

بررسی مواد تشکیل دهنده اسانس و اثرات ضد میکروبی ریزوم گیاه *Cyperus rotundus* L.

فراز مجاب^{۱،۲*}، حسین وحیدی^{۳،۴}، بهمن نیک‌آور^{۱،۲}، محمد کمالی‌نژاد^۴

۱- دانشیار، گروه فارماکوگنوزی و فارماکوبیوتکنولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران

۲- مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران

۳- استاد، گروه فارماکوگنوزی و بیوتکنولوژی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران

۴- کارشناس آزمایشگاه، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران

*آدرس مکاتبه: تهران، خیابان ولی عصر (عج)، بالاتر از میرداماد، تقاطع بزرگراه نیایش، دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تلفن: ۸۸۲۰۰۰۶۱ (۰۲۱)، نمابر: ۸۸۲۰۹۶۲۶ (۰۲۱)
پست الکترونیک: sfmojab@yahoo.com

تاریخ تصویب: ۸۸/۲/۵

تاریخ دریافت: ۸۷/۴/۱۶

چکیده

مقدمه: گیاه *Cyperus rotundus* L. از خانواده *Cyperaceae*، با نام‌های فارسی (عربی) اویار سلام و سُد کوفی در بیشتر نقاط ایران می‌روید. از ریشه گیاه سُد کوفی مواد و آثار فارماکولوژیک مختلفی گزارش شده‌اند. در حال حاضر ریشه‌ها و ریزوم‌های این گیاه به صورت ترکیب با سایر گیاهان به منظور تقویت اعصاب و ضدنفخ به کار می‌رود. در مورد بررسی اسانس حاصل از ریزوم‌های این گیاه در کشورهای دیگر تحقیق شده که آلفا-سیپرون یا سیپرن را به عنوان ماده عمده معرفی کرده‌اند. هدف: تا آنجا که ما بررسی کرده‌ایم، اسانس ریزوم و اثرات ضد میکروبی نمونه ایرانی گیاه مذکور تاکنون بررسی نشده است. هدف از این پژوهش آنالیز اسانس و بررسی اثرات ضد میکروبی ریزوم‌های این گیاه می‌باشد.

روش بررسی: ریزوم گیاه سُد کوفی در خرداد ۱۳۸۶ از عطاری‌های شهر تهران خریداری و با روش تقطیر با آب اسانس‌گیری شد. برای آنالیز اسانس از روش GC/MS استفاده شد. جهت بررسی اثرات ضد میکروبی، عصاره متانولی ریزوم‌ها با اسباب سوکسله استخراج شد. میکروب‌های مورد استفاده در این پژوهش باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، میکروکوکوس لوتئوس، سالمونلا و اشریشیا کولی، و قارچ‌های آسپرژیلوس نایجر و کلاادوسپوریوم هرباسیوم بودند. اثر ضد میکروبی به روش دیسک کاغذی (انتشار در آگار) و محاسبه هاله عدم رشد انجام شد.

نتایج: بررسی اثر ضد میکروبی عصاره ریزوم گیاه *C. rotundus* نشان می‌دهد که رقت‌های مختلف آن اثری روی سالمونلا، اشریشیا کولی، آسپرژیلوس نایجر و کلاودوسپوریوم هرباسیوم ندارد و تنها روی باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و میکروکوکوس لوتئوس موثر می‌باشد. ترکیبات عمده اسانس آن را سسکویی‌ترین‌ها تشکیل می‌دهند (۸۲/۰ درصد) که در بین آنها آلفا-سیپرون ۳۲/۰ درصد و اسپاتولنول، ۱۱/۰ درصد می‌باشند. ۸/۸ درصد ترکیبات شناسایی شده نیز از گروه مونوترپنوئیدها می‌باشند.

