بررسی اثرات ضدباکتریایی عصاره غیرقطبی گیاه پنیرک (*Malva sylvestis* L.) با استفاده از روش‌های انتشار از چاهک و رقت لوله‌ای

اکبر حسن پور[۱*]، سولماز ذخیره[۱]، امیررضا عبادی[۲]

۱- گروه شیمی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.
۲- گروه میکروبیولوژی، واحد اهر، دانشگاه آزاد اسلامی، اهر، ایران.
*نویسنده مسئول مکاتبات: hassanpour@marandiau.ac.ir

چکیده

امروزه با توجه به مقاومت باکتری‌ها به آنتی بیوتیک‌ها و عوارض جانبی آنها توجه زیادی به خاصیت ضد باکتریایی عصاره گیاهان دارویی می شود. گیاه پنیرک با نام علمی *Malva sylvestis* L. در طب سنتی و صنعت داروهای گیاهی از جایگاه مهمی برخوردار است. در این مطالعه اثرات ضد باکتریایی غلظت‌های mg/ml ۴۰۰، ۲۰۰، ۱۰۰، ۵۰ عصاره غیرقطبی گیاه پنیرک روی باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سرئوس، اشریشیا کلی و سودوموناس آئروژینوزا به روش انتشار از چاهک مورد بررسی قرار گرفت. همچنین در این مطالعه از روش رقت لوله ای جهت سنجش حداقل غلظت مهارکنندگی رشد باکتری ها (MIC) و حداقل غلظت کشندگی باکتری‌ها (MBC) بهره گرفته شد. عصاره غیرقطبی گیاه پنیرک از رشد باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سرئوس، اشریشیا کلی و سودوموناس آئروژینوزا جلوگیری کرد، به طوری که اثر ضد باکتریایی آن با افزایش غلظت عصاره نیز افزایش یافت. MIC و MBC این باکتری‌ها به ترتیب از mg/ml ۱۲/۵ تا ۵۰ و mg/ml ۱۲/۵ تا ۱۰۰ متغییر است. نتایج نشان داد که این عصاره می‌تواند گزینه مناسبی برای مطالعات آینده در شرایط درون‌تنی جهت تهیه داروهای ضد باکتریایی جدید باشد.

کلید واژه‌ها: پنیرک، عصاره غیرقطبی، اثرات ضدباکتریایی، انتشار از چاهک، رقت لوله‌ای.

مقدمه

یکی از بیماری‌های مهم که همواره انسان با آن دست به گریبان بوده، بیماری‌های باکتریایی است. مقاومت روز افزون باکتری‌ها به آنتی بیوتیک‌ها و عوارض جانبی عوامل ضد باکتریایی از مشکلات مهم در امر درمان بیماری‌های عفونی است. گیاهان از دیرباز به عنوان

یکی از مهم‌ترین منابع مواد دارویی ضد میکروبی مطرح بوده‌اند (Buhner, 1999; Abbasi, 2007). اسانس‌های گیاهی و انواع متابولیت‌های ثانویه گیاهی به عنوان موادی با ویژگی ضد میکروبی شناخته شده‌اند و دارای اثرات سمی کم و یا فاقد اثرات سمی هستند (Beg, 2000). بنابراین، می‌توان از این فرآورده‌ها به‌عنوان جایگزین طبیعی برای آنتی‌بیوتیک‌ها استفاده نمود. همچنین برای حفاظت مواد داروئی و غذایی در برابر فساد میکروبی از آنها بهره جست (Sagdic, 2003; Cao and Cao, 1999). در همین راستا با توجه به تنوع آب و هوایی و در نتیجه فلور گیاهی بسیار متنوع در ایران امکان شناسایی مواد موثره گیاهی در گیاهان مختلف بومی کشور و استخراج آن‌ها به منظور تولید این مواد به مقدار زیاد و در سطح صنعتی وجود دارد.

