تریکوفایتون منتاگروفیتس، میکروسپوروم جیپسئوم و اپیدرموفایتون فلوکوزوم بر حسب میزان غلظت اسانس در هفته اول و دوم.

غلظت اسانس (mg/ml)	درصد مهار رشد در هفته اول		درصد مهار رشد در هفته دوم	
	حد بالا	حد پایین	حد بالا	حد پایین
میانگین	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
٪۲ تعداد	۳	۳	۳	۳
انحراف معیار	۰	۰	۰	۰

p<۰/۰۱

همان طوری که در جدول شماره (۱) ملاحظه می شود میانگین مهار رشد در غلظت ۲٪ به حداکثر خود یعنی ۱۰۰ درصد رسیده است و حدود اعتماد ۹۵ درصد نیز نشان می دهد که در این غلظت میانگین مهار رشد با غلظت های دیگر اختلاف معنی دار آماری دارد ($p < 0/05$).

جدول شماره ۲- توزیع میانگین و انحراف معیار و حدود اعتماد ۹۵ درصد میانگین مهار رشد قارچ های آسپرژیلوس فومیگاتوس آسپرژیلوس فلاووس، فوزاریوم، تریکوفایتون و روکوزوم، تریکوفایتون روبروم و میکروسپوروم کنیس بر حسب غلظت اسانس در هفته اول و دوم.

غلظت اسانس (mg/ml)	درصد مهار رشد در هفته اول		درصد مهار رشد در هفته دوم	
	حد بالا	حد پایین	حد بالا	حد پایین
میانگین	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
٪۶ تعداد	۳	۳	۳	۳
انحراف معیار	۰	۰	۰	۰

$p < 0$

همان طوری که در جدول شماره (۲) ملاحظه می شود، میانگین مهار رشد در غلظت ۶٪ به حداکثر خود یعنی ۱۰۰ درصد رسیده است و حدود اعتماد ۹۵ درصد نیز نشان می دهد که در این غلظت میانگین مهار رشد با غلظت های دیگر اختلاف معنی دار آماری دارد ($p < 0/05$). به علت تعدد زیاد غلظت های بکار رفته، از آوردن کلیه غلظت ها و ارقام مربوط به آنها خود داری شده است.

جدول شماره ۳- توزیع میانگین و انحراف معیار و حدود اعتماد ۹۵ درصد میانگین مهار رشد قارچ کریپتوکوکوس نئوفورمنس بر حسب غلظت اسانس در هفته اول و دوم.

غلظت اسانس (mg/ml)	درصد مهار رشد در هفته اول		درصد مهار رشد در هفته دوم	
	حد بالا	حد پایین	حد بالا	حد پایین
میانگین	۶۴/۰۱۹۲	۶۰/۰۶۰۸	۶۵/۵۴۹۴۵	۵۷/۶۰۳۸۸
۱۰۰۰ تعداد	۳	۳	۳	۳
انحراف معیار	۰/۷۹۶۷۴	۱/۵۹۹۲۶	۰/۷۹۶۷۴	۱/۵۹۹۲۶

از غلظت ۵۰۰ mg/ml به سمت غلظت های کمتر، از نظر درصد مهار رشد اختلاف معنی دار آماری دیده می شود ($p < 0/05$) با اطمینان ۹۵ درصد) اما در غلظت های بیشتر (۷۰۰ و ۱۰۰۰) از نظر درصد مهار رشد اختلاف معنی داری مشاهده نشد. سرانجام تا غلظت ماکزیمم ۱۰۰۰ mg/ml مورد بررسی قرار گرفت که نهایتا مهار رشدی حدود ۶۲ درصد را شامل شد. در محیط حاوی کلوتریمازول با غلظت ۱ mg/ml (شاهد دارویی) رشد تمامی قارچها به طور کامل و ۱۰۰٪ مهار گردید اما در کریپتوکوکوس نئوفورمنس، میزان درصد مهار رشد در

خاصیت ضد قارچی اسانس ساتوریا خوزستانیکا علیه آسپرژیلوس نایجر را می توان یکی از مزایای بومی و منطقه ای اسانس به حساب آورد.