کل واژگان: *Cyperus rotundus*، آلفا-سیپرون، اسانس، اثر ضد میکروبی



مقدمه

گیاه *Cyperus rotundus* L. (همنام‌های *C. leptostachyus* Griff., *C. hexastachyus* Rottb., *C. albidus* Herb., *C. tenuiflorus* Royle., *C. olivarius* trag. از خانواده *Cyperaceae*، با نام‌های فارسی (عربی) اویار سلام و سُعد کوفی؛ و نام انگلیسی *nut grass*، گیاهی است پایا، ایستاده بدون کرک، به ارتفاع ۴۰ - ۲۰ سانتی‌متر، دارای ریزوم‌های باریک و رونده، به قطر ۲-۱ میلی‌متر، در بعضی نقاط دارای غده‌های سیاه رنگ تخم مرغی، پهن و دراز. ریزوم‌ها در ابتدا سفید هستند و سپس با رشد گیاه فیبری، سفت و قهوه‌ای تیره می‌شوند. ساقه: محدود، سه پهلوی، بدون کرک، ایستاده، سبز، بدون بند، نسبتاً باریک. برگ: متعدد، تقریباً همگی بن رُست و قاعده‌ای، هم قد یا طول‌تر از ساقه، به عرض ۸ - ۲ میلی‌متر، ناوی شکل. گل: سبز و بسیار ریز، مجتمع در سنبله‌های تشکیل دهنده گل آذین چتر مانند و دارای ۹ - ۳ پرتو، سنبله ایستاده، غیرهمقد، گسترده یا ایستاده به طول (۱۰-۵) سانتی‌متر، محصور در ۲ تا ۴ برگک این گیاه در بیشتر نقاط ایران می‌روید [۱، ۲]. از ریشه گیاه سعد کوفی مواد زیر گزارش شده‌اند: یک سسکویی‌ترین اندوپراکسید به نام 10,12-peroxycalamenene [۳]، یک گلیکوزید استروئیدی جدید به نام 6'-sitosteryl (β -D-galactopyranoside)-hentriacontanoyl، سه فوروکرومون به نام‌های *visnagin*، *khellin*، *caffaic acid*، *salicylic acid*، *coumarin*، *ammiiol*، *protocatechuic acid*، *p-coumaric acid*، *tricin* و *isorhamnetin* [۴]. از اسانس آن نیز سه سسکویی‌ترین هیدروکربنی جدید به نام‌های *(-)-isorotundene*، *(-)-cypera-2,4(15)-diene* و *(-)-norrotundene* و یک کتن به نام *(+)-cyperadione* تعیین ساختمان شده‌اند [۵]. *Rotundine* های A تا C نیز سه آلکالوئید سسکویی‌ترپنی جدید از این گیاه هستند [۶]. در حال حاضر این گیاه به صورت ترکیب با سایر گیاهان به منظور تقویت اعصاب و ضدنفخ به کار می‌رود [۷].

آثار فارماکولوژیک زیر از این گیاه گزارش شده است: اثر آنتی‌اکسیدانی *in vitro* و ضدراذیکال آزاد [۸، ۹]، اثر متوقف‌کنندگی تشکیل و اکسیداسیون پروتئین در یک مدل از گلیکوکسیداسیون پروتئین با واسطه فروکتوز [۱۰]، خواص آنتی‌کاریوژنیک [۱۱]، پیشگیری از افزایش وزن در رت‌های چاق [۱۲]، مهار فعالیت آنتی‌کولین استراز و مهار جوانه‌زنی و رشد دانه در گندم و گوجه فرنگی [۱۳]، اثر ضددیابتی در مدل آلوکسان [۱۴]، اثر مهار روی $\text{Na}^+/\text{K}^+-\text{ATPase}$ [۱۵]، اثر ضداسهالی [۱۶]، اثر ضدکاندیدایی [۱۷]، اثر مهار روی تشکیل نیتریک اکساید و سوپراکساید در رده سلولی ماکروفاژهای مورین [۱۸]، اثر مدری [۱۹]، اثر ضدملاریایی [۲۰، ۲۱]، اثرات ضدالتهابی، ضدتب و مسکن [۲۲]، اثر روی تهوع ناشی از رزپین در قورباغه [۲۳]، و اثر سیتوتوکسیک قوی علیه سلول‌های لمفوهای L5178y موش [۲۴].