پنیرک گیاهی گلدار از راسته پنیرک سانان، تیره پنیرکیان و سرده Malva L. می‌باشد. این گیاه دو ساله و یا پایا (دائمی) و ندرتاً یک ساله به ارتفاع ۳۰ تا ۶۰ سانتی‌متر، دارای گل‌های نسبتاً کوچک سرخ یا بنفش یا ارغوانی و برگ‌های مدوّر است که معمولاً در زمین‌های بایر و کشتزارها می‌روید (Lust, 1997; Chevallier, 1996; Milin and Kustrak, 2003). در پزشکی سنتّی قدیم برای اجزای آن کاربردهای گوناگونی ذکر کرده‌اند که از جمله آن درمان سرفه، بیماری‌های التهابی غشاهای مخاطی، برخی بیماری‌های پوستی، درد معده و گلو، بیماری‌های کلیه، طحال، مثانه، شکستگی اعضا و کاهش چربی خون را نام برد (DellaGreca *et al.*, 2009; Leporatti and Ghedira, 2009; Neves, 2009 Yeole *et al*., 2010; Esteves *et al*., 2009; Quave *et al*., 2008).

اجزای فعال گیاهان خانواده مالواسه (Malvacea) در برگ‌ها، گل‌ها، دانه‌ها و ریشه گیاه یافت می‌شوند. همه قسمت‌های پنیرک سرشار از موسیلاژ است. علاوه بر آن ویتامین‌های B، A، C و E نیز در آن یافت می‌شود. اسید گلوکورونیک ، فلاوونوئیدها، مشتقات ترپنوئیدی و فنولی، کلروفیل‌ها، کاروتنوئیدها، آسپارژین، آلتئین، تانن‌ها، روغن‌های فرار، آنتوسیانین‌های مالونات و مقدار کمی مادهٔ رنگی به نام مالوین سایر ترکیباتی هستند که در این گیاه وجود دارند (Takeda *et al*., 1989; Redzić *et al*., 2005; Billeter *et al*., 1991; Proestos *et al*., 2005; Cutillo *et al*., 2006).

با توجه به اثرات دارویی متعدد گیاه پنیرک، به‌نظر می‌رسد مواد موجود در این گیاه از دسته‌های متفاوتی از مواد فیتوشیمیایی باشند. مطالعه فیتوشیمیایی عصاره‌های با قطبیت متفاوت گیاه پنیرک و بررسی خواص ضد میکروبی آنها می‌تواند تعیین کننده بهترین روش عصاره گیری باشد، بطوری‌که بتوان تشخیص داد مواد فعال در کدام نوع عصاره حضور بیشتری دارند. در این مطالعه خواص ضد باکتریایی عصاره غیرقطبی گیاه پنیرک بر تعدادی از باکتری‌های بیماری‌زا مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

مواد شیمیایی مورد نیاز شامل حلال‌های آب، پترولیم بنزاین، سود، دی متیل سولفوکسید، پودر مولر هینتون آگار و نوترینت براث از کمپانی مرک آلمان (Merck, Germany) تهیه شدند. در این تحقیق از ٤ سویه باکتریایی استاندارد *Bacillus cereus*، *aureus Staphylococcu*، *Escherichia coli* و *Pseudomonas aeruginosa* و تانک نیتروژن نیز استفاده شد.

دستگاه‌های مورد استفاده شامل ترازوی KERN ABJ با دقت ۰/۱ میلی‌گرم، دستگاه سوکسله، روتاری شرکت IKA مدل RV10 B، پمپ خلأ STEROUAO بودند.

به منظور تهیه عصاره غیرقطبی گیاه پنیرک، ابتدا اندام‌های هوائی گیاه خشک پنیرک توسط نیتروژن مایع خرد شدند، سپس با استفاده از دستگاه سوکسله و حلال پترولیم اتر عمل استخراج در دمای ۴۰ درجه سلسیوس انجام گرفت. در نهایت حلال در دستگاه روتاری تحت عملیات تقطیر در خلأ حذف گردید. از عصاره حاصله غلظت‌های مختلف جهت استفاده در آزمون انتشار از چاهک و تعیین MIC/MBC تهیه گردید (Barros *et al.*, 2010).

سوش‌های باکتریایی مورد آزمایش شامل: *Staphylococcus aureus* (ATCC:25923)، *Bacillus cereus* (PTCC:1052)، *Escherichia coli* (ATCC:25922) و *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC:27853) به صورت لیوفیلیزه از مجموعه میکروبی موسسه تحقیقات بیوتکنولوژی دانشگاه تهران تهیه گردیدند. نمونه‌های میکروبی بر اساس روش‌های استاندارد احیاء گردیدند. به منظور تهیه سوسپانسیون میکروبی از کشت جوان و تازه، چند کلنی برداشته و به محیط کشت مولرهینتون براث تلقیح شد تا جائی‌که کدورت سوسپانسیون تهیه شده معادل کدورت نیم مک فارلند ($۱/۵\times۱۰^{۸}$ باکتری در هر میلی‌لیتر) گردید (Murray, 2000). برای رسیدن به غلظت $۱/۵\times۱۰^{۶}$ باکتری در هر میلی‌لیتر، سوسپانسیون باکتریایی معادل کدورت نیم مک فارلند به نسبت ۰/۰۱ رقیق شد.

