

إستخلاص المركبات الطبيعية من الكالس المُحفز لنبات المريمية *Salvia officinalis* L. وتقييم فعاليتها المضادة للأكسدة

علي فدعم عبدالله المحمدي

شامل إسماعيل نعمة

أستاذ مساعد

مدرس

مختبر الزراعة النسيجية والتفانة الإحيائية - مركز دراسات الصحراء - جامعة الأنبار

Email: shamil7899@yahoo.com

المُستخلص

المريمية من النباتات الطبية المعروفة بخصائصها الصيدلانية، لذا هدفت الدراسة الحالية إلى إستعمال فحص MTT في تحديد قدرة المركبات الطبيعية لنبات المريمية في تثبيط تكون الجذر الحر داخل الجسم الحي ومحاولة تحفيز إنتاج تلك المركبات ذات القيمة العالية في الصناعة الدوائية من خلال إضافة تراكيز مختلفة من جاسمونات المثل إلى الكالس المُستحث من السويقة الجنينية السفلى والورقة الفلجية، بإختلاف محلول الإستخلاص. أجريت عملية الإستخلاص في دائرة البحوث الطبية/ وزارة العلوم والتكنولوجيا المُدمجة. أظهرت النتائج وجود تأثير معنوي للجزء النباتي المُستعمل وتراكيز إضافة جاسمونات المثل والتداخل بين عاملي الدراسة في فحص MTT. أعطى الكالس المُستحث من الورقة الفلجية زيادة في النشاط الإمتصاصي وصل إلى 0.375 و 0.422 و 0.562 عند إستعمال كلاً من الهكسان وخلات الأثيل والميثانول كمحاليل إستخلاص بالتتابع. سببت تراكيز جاسمونات المثل زيادة معنوية في فحص MTT عند إستعمال خلات الأثيل كمحاليل إستخلاص وأعطى مستخلص الكالس منه قيمة إمتصاصية بلغت 0.420 عند التركيز 300 مايكرومول من جاسمونات المثل، بينما أعطى التركيز 200 مايكرومول أعلى إمتصاص بلغ 0.576 عند إستعمال الميثانول كمحلول إستخلاص. أثر التداخل الثنائي بين عاملي الدراسة معنوياً ولمحاليل الإستخلاص الثلاث.

الكلمات المفتاحية: نبات المريمية، فحص MTT، جاسمونات المثل.

The Iraqi Journal of Agricultural Sciences –1541-1548: (6) 48/ 2017

Neamah & Almehemdi

EXTRACTION OF NATURAL COMPOUNDS FROM CALLUS INDUCED OF COMMON SAGE PLANT *Salvia officinalis* L. AND THEIR EVALUATION OF ANTIOXIDANT ACTIVITY

S. I. Neamah

A. F. Almehemdi

Lecturer

Assist. Prof.

Tissue Culture and Biotechnology Laboratory- Center of Desert Studies- University of Anbar
ABSTRACT

Common sage (*Salvia officinalis* L.) is a medicinal plant well known for its pharmacological properties. The current study was tested by the MTT assays to determine the inhibitory of free radical scavenging capacity of natural compounds *In vivo*, and stimulation of production because its important products in pharmaceutical industry by using different concentrations of methyl jasmonate in callus of induced from hypocotyl and cotyledon, with different the solvent of extract. The extraction was carried out at the department of Medical Research- Ministry of Sciences and Technology. The results showed that the explant, concentration of methyl jasmonate and interaction between studied factors significantly effected at the MTT assay. The callus of induced from cotyledon gave the highest activity with absorbance reached 0.375, 0.422, and 0.562, when used the solvent of extract hexan, ethyl acetate, and methanol, respectively. The concentrations of methyl jasmonate caused by a significant reduction in the MTT assay, When using ethyl acetate as a solvent for extracting callus gave an absorbance value of 0.420 at 300 μ M concentration of methyl jasmonate. While, the concentration 200 μ M of methyl jasmonate gave the highest of absorbance 0.576 when using methanol the solvent of extract. The interaction of the two studied factors of the experiment significantly effected all the solvents of extraction.

Keywords: *Salvia officinalis* L., MTT assay, Methyl Jasmonate.