در مورد بررسی اسانس حاصل از ریزوم‌های این گیاه در کشورهای دیگر چند مقاله وجود دارد: ژقبی^۱ و همکاران در سال ۲۰۰۸ آلفا-سیرون و سیپروتوندون را به ترتیب به میزان ۲۲/۸ و ۱۲/۱ درصد در این اسانس مشخص کردند [۲۵]. هم‌چنین در سال ۲۰۰۵ اسانس غدد ریزومی نمونه تونسی این گیاه آنالیز و کلاً ۳۳ ترکیب مشخص شد. مقدار سسکویی‌ترین‌های این اسانس بالا بود و سیپرن به میزان ۳۰/۹ درصد ماده عمده گزارش شد [۲۶].

در پژوهشی دیگر اسانس گیاه با سه روش تقطیر با آب، استخراج با مایع تحت فشار و استخراج با سیال فوق بحرانی استخراج شد و پنج ترکیب آلفا-کوپائن، سیپرن، بتا-سلی‌نن، بتا-و آلفا-سیپرون ردیابی شدند. استخراج با مایع تحت فشار بیشترین کارایی استخراج را داشت در حالی که استخراج با سیال فوق بحرانی جهت استخراج بتا-و آلفا-سیپرون انتخابی‌تر بود [۲۷]. در تعدادی از پژوهش‌های دیگر برخی اجزای اسانس جداسازی و با فنون طیف سنجی شناسایی شده‌اند، مثلاً کاریوفیلن الکل [۲۸]، ایزوروتوندن، نورروتوندن و سیپرادیون [۲۹]. تا آنجا که ما بررسی کرده‌ایم، اسانس ریزوم

¹ Zoghbi



و اثرات ضد میکروبی نمونه ایرانی گیاه مذکور تاکنون بررسی نشده است.

مواد و روش‌ها

ریزوم گیاه سُعد کوفی در خرداد ۱۳۸۶ از عطاری‌های شهر تهران خریداری و در آزمایشگاه گیاه‌شناسی دانشکده داروسازی شهید بهشتی به نام *Cyperus rotundus* تعیین هویت شد. سپس ریزوم‌ها، خرد شده و با روش تقطیر با آب اسانس‌گیری شدند. جهت استخراج کامل اسانس از دستگاه اسانس‌گیری، از n- پنتان استفاده شد. بعد از آن آب موجود در اسانس با سولفات سدیم انیدر گرفته شد و اسانس در ظرف در بسته در یخچال نگهداری شد.

جهت آنالیز از روش GC/MS استفاده شد. در این روش از دستگاه GC/MS مدل واریان ۳۶۰۰ با ستون موئین DB-۱ و برای ردیابی از سامانه یونیزاسیون الکترونی با انرژی ۷۰ eV استفاده شد. دمای محل تزریق و بخش ردیاب هر دو ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد بوده و برنامه حرارتی طوری تنظیم شد که ابتدا از حرارت ۵۰ درجه سانتی‌گراد شروع و با سرعت ۳ درجه سانتی‌گراد در دقیقه به ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد افزایش یافت. گاز حامل ازت بود. شناسایی اجسام از طریق مقایسه ضرایب بازداری و طیف جرمی مواد با نمونه‌های استاندارد صورت گرفت.

جهت بررسی اثرات ضد میکروبی، عصاره متانولی ریزوم‌های *Cyperus rotundus* با اسباب سوکسله استخراج و پس از تبخیر حلال با دستگاه تقطیر دوار در خلأ، عصاره مذکور در یخچال نگهداری شد.