جهت بررسی اثرات ضد باکتریایی عصاره غیرقطبی گیاه پنیرک از دو روش استفاده گردید. روش اول، روش انتشار از چاهک در آگار می‌باشد. بدین منظور ابتدا در شرایط استریل کنار شعله و زیر هود لامینار از سوسپانسیون باکتریایی تهیه شده برداشته و در سطح پلیت حاوی محیط کشت مولر هینتون آگار گسترش داده شد. در مرحله بعد ۵ چاهک به قطر ۵ میلی‌متر و به فاصله ۲ سانتی‌متر در سطح پلیت ایجاد گردید. سپس محلول‌های عصاره به غلظت‌های ۵۰mg/ml، ۱۰۰، ۲۰۰ و ٤۰۰ تهیه و در هر یک از چاهک‌ها اضافه گردید. به عنوان شاهد مثبت از آنتی‌بیوتیک کلرامفنیکل و به عنوان شاهد منفی از پترولیوم اتر استفاده شد. تمامی پلیت‌ها در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ٢٤ ساعت قرار گرفتند. پس از طی این مدت، کشت‌های باکتریایی از نظر تشکیل یا تشکیل نشدن هاله عدم رشد، بررسی و قطر هاله‌های عدم رشد بر حسب میلی‌متر توسط کولیس اندازه‌گیری شد.

روش دوم، روش رقت لوله‌ای می‌باشد. با استفاده از این روش حداقل غلظت مهارکنندگی رشد باکتری (MIC) و حداقل غلظت کشندگی باکتری (MBC) تعیین گردید. جهت تعیین MIC، از عصاره غیرقطبی تهیه شده، سری‌های رقت ۰/۷۸ mg/ml، ۱/۵٦، ۳/۱۲۵، ٦/۲۵، ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ در محیط کشت مولرهینتون براث تهیه شدند. سپس به هر کدام از رقت‌ها ۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون باکتریایی تهیه شده اضافه گردید. به عنوان شاهد مثبت لوله‌ای 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 ٢٤ ساعت انکوبه کردن در دمای ۳۷ درجه سلسیوس، لوله ها از نظر کدورت مورد بررسی قرار گرفتند. لوله‌ای که حاوی کمترین غلظت عصاره بوده و کدورتی در آن مشاهده نشد، به

عنوان MIC مشخص گردید. سپس در کنار شعله جهت تعیین MBC از محتوی لوله‌ها که در آنها عدم رشد مشاهده شده، برداشته و روی محیط کشت مولرهینتون آگار کشت داده شد و مجدداً در داخل انکوباتور به مدت ٢٤ ساعت در دمای ٣٧ درجه سلسیوس قرار داده شدند. از آن جایی که حتی داروهای باکتریسیدال نیز همیشه به طور کامل قادر به از بین بردن باکتری‌ها نمی‌باشند، لذا میزان حداقل غلظتی که موجب مرگ ٩٩/٩ درصد باکتری‌ها شده، به عنوان MBC مشخص گردید (Skocibusic *et al*., 2004; Sökmen *et al*., 2003).

یافته‌ها

نتایج حاصل از تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره غیرقطبی گیاه پنیرک به روش انتشار از چاهک در جدول ١ آمده است. این عصاره اثر بازدارندگی قابل ملاحظه‌ای بر هر چهار باکتری مورد آزمایش داشت و با افزایش غلظت عصاره، این اثر به صورت افزایش هاله عدم رشد بیشتر و چشمگیرتر می‌شد. اثرات مهارکنندگی رشد (قطر هاله عدم رشد) عصاره غیرقطبی بر باکتری‌های گرم مثبت بیش از باکتری‌های گرم منفی بود.