در سال ۲۰۰۴ جیوردانی^۶، رگلی^۷، کالوستیان^۸، میکائیل^۹، آبو^{۱۰} و پرتوگال^{۱۱} اثرات ضد قارچی اسانس ساتوریا مونتانا ال و تیموس ولگاریس را روی کاندیدا آلبیکنس بررسی کردند. نتایج این مطالعه نشان داد که اسانس تیموس ولگاریس باعث تقویت اثر ضد قارچی داروی آمفوتریسین ب می شود (۱۰).

در سال ۲۰۰۴ پیناواز^{۱۲} در بررسی فعالیت ضد قارچی اسانس تیموس نشان داد مکانیزم اثر ضد قارچی آن در محدوده MIC در نتیجه ایجاد یک ضایعه وسیع در غشاء سلولی و در غلظت کمتر از MIC جلوگیری از تشکیل لوله زایا می باشد (۱۱). در سال ۲۰۰۴ گورن^{۱۳}، توپکو^{۱۴}، بیل سل^{۱۵}، ویلکینسون^{۱۶} و کواناگه^{۱۷} در ترکیه، فعالیت ضد باکتریایی و ضد قارچی (کاندیدا آلبیکنس) ساتوریا تیمبرا را به اثبات رساندند (۱۲).

در سال ۲۰۰۵ تامپیری^{۱۸} و همکاران در ایتالیا تأثیر ضد قارچی اسانس ساتوریا مونتانا بر کاندیدا آلبیکنس را بررسی نمودند. فعال ترین ترکیبات فنلی، کارواکرول بود (۱۳).

آروین اثرات ضد قارچی اسانس مذکور را بر روی ۲ قارچ کاندیدا آلبیکنس و آسپرژیلوس نایجر گزارش کرده است (۵).

بررسی اثرات ضد قارچی اسانس ساتوریا خوزستانیکا برای اولین بار در ایران بر روی انواع قارچهای ساپروفیت (آسپرژیلوس فومیگاتوس، آسپرژیلوس فلاووس، فوزاریوم)، قارچ های درماتوفیت (تریکوفایتون وروکوزوم، تریکوفایتون منتاگروفیتس، تریکوفایتون روبروم، میکروسپوروم جیپسئوم، میکروسپوروم کنیس، اپیدرموفایتون فلوکوزوم) و قارچ مخمر

هفته اول و دوم به ترتیب، ۲۱/۳، ۱۹/۷ درصد تعیین و غلظت های ۱۰۰-۸۰-۷۰ mg/ml اسانس، درصد مهار رشدی تقریباً برابر شاهد کلوتریمازول با غلظت ۱ mg/ml را نشان دادند. اختلافی در رشد قارچها، در پلیت های حاوی حلال اسانس (۱٪ DMSO) با محیط سابورو (S) مشاهده نگردید.

بحث

عمده ترین ترکیبات ساتوریا خوزستانیکا شامل: کارواکرول (۳۷/۹۰٪) و اوژنول (۵۶/۳٪) می باشد. این میزان اعجاب انگیز کارواکرول در هیچ گونه دیگری از ساتوریا در دنیا وجود ندارد. کارواکرول یک ماده فنولیک بوده، بنابراین مکانیسم احتمالی اثر این اسانس می تواند همانند ترکیبات فنولیک ناشی از تخریب دیواره سلولی و سیستم های آنزیمی باشد. بزیک^۱ و اسکوسی بیوسیک^۲ در کروواسی نشان دادند که اسانس ساتوریا مونتانا با میزان (۴۵/۷٪) کارواکرول در مقایسه با اسانس ساتوریا کیونی فولیا که فاقد کارواکرول می باشد دارای فعالیت ضد میکروبی بیشتری است (۷).