میکروب‌های مورد استفاده در این پژوهش در جدول شماره ۱ ذکر شده‌اند که تمامی آنها از آزمایشگاه کنترل میکروبی دانشکده داروسازی شهید بهشتی تهیه شدند (کلادوسپوریوم هرباریوم M۲۰ از دانشگاه استراتکلاید، گلاسکو تهیه شد). از محیط کشت آگار malt extract برای رشد قارچ و از محیط کشت مولر هیتون آگار برای رشد باکتری‌ها استفاده شد. یک لوپ از کلنی ۲۴ ساعته باکتری‌ها از

محیط کشت جامد برداشته و در یک لوله آزمایش حاوی ۵ میلی‌لیتر نرمال سالین استریل (۱۰ میلی‌لیتر برای قارچ‌ها) کاملاً مخلوط شد. در مورد قارچ‌ها از نمونه اسپور آن‌ها استفاده شد و به مدت ۷ روز کشت داده شد تا به تعداد مناسب برسند. غلظت این سوسپانسیون میکروبی با رقیق کردن اولیه با نرمال سالین به گونه‌ای تنظیم شد که در طول موج ۶۲۵ nm در دستگاه اسپکتروفوتومتر مرئی-بنفش، ترانس‌میتانس ۹۰ درصد بدهد (جذب ۰/۱-۰/۰۸). کدورت حاصل معادل نیمه مک فارلند (۱۰۸ cfu) می‌باشد. مقدار این سوسپانسیون در هر پلیت حاوی محیط کشت ۲۰۰ μ l است.

۵۰۰ میلی‌گرم از عصاره گیاه را در ۱ میلی‌لیتر متانول کاملاً حل کرده، سپس رقت‌های ۲۵۰، ۱۲۵، ۶۲/۵ و ۳۱/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تهیه شد. ۲۰۰ میکرولیتر از هر لوله آزمایش حاوی عصاره‌های متانولی را روی دیسک‌های کاغذی قرار داده که پس از خشک شدن روی پلیت‌های حاوی میکروب قرار گرفتند. هر پلیت به ۵ قسمت مساوی برای رقت‌های مختلف عصاره گیاه تقسیم شد. پلیت‌های حاوی باکتری، به مدت یک ساعت در یخچال و سپس در انکوباتور درجه سانتی‌گراد ۳۷ به مدت ۲۴ ساعت، پلیت‌های حاوی *A. niger* و *Claudosporium* به ترتیب به مدت ۴۸ و ۷۲ ساعت در حرارت ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و هاله عدم رشد برحسب میلی‌متر اندازه‌گیری شد. آزمایش سه بار تکرار و متوسط هاله‌ها ثبت شدند.

نتایج

میزان اسانس موجود در ریزوم‌های گیاه اندک بود، به طوری که با کمک حلال از دستگاه کلونجر استخراج شد. حلال حاوی اسانس به رنگ زرد کم‌رنگ بود که مواد حاصل از تجزیه آن در جدول شماره ۲ مشاهده می‌شوند. بررسی اثر ضد میکروبی عصاره گیاه *C. rotundus* نشان می‌دهد که رقت‌های مختلف آن اثری روی سالمونلا، اشریشیا کولی، آسپریژیلوس نایجر و کلادوسپوریوم هرباسیوم ندارد و تنها روی باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و میکروکوکوس لوتئوس موثر می‌باشد (جدول شماره ۱).



جدول شماره ۱- اثر ضد میکروبی رقت‌های مختلف عصاره متانولی گیاه با استفاده از روش انتشار دیسک

Mg/ml					ATCC	میکروب‌های مورد پژوهش
۳۱/۲۵	۶۲/۵	۱۲۵	۲۵۰	۵۰۰		
۰	۰	۰	۰	۰	G ⁻	سالمونلا sp.
۰	۰	۰	۰	۰	G ⁻	اشریشیا کولی
۵	۸	۱۲	۱۴	۱۸	G ⁺	میکروکوکوس لوتئوس
۰	۰	۱۳	۱۵	۲۰	G ⁺	استافیلوکوکوس اورئوس
۰	۰	۰	۰	۰	-	آسپرژیلوس نایجر
۰	۰	۰	۰	۰	-	کلادوسپوریوم هریاس* یوم