جدول ١- قطر هاله عدم رشد باکتری برحسب میلی‌متر در غلظت‌های مختلف عصاره غیرقطبی به روش انتشار از چاهک

غلظت عصاره / باکتری	٥٠ mg/ml	١٠٠ mg/ml	٢٠٠ mg/ml	٤٠٠ mg/ml	شاهد منفی	شاهد مثبت
S. aureus	٦/٣٢ mm	١٣/٤٢ mm	١٤/٤٦ mm	١٩/٥ mm	-	٢٢ mm
B. cereus	٧/٢٥ mm	١٣/٩٠mm	١٥ mm	٢١ mm	-	٢٣ mm
E. coli	٥/٧٠ mm	٦/١٠ mm	١٢ mm	١٥/٦٤mm	-	١٨ mm
P. aeruginosa	٦ mm	٦/٥ mm	١٣/١٠ mm	١٦ mm	-	١٩ mm

مقادیر مربوط به حداقل غلظت مهارکنندگی رشد باکتری (MIC) و حداقل غلظت کشندگی باکتری (MBC) عصاره غیرقطبی گیاه پنیرک علیه چهار باکتری منتخب به روش رقت لوله‌ای در جدول ٢ آمده است. آزمون تعیین MIC/MBC نشان داد که در بین باکتری‌های مورد آزمایش، باکتری *باسیلوس سرئوس* بیشترین حساسیت و باکتری *اشریشیا کلی* کمترین حساسیت را در برابر عصاره غیرقطبی گیاه پنیرک دارند.

جدول ٢- حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی باکتری در غلظت های مختلف عصاره غیرقطبی به روش رقت لوله‌ای

غلظت عصاره / باکتری	MIC mg/ml	MBC mg/ml
S. aureus	١٢/٥	٢٥
B. cereus	١٢/٥	١٢/٥
E. coli	٥٠	١٠٠
P. aeruginosa	٢٥	٥٠

بحث و نتیجه‌گیری

بر اساس گزارش شکری بقداد و همکارانش در سال ۲۰۱٤، ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی به سه روش فعالیت مهار رادیکال آزاد (DPPH; diphenylpicrylhydrazyl)، قدرت احیاءکنندگی یون فریک (Ferric reducing FRAP; ability of plasma) و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل (Total capacity TAC; antioxidant) نشان می‌دهد که فراکسیون‌های اتیل استات (به عنوان حلال قطبی) و بوتانول (به عنوان حلال غیرقطبی) در برگ‌های گیاه پنیرک دارای بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشند. تحقیقات آنها نشان داد که پنیرک مورد تجزیه توسط ایشان می‌تواند منبع خوبی برای برخی ترکیبات فنلی، فلاوونوئیدی و آنتی‌اکسیدانی باشد (Choukri Beghdad *et al*., 2014). در مطالعه انجام شده توسط اتارد و پاسیونی در سال ۲۰۱۱ نشان داده شد که توزیع آلکالوئیدهای گیاهان دارویی مالتی در حلال‌های قطبی و غیرقطبی تقریباً برابر است (به ترتیب ۵۲/۳۸ درصد و ٤۷/٦۲ درصد). آلکالوئیدها ممکن است به صورت ترکیب آلی غیرقطبی و یا نمک آلکالوئید یونیزه شده قطبی باشند (Attard and Pacioni, 2011).

در این بررسی مشخص گردید که عصاره غیرقطبی اندام‌های هوایی گیاه پنیرک منطقه ارسباران اثرات مهارکنندگی رشد قابل توجهی روی باکتری‌های مورد آزمایش دارند. در این بین اثرات مهاری بر باکتری‌های گرم مثبت (*Staphylococcus aureus* و *Bacillus cereus*) بیش از باکتری‌های گرم منفی (*Pseudomonas aeruginosa* و *Escherichia coli*) بود به‌طوری‌که در غلظت‌های پائین (۵۰ mg/ml)، باکتری‌های گرم منفی مقاومت زیاد و باکتری‌های گرم مثبت حساسیت قابل توجهی نشان دادند و همین‌طور در غلظت‌های بالا (٤۰۰ mg/ml)، هر دو گروه باکتری‌ها به‌ویژه گرم مثبت ها توانایی رشد نداشته و حساس بودند. همچنین مشخص شد که از بین چهار باکتری استفاده شده، *Bacillus cereus* حساس‌ترین و *Escherichia coli* مقاوم‌ترین باکتری‌ها در برابر عصاره گیاه دارند.