*Received:16/4/2017, Accepted:14/8/2017

المقدمة

تُعد المريمية (*Salvia officinalis* L.) Common sage المنتمية للعائلة الشفوية (Lamiaceae) من النباتات المعروفة بقيمتها الطبية والعطرية، إذ تمتاز بإحتواءها على العديد من الزيوت الطبيعية الأساسية (5 ، 24) وأنواع مختلفة من المركبات العطرية والتربينية (16) فضلاً عن إحتواءها على مزيج من الأحماض الفينولية والمركبات الفلافونيدية (15) أستمدت من خلالها للكثير من الخصائص البايولوجية في كونها مضادات للأكسدة (10) ومضاد للسرطان ومضاد للزهايمر ومضاد لأمراض القلب والأوعية الدموية (17) ومضاد للالتهابات (3) ومضاد للجراثيم (18) ومضاد للتشنجات ومنظم لهرمون الجنس (14). توصف مركبات الأيض الثانوي باعتبارها من أهم النواتج الطبيعية التي يتمتع بها نبات المريمية بتركيز عالية، ويصنف الكثير منها بكونها من مضادات الأكسدة الطبيعية نظراً لدورها في حماية الخلية ومكوناتها الحيوية من مخاطر الجذر الحر الذي ينشأ خلال عملية أكسدة الغذاء لإنتاج الطاقة في الجسم البشري، إذ يعمل على مهاجمة وتدمير الأجزاء الخلوية مسبباً أضراراً بالغة في المادة الوراثية والوظائف الخلوية (21). بالنظر لما تملكه تلك المركبات من قدرة على منع أو إبطاء عملية أكسدة الغذاء داخل الأغشية الخلوية، فضلاً عن دورها في عملية أكسدة الدهون وإزالته أو التقليل من أثره عن طريق سلسلة من الأنظمة الدفاعية تمتلكها تلك المركبات مما يساهم في حماية تلك الخلايا من التلف البايولوجي والذي يعد الأجهاد المؤكسد أساساً لنشوئه وتطوره (23). لذا وجب إيجاد الطرائق العلمية الحديثة في تحفيز بناء وإستخلاص تلك المركبات وبيان فوائدها.

أتجهت الأنظار صوب التقانة الإحيائية عامةً وتقانة زراعة الانسجة النباتية بصورة خاصة في توفير إنتاج الكثير من مركبات الأيض الثانوي نتيجة لوجود بعض المحددات التي تحول دون القدرة على إنتاجها بطرق الزراعة التقليدية منها ما هو متعلق بالظروف البيئية المناسبة والتغيرات الفصلية من موسم لآخر أو تلك المتمثلة بإرتفاع كلف الإنتاج أو لأسباب تتعلق بالأضرار الناجمة عن الأوقات الزراعية المختلفة أو - إنتاج الكالس المُحفز: عُقمت بذور المريمية بمحلول NaOCl 2.0% لمدة 15 دقيقة، وغسلت بالماء المقطر

لوجود محددات أخرى تتعلق بالنبات نفسه، مما أوجب إيجاد الطرائق البديلة لإنتاج تلك المركبات من مصادرها الطبيعية في حين لا تتأثر تلك التقانة بالمحددات المذكورة آنفاً فضلاً عن إمكانية زيادة في إنتاج تلك المركبات من خلال إجراء التحولات البايولوجية في مسارات تصنيع تلك المركبات ذات القيمة الصناعية بإتجاه زيادة إنتاجها، علاوةً على توفير التقانة للظروف المثالية لإنتاج تلك المركبات من خلال التحكم في نوع وتركيز البواديء والمنظمات المُضافة للمزارع النسيجية ومن تلك المنظمات جاسمونات المثل (6). صُنفت مركبات الجاسمونات بإعتبارها من منظمات النمو النباتية المُكتشفة حديثاً، ويعتبر جاسمونات المثل أحد أهم تلك المركبات ويتميز بنشاطه البايولوجي العالي في إعاقة نمو النسيج النباتي المُضاف إليه، إذ أثبتت التجارب الحقلية والمختبرية على حدٍ سواء دورها في إحداث كثير من التغيرات الفسلجية داخل الأنسجة المتباينة للنبات وهذا يحدده محتوى تلك الأنسجة من مركبات الجاسمونات، فضلاً عن دورها في إعادة تنظيم إنتاج خلايا بعض الأنواع النباتية للمركبات الأساسية والثانوية، ويكون هذا من خلال نظام دقيق تؤثر فيه مركبات الجاسمونات محدثةً تغييراً في التعبير الجيني لتلك الخلايا وبالتالي تحفزها على إظهار الجينات المسؤولة عن البناء الحيوي لتلك المركبات (12). استعملت مركبات الجاسمونات كمنظمات نمو فعالة في الكثير من التطبيقات العملية لتقانة زراعة الأنسجة النباتية منها تحفيز إنتاج بعض مركبات الأيض الثانوي خارج الجسم الحي (1 ، 6 ، 22) وفي إمكانية تحفيز ونشوء الأجنة الجسمية لبعض النباتات الإقتصادية خارج الجسم الحي (6). تهدف هذه الدراسة إلى تحديد قدرة التراكيز المختلفة من جاسمونات المثل في تحفيز إنتاج المركبات الطبيعية القادرة على تثبيط تكون الجذر الحر داخل الجسم البشري وتحديد الجزء النباتي الأكثر استجابةً لإنتاج تلك المركبات، من خلال إستعمال الهكسان وخلات الأثيل والميثانول كمحاليل لإستخلاص المركبات الطبيعية. بالإعتماد على فحص MTT في تقدير الفعالية الحيوية لتلك المُستخلصات.