جدول شماره ۲- ترکیبات شناسایی شده در اسانس ریزوم‌های گیاه *Cyperus rotundus*

ردیف	Compounds Name	RRI [®]	%
۱	α -pinene	۹۳۹	۰/۳
۲	β -pinene	۹۸۰	۰/۴
۳	Limonene	۱۰۳۵	۰/۲
۴	E- pinocarveol	۱۱۴۲	۲/۴
۵	Borneol	۱۱۷۱	۰/۵
۶	Myrtenal	۱۱۹۳	۲/۲
۷	Myrtenol	۱۱۹۸	۱/۱
۸	1,5,5- trimethyl 6-methylene cyclohexane	-	۰/۸
۹	Cuminal	۱۲۳۹	۰/۱
۱۰	Carvacrol methyl ether	۱۲۴۴	۰/۲
۱۱	Carvone	۱۲۴۸	۰/۲
۱۲	Anethol	۱۲۸۳	۰/۴
۱۳	Thymol	۱۲۹۱	۰/۲
۱۴	Carvacrol	۱۲۹۸	۰/۲
۱۵	α -Copaene	۱۳۷۰	۰/۷
۱۶	Cyperene	۱۳۹۸	۱/۳
۱۷	α -Patchoulene	۱۴۵۰	۰/۸
۱۸	7-epi- α - selinene	۱۵۲۶	۵/۱
۱۹	α -Calacorene	۱۵۴۳	۰/۴
۲۰	Spathulenol	۱۵۷۶	۱۱/۰
۲۱	Caryophyllene oxide	-	۵/۷
۲۲	cyperol	۱۶۱۶	۱/۶
۲۳	α -muurolol	۱۶۴۶	۳/۳
۲۴	E-E-Farnesol	۱۶۹۹	۲۰/۱
۲۵	α -Cyperone	۱۷۰۶	۳۲/۰
مونوترپنوئیدها			
سزکوئی ترین‌های هیدروکربنی			
سزکوئی ترین‌های اکسیژنه			

RRI[®]: ضرایب بازداري نسبي



بحث

بررسی اثر ضد میکروبی عصاره گیاه *C. rotundus* نشان می‌دهد که رقت‌های مختلف آن اثری روی سالمونلا، اشریشیاکولی، آسپرژیلوس نایجر و کلادوسپوریوم هریاسیوم ندارد. غلظت مهارکنندگی برای باکتری‌ها (استافیلوکوکوس اورئوس و میکروکوکوس لوتئوس) به ترتیب ۱۲۵ و ۳۱/۲۵ Mg/ml می‌باشد. عموماً مشخص شده که باکتری‌های گرم منفی، احتمالاً به خاطر لیپوپلی ساکاریدهای دیواره سلولی‌شان نسبت به گرم مثبت‌ها مقاوم‌تر هستند [۳۲].

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از دکتر هادی مهرگان متخصص فارماسیوتیکس و عضو هیأت علمی دانشکده داروسازی شهید بهشتی جهت راهنمایی‌های ارزنده در آزمایش‌های میکروبی این پژوهش و دکتر سعید زمانی‌زاده نجاری جهت انجام مراحل عملی این تحقیق سپاسگزاری و قدردانی می‌شود.

مجموعاً در این اسانس ۲۵ ماده مشتمل بر ۹۱/۲ درصد کل اسانس شناسایی شدند. عمده این اسانس را سسکویی‌ترپنوئیدها تشکیل می‌دهند (۸۲/۰ درصد) که در بین آن‌ها آلفا-سیپرون ۳۲/۰ درصد و اسپاتولنول، ۱۱/۰ درصد درصد بالاتری را به خود اختصاص می‌دهند. سسکویی‌ترین‌های اکسیژنه و هیدروکربنی در این اسانس به ترتیب ۸۳/۷ درصد و ۸/۳ درصد هستند. ۸/۸ درصد ترکیبات شناسایی شده نیز از گروه مونوترپنوئیدها می‌باشند. آلفا-سیپرون در برخی مقالات به عنوان یکی از اجزاء [۲۶، ۲۷] یا ماده عمده اسانس [۲۵] گزارش شده است. تعدادی از سایر اجزای شناسایی شده نیز در سایر اسانس‌ها گزارش شده‌اند مانند آلفا- و بتا-پینن، آلفا-کوپائن، سیپرن، کاریوفیلن اکساید و آلفا-کالاکورن [۲۶، ۲۷]. ترکیب شماره ۸، از گروه مونوترپنوئیدهای سیکلوهاگزان‌ی بوده و قبلاً در اسانس گیاهان دیگر گزارش شده است [۳۰، ۳۱].