در هر دو آزمایش بررسی خواص ضد باکتریایی، عصاره غیرقطبی تأثیر متفاوتی بر رشد باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی داشت. علت این تفاوت در رشد ممکن است به دلایل مختلفی از جمله تفاوت ساختاری موجود بین دیواره این دو گروه از باکتری‌ها وابسته باشد. همان‌گونه که نتایج نشان داد این عصاره اثرات قابل توجهی بر باکتری‌های گرم مثبت و اثرات ضعیف‌تری روی باکتری‌های گرم منفی داشت که علت احتمالی آن وجود لیپوپلی‌ساکاریدهای دیواره سلولی باکتری‌های گرم منفی می‌باشد که مانند سدّی از عبور مولکول‌های بزرگ و آب‌گریز ممانعت می‌کنند. از آنجایی که اکثر ترکیبات موثر موجود در عصاره‌ها و اسانس‌ها ماهیت آب‌گریزی دارند، لذا می‌توان چنین نتیجه گرفت که این مواد امکان نفوذ و دسترسی به نقاط فعال داخل باکتری‌های گرم منفی را ندارند و به همین دلیل معمولاً باکتری‌های گرم منفی در مقایسه با باکتری های گرم مثبت مقاومت بیشتری نسبت به ترکیبات گیاه نشان می‌دهند.

به‌طور خلاصه، نتایج نشان می‌دهد، عصاره غیرقطبی گیاه پنیرک از رشد باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*، *باسیلوس سرئوس*، *اشریشیا کلی* و *سودوموناس آئروژینوزا* جلوگیری می‌کند و اثر ضد

باکتریایی آن با افزایش غلظت عصاره افزایش می‌یابد. MIC و MBC این باکتری‌ها به ترتیب از mg/ml ۱۲/۵ تا ۵۰ و mg/ml ۱۲/۵ تا ۱۰۰ متغییر است.

با توجه به مقاومت باکتری‌ها به آنتی‌بیوتیک‌ها و عوارض جانبی آنها و با توجه به اثرات ضد باکتریایی عصاره غیرقطبی گیاه پنیرک منطقه ارسباران بر باکتری‌ها به‌ویژه باکتری‌های گرم مثبت که عامل بسیاری از عفونت‌های مخرب و بیمارستانی هستند، این عصاره می تواند به عنوان یک فرآورده گیاهی طبیعی جایگزین مناسب داروهای شیمیایی برای مبارزه با عفونت‌ها باشد. پیشنهاد می‌گردد سایر محققین اثرات ضد میکروبی این عصاره را روی دیگر باکتری‌ها و در شرایط درون‌تنی (*In vivo*) بررسی نمایند.

سپاسگزاری

این مقاله حاصل طرح پژوهشی به کد ۵۱۰۲۳۹۲۰۹۲۰۰۱۷ مصوب ۱۳۹۳/۰۲/۰۲دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز می‌باشد. مولفین بر خود لازم می‌دانند از زحمات مسئولین محترم این دانشگاه کمال تشکر و قدردانی را داشته باشند.

منابع

- Abbasi, N., Azizi Jaliliane, F., Abdi, M. and Saifmanesh, M. (2007). A comparative study of the antimicrobial effect of Scrophularia striata Boiss. Extract and selective antibiotics against Staphylococcus aureus and Pesudomonas aeroginosa. Journal of Medicinal Plants, 1(6): 10-18.
- Attard, E. and Pacioni, P. (2011). The Phytochemical and In Vitro Pharmacological Testing of Maltese Medicinal Plants. Bioactive Compounds in Phytomedicine. InTech, Rijeka, Croatia, pp: 93-112.
- Barros, L., Carvalho, A.M. and Ferreira, C.F.R. (2010). Leaves, flowers, immature fruits and leafy flowered stems of Malva sylvestris: A comparative study of the nutraceutical potential and composition. Food and Chemical Toxicology, 48(6): 1466-1472.
- Beg, A.Z. and Ahmad, I. (2000). Effect of Plumbago zeylanica extract and certain curing agents on multidrug resistant bacteria of clinical origin. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 16(8-9): 841-844.
- Billeter, M., Meier, B. and Sticher, O. (1991). 8-hydroxy flavonoid glucuronides from Malva sylvestris. Phytochemistry, 30(3): 987-990.
- Buhner, S.H. (1999). Herbal Antibiotics Natural Alternatives for treating Drug-Resistant Bacteria. 1st ed., North Adams: Storey Publishing, LLC, pp: 8-20.
- Cao, Y.H. and Cao, R.H. (1999) Angiogenesis inhibited by drinking tea. Nature, 398(6726): 381-381.
- Chevallier, A. (1996). The Encyclopedia of Medicinal Plants. London: Dorling Kindersley, pp: 336-340.
- Cutillo, F., D'Abrosca, B., DellaGreca, M., Fiorentino, A. and Zarrelli, A. (2006). Terpenoids and phenol derivatives from Malva sylvestris. Phytochemistry, 67(5): 481-485.
- DellaGreca, M., Cutillo, F., D'Abrosca, B., Fiorentino, A., Pacifico, S. and Zarrelli, A. (2009). Antioxidant and radical scavenging properties of Malva sylvestris. Natural product communications, 4(7): 893-896.
- Esteves, P.F., Sato, A., Esquibel, M.A., Campos-Buzzi, F.D., Meira, A.V. and Cechinel-Filho, V. (2009). Antinociceptive activity of Malva sylvestris L. Latin American Journal Pharmacology, 28(3): 454-456.