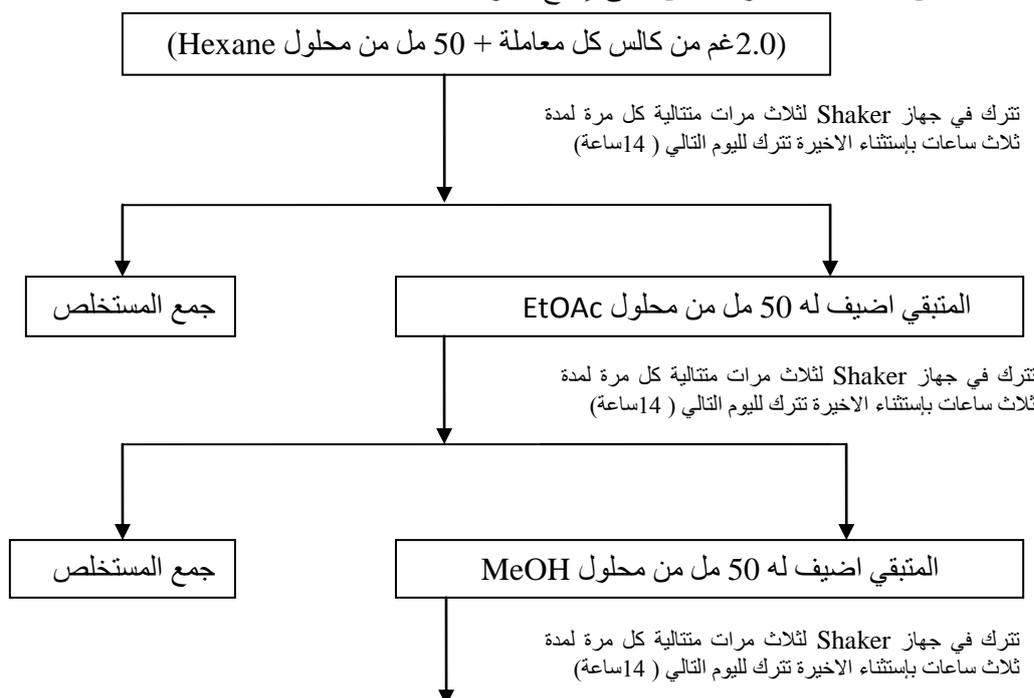
المواد وطرائق البحث

المعقم لثلاث مرات متتالية بعدها زرعت على وسط غذائي مُعد نوع MS خالٍ من منظمات النمو (19). حُضنت البذور

الطبيعية بأخذ 250 ملغم من الكالس وزرعه في وسط الإدامة مضافاً له جاسمونات المثيل بتركيز مختلفة (0، 100، 200 ، 300) مايكرومول. حُضنت الزروع ولمدة أربعة أسابيع في الظروف المشار لها في زراعة البذور.

- الإستخلاص: لغرض إستخلاص المركبات الطبيعية من الكالس المُحفز لنبات المريمية أُتبعَت الطريقة المُوضحة في الشكل 1 والمُستعملة من قبل Neamah (20).

على درجة حرارة $25 \pm 1^\circ\text{C}$ وإضاءة 1000 لوكس مدة 16 ساعة يومياً. تم بعدها تحت ظروف معقمة داخل كابينة إنسياب الهواء الطبقي أخذ السويقة الجنينية السفلى والورقة الفلقية من البادرات المعقمة النامية لغرض إستحثائها لتكوين الكالس. وزرعت في انابيب زراعة Screw Vials حاوية على 10 مل من الوسط الغذائي آنف الذكر مُضافاً له توليفة من منظمي النمو BA و 2,4-D بالتركيزين 0.2 و 1.0 ملغم. لتر⁻¹ بالتتابع (2)، واستعملت ذات التوليفة فيما بعد لإدامة الكالس المُستحث. حُفَز الكالس على إنتاج المركبات