منابع

1. Ghahreman A. Flora of Iran. Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, 1997, Vol. 16. No. 1923.
2. Mozaffarian V. A Dictionary of Iranian Plants Names. Farhang Mo'aser, Tehran, 1996, pp: 174 - 5.
3. Thebtaranonth C, Thebtaranonth Y, Wanauppathamkul S and Yuthavong Y. Antimalarial sesquiterpenes from tubers of *Cyperus rotundus*: structure of 10, 12-peroxycalamenene, a sesquiterpene endoperoxide. *Phytochem*. 1995; 40: 125 - 8.
4. Sayed HM, Mohamed MH, Farag SF, Mohamed GA and Proksch P. A new steroid glycoside and furochromones from *Cyperus rotundus* L. *Nat. Prod. Res*. 2007; 21: 343 - 50.
5. Tam CU, Yang FQ, Zhang QW, Guan J and Li SP. Optimization and comparison of three methods for extraction of volatile compounds from *Cyperus rotundus* evaluated by gas chromatography-mass spectrometry. *J. Pharm. Biomed. Anal*. 2007; 44: 444 - 9.
6. Jeong SJ, Miyamoto T, Inagaki M, Kim YC and Higuchi R. Rotundines A-C, three novel sesquiterpene alkaloids from *Cyperus rotundus*. *J. Nat. Prod*. 2000; 63: 673 - 5.
7. Mo'men Hossaini Tonekaboni SM. Tohfe-ye Hakim Mo'men. Mahmoodi Bookshop, Tehran, 1979, pp: 484 - 5.
8. Yazdanparast R and Ardestani A. *In Vitro* Antioxidant and Free Radical Scavenging Activity of *Cyperus rotundus*. *J. Med. Food*. 2007; 10: 667 - 74.
9. Natarajan KS, Narasimhan M, Shanmugasundaram KR and Shanmugasundaram ER. Antioxidant activity of a salt-spice-herbal