- Leporatti, M.L. and Ghedira, K. (2009). Comparative analysis of medicinal plants used in traditional medicine in Italy and Tunisia. Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine, 5(1): 31-38.
- Lust, J. (1974). The Herb Book. Toronto: Bantam Books, pp: 262-263.
- Milin, V. and Kustrak, D. (2003). Officinal and unofficinal polysaccharide containingdrugs (Mucilagenous drugs). Farmaceutski Glasnik, 59(2): 57-68.
- Mohammed, C.B., Chahid, B., Fatima, B., Fatima-Zohra, S., Meriem, B. and Farid, C. (2014). Antioxidant activity, phenolic and flavonoid content in leaves, flowers, stems and seeds of mallow (Malva sylvestris L.) from North Western of Algeria. African Journal of Biotechnology, 13(3): 486-491.
- Murray, P., Baron, R., Fauer, E.J. and Tenoyer, M. (1999). Manual of Clinical Microbiology. 7th ed., Washington, D.C: American Society for Microbiology, pp: 1567-1570.
- Neves, J.M., Matos, C., Moutinho, C., Queiroz, G. and Gomes, L.R. (2009). Ethnopharmacological notes about ancient uses of medicinal plants in Trás-os-Montes (northern of Portugal). Journal of Ethnopharmacology, 124(2): 270-283.
- Proestos, C., Chorianopoulos, N., Nychas, G.J. and Komaitis, M. (2005). RP-HPLC analysis of the phenolic compounds of plant extracts. Investigation of their antioxidant capacity and antimicrobial activity. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53(4): 1190-1195.
- Quave, C.L., Pieroni, A. and Bennett, B.C. (2008). Dermatological remedies in the traditional pharmacopoeia of Vulture-Alto Bradano, inland southern Italy. Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine, 4(1): 5-14.
- Redzić, S., Hodzić, N. and Tuka, M. (2005). Plant pigments (antioxidants) of medicinal plants Malva silvestris L. and Malva moschata L. (Malvaceae). Bosnian journal of basic medical sciences/Udruzenje basicnih mediciniskih znanosti= Association of Basic Medical Sciences, 5(2): 53-58.
- Sagdic, O. (2003). Sensitivity of four pathogenic bacteria to Turkish thyme and oregano hydrosols. LWT-Food Science and Technology, 36(5): 467-473.
- Skočibušić, M., Bezić, N., Dunkić, V. and Radonić, A. (2004). Antibacterial activity of Achillea clavennae essential oil against respiratory tract pathogens. Fitoterapia, 75(7): 733-736.
- Sökmen, A., Vardar-Ünlü, G., Polissiou, M., Daferera, D., Sökmen, M. and Dönmez, E. (2003). Antimicrobial activity of essential oil and methanol extracts of Achillea sintenisii Hub. Mor. (Asteraceae). Phytotherapy Research, 17(9): 1005-1010.
- Takeda, K., Enoki, S., Harborne, J.B. and Eagles, J. (1989). Malonated anthocyanins in malvaceae: malonylmalvin from Malva sylvestris. Phytochemistry, 28(2): 499-500.
- Yeole, N.B., Sandhya, P., Chaudhari, P.S. and Bhujbal, P.S. (2010). Evaluation of Malva sylvestris and Pedalium murex Mucilage as Suspending Agent. International Journal of PharmTech Research, 2(1): 385-389.