سahین^۳ در ترکیه در ارزیابی فعالیت ضد میکروبی عصاره ساتوریا هورتنسیس ال میزان MIC^۴ را برای کاندیدا آلبیکنس ۳۰۰ μg/ml تعیین کرد (۸).

عزز^۵ در ترکیه اثرات ضد قارچی چهارگونه ساتوریا شامل پیلوسا، ایکاریکا، کورولا و بویسیری را علیه کاندیدا آلبیکنس و پنی سیلیوم کانسنس نشان داد. در حالی که از ژرمیناسیون آسپرژیلوس نایجر جلوگیری نگردید. میزان MIC برای کاندیدا آلبیکنس برحسب انواع ساتوریا از ۳۱/۲۵ μg/ml تا ۶۲/۵ گزارش شده است (۹).

آروین اثرات ضد قارچی اسانس ساتوریا خوزستانیکا را بر روی دو قارچ کاندیدا آلبیکنس و آسپرژیلوس نایجر گزارش نمود. در این مطالعه MIC اسانس برای کاندیدا آلبیکنس ۰/۱ mg/ml و برای آسپرژیلوس نایجر ۰/۲ mg/ml تعیین شده است (۵).

- | | |
|-------------------------------------|---------------|
| 1. Bezig | 10. Abou |
| 2. Skocibusic | 11. Portugal |
| 3. sahin | 12. Pina-Vaz |
| 4. Minimal inhibitory concentration | 13. Goren |
| 5. Azaz | 14. Topcu |
| 6. Giordani | 15. Bilsel |
| 7. Regli | 16. Wilkinson |
| 8. Kaloustian | 17. Cavanagh |
| 9. Mikail | 18. Tampieri |

کریپتوکوکوس نئوفورمنس در طی این تحقیق صورت گرفته است. در طی این بررسی حداقل غلظت 2mg/ml اسانس رشد تریکوفایتون منتاگروفیتس، میکروسپوروم جیپسئوم و اپیدرموفایتون فلوکوزوم را در ۱۰۰ درصد مهار کرد. همچنین حداقل غلظتی از اسانس ساتوریا خوزستانیکا که باعث مهار ۱۰۰ درصد رشد درماتوفیت‌های تریکوفایتون وروکوزوم، تریکوفایتون روبروم و میکروسپوروم کنیس گردید، 6mg/ml بود. از مقایسه این دو در می یابیم که تریکوفایتون وروکوزوم، تریکوفایتون روبروم و میکروسپوروم کنیس در مقایسه با تریکوفایتون منتاگروفیتس، میکروسپوروم جیپسئوم و اپیدرموفایتون فلوکوزوم به غلظت بیشتری (۳ برابر) از اسانس مذکور جهت کاهش رشد ۱۰۰ درصد نیازمند می باشند. غلظت 6mg/ml اسانس، باعث مهار ۱۰۰ درصد رشد ساپروفیت های آسپرژیلوس فومیگاتوس، آسپرژیلوس فلاووس و فوزاریوم نیز می گردد.

در مخمر کریپتوکوکوس نئوفورمنس هیچ یک از غلظت های به کار رفته در این تحقیق باعث مهار رشد ۱۰۰ درصد نگردید و نهایتاً در غلظت ماکزیمم 1000mg/ml اسانس، کاهش رشد ۶۲ درصدی مشاهده شد. نهایتاً در این پژوهش

غلظت 6mg/ml اسانس ساتوریا خوزستانیکا به غیر از مخمر کریپتوکوکوس نئوفورمنس بر روی سایر قارچهای مورد بررسی (در ماتوفیتها و ساپروفیتها) ۱۰۰ درصد اثر مهار کننده رشد داشت. این غلظت در مقایسه با حداقل غلظت سایر اسانسها که باعث مهار رشد ۱۰۰ درصد قارچها می شوند و در محدوده این تحقیق مورد جستجو و ارزیابی قرار گرفته اند، بسیار کمتر می باشد و می تواند به عنوان یک مزیت منحصربه فرد برای این اسانس محسوب شود.