- mixture against free radical induction. *J. Ethnopharmacol.* 2006; 105: 76 - 83.
10. Ardestani A, Yazdanparast R. *Cyperus rotundus* suppresses AGE formation and protein oxidation in a model of fructose-mediated protein glycoxidation. *Int. J. Biol. Macromol.* 2007; 41: 572 - 8.
 11. Yu HH, Lee DH, Seo SJ and You YO. Anticariogenic properties of the extract of *Cyperus rotundus*. *Am. J. Chin. Med.* 2007; 35: 497 - 505.
 12. Lemaure B, Touché A, Zbinden I, Moulin J, Courtois D, Macé K and Darimont C. Administration of *Cyperus rotundus* tubers extract prevents weight gain in obese Zucker rats. *Phytother. Res.* 2007; 21: 724 - 30.
 13. Sharma R and Gupta R. *Cyperus rotundus* extract inhibits acetylcholinesterase activity from animal and plants as well as inhibits germination and seedling growth in wheat and tomato. *Life Sci.* 2007; 80: 2389 - 92.
 14. Raut NA and Gaikwad NJ. Antidiabetic activity of hydro-ethanolic extract of *Cyperus rotundus* in alloxan induced diabetes in rats. *Fitoterapia* 2006; 77: 585 - 8.
 15. Ngamrojanavanich N, Manakit S, Pornpakakul S and Petsom A. Inhibitory effects of selected Thai medicinal plants on Na⁺,K⁺-ATPase. *Fitoterapia* 2006; 77: 481 - 3.
 16. Uddin SJ, Mondal K, Shilpi JA and Rahman MT. Antidiarrhoeal activity of *Cyperus rotundus*. *Fitoterapia* 2006; 77: 134 - 6.
 17. Duarte MC, Figueira GM, Sartoratto A, Rehder VL and Delarmelina C. Anti-Candida activity of Brazilian medicinal plants. *J. Ethnopharmacol.* 2005; 97: 305 - 11.
 18. Seo WG, Pae HO, Oh GS, Chai KY, Kwon TO, Yun YG, Kim NY and Chung HT. Inhibitory effects of methanol extract of *Cyperus rotundus* rhizomes on nitric oxide and superoxide productions by murine macrophage cell line, RAW 264.7 cells. *J. Ethnopharmacol.* 2001; 76: 59 - 64.
 19. Sripanidkulchai B, Wongpanich V, Laupattarakasem P, Suwansaksri J and Jirakulsomchok D. Diuretic effects of selected Thai indigenous medicinal plants in rats. *J. Ethnopharmacol.* 2001; 75: 185 - 90.
 20. Weenen H, Nkunya MH, Bray DH, Mwasumbi LB, Kinabo LS and Kilimali VA. Antimalarial activity of Tanzanian medicinal plants. *Planta Med.* 1990; 56: 368 - 70.
 21. Weenen H, Nkunya MH, Bray DH, Mwasumbi LB, Kinabo LS, Kilimali VA and Wijnberg JB. Antimalarial compounds containing an alpha,beta-unsaturated carbonyl moiety from Tanzanian medicinal plants. *Planta Med.* 1990; 56: 371 - 3.
 22. Gupta MB, Palit TK, Singh N and Bhargava KP. Pharmacological studies to isolate the active constituents from *Cyperus rotundus* possessing anti-inflammatory, anti-pyretic and analgesic activities. *Indian J. Med. Res.* 1971; 59: 76 - 82.
 23. Shinde S, Phadke S and Bhagwat AW. Effect of Nagarmotha (*Cyperus rotundus* Linn) on reserpine-induced emesis in pigeons. *Indian J. Physiol. Pharmacol.* 1988; 32: 229 - 30.
 24. Sayed HM, Mohamed MH, Farag SF, Mohamed GA and Proksch P. A new steroid glycoside and furochromones from *Cyperus rotundus* L. *Nat. Prod. Res.* 2007; 21: 343 - 50.
 25. Zoghbi MDGB, Andrade EHA, Carreira LMM and Rocha EAS. Comparison of the main components of the essential oils of "priprioca": *Cyperus articulatus* var. *articulatus* L., *C. articulatus* var. *nodosus* L., *C. prolixus* Kunth and *C. rotundus* L. *J. Essent. Oil Res.* 2008; 20: 42 - 6.
 26. Kilani S, Abdelwahed A, Ammar RB, Hayder N, Ghedira K, Chraief I, Hammami M and Chekir-Ghedira L. Chemical composition, antibacterial and antimutagenic activities of essential oil from (Tunisian) *Cyperus rotundus*. *J. Essent. Oil Res.* 2005; 17: 695 - 700.
 27. Tam CU, Yang FQ, Zhang QW, Guan J and Li SP. Optimization and comparison of three methods for extraction of volatile compounds from *Cyperus rotundus* evaluated by gas



chromatography-mass spectrometry. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2007; 44: 444 - 9.

28. Dhillon RS, Singh S, Kundra S and Basra AS. Studies on the chemical composition and biological activity of essential oil from *Cyperus rotundus* Linn. *Plant Growth Regulation* 1993; 13: 89 - 93.

29. Sonwa MM and König WA. Chemical study of the essential oil of *Cyperus rotundus*. *Phytochem.* 2001; 58: 799 - 810.

30. Christen P and Kapetanidis I. Study on the leaves of *Lycium halimifolium* Miller. (Solanaceae). Part 2. Identification of constituents extracted by steam distillation. *Pharm. Acta Helv.* 1987; 62: 158 - 62.

31. Rewat AKS, Tripathi RD, Khan AJ and Balasubrahmanyam VR. Essential oil components as markers for identification of *Piper betle* L. cultivars. *Biochem. Syst. Ecol.* 1989; 17: 35 - 8.