نتیجه گیری

در خاتمه با توجه به اثرات اسانس بر روی قارچهای مختلف ساپروفیت، درماتوفیت و مخمر و همچنین باکتریها، پیشنهاد می شود به عنوان یک ماده ضد عفونی جدید در مقایسه با ضد عفونی کننده های مورد استفاده در بیمارستانها بویژه در بخشهای سوختگی، سی سی یو، آی سی یو و اتاق عمل مورد پژوهش قرار گیرد.

امیدواریم این پژوهش، بستر مناسب تحقیقات آتی در زمینه استخراج ماده موثره و بررسی اثرات ضد قارچی آن به روش *in vivo* در حیوانات آزمایشگاهی و سرانجام ساخت و تولید اشکال دارویی مناسب و موثر گردد.

References

- ۱- قاسمی دهکردی ن. فارماکوپه گیاهی ایران، چاپ اول، اصفهان، وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی، معاونت غذا و دارو، ۱۳۸۱
- ۲- خدمت ح. خلاصه مقالات اولین همایش سراسری گیاهان دارویی و داروهای گیاهی لرستان، خرم آباد، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی استان لرستان، معاونت آموزشی، پژوهشی، ۱۳۸۲، ص: ۴۱
- ۳- مرعشیان م. ارزیابی و مقایسه اثر اسانس کارواکرول بر درد دندان، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی لرستان، شماره پایان نامه ۱۴۲، ۱۳۸۱
4. Abdollahi M, Salehnia A, Mortazavi SH, Ebrahimi M, Shafiee A, Fouladian F and et al. Antioxidant, antidiabetic, antihyperlipidemic, reproductive on stimulatory properties and safety of essential oil of *satureja khuzistanica* in rat invivo: an oxicopharmacological study, sep 2003. <http://zmed.org>
- ۵- آروین آ، فیتوشیمی، خرده نگاری و بررسی اثرات ضد میکروبی و ضد قارچی ساتوریا خوزستانیکا بومی و کشت شده، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، شماره پایان نامه ۱۳۸۲، ۴۳۶۰
- ۶- رادپور م. شناسائی و تعیین ساختمان اسانسهای گیاه مرزه خوزستانی بومی و کشت شده به روش GC-MS. دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تهران، شماره پایان نامه ۱۳۸۱، ۴۲۶۱
7. Skocibusic M, Bezic N. phytochemical analysis and invitro antimicrobial activity of two *satureja* species essential oils, *phytother Res*, 2004 Dec; 18(12): 976-70
8. Sahin F, Karaman I, Gulluce M, Ogutcu H, Sengul M, Adiguzel A and et al. Evaluation of antimicrobial activities of *satureja L hortensis*. *Journal of Ethnopharmacology* 2003 jul; 847(1): 61-65
9. Aziz D, Demirci F, Satil F, Kurkcuoglu M, Baser KHC. Antimicrobial activity of some *satureja* essential oils, 2002. WWW.naturforsch.com
10. Giordani R, Regli p, Kaloustian J, Mikail C, Aboul, portugal H. Antifungal effect of various essential oils against *candida albicans*. Potentiation of antifungal action of amphotericin B by essential oil from *thymus vulgaris*, *phytother Res* 2004 Dec; 18(12): 990-5
11. Pina-VAZC. Antifungal activity of thymus oils and their major compounds. *J Eur Acad Dermatol venereol* 2004 jan; 18(1): 73-8
12. Goren AC, Topcu G, Bilsel G, Bilsel M, Wilkinson JM, Cavanagh H. Analysis of essential oil of *satureja thymbra* by hydrodistillation, thermal desorber, and headspace GC/MS techniques and its antimicrobial activity, *Nat prod Res*. 2004 Apr; 18(12): 189-95
13. Tampieri MP, Galuppi R, Macchioni F, Carelle MS, Falcion L, Cioni PL and et al. The inhibition of *candida albicans* by selected essential oils and their major components, *Mycopathologia*. 2005 Apr; 159(3): 339-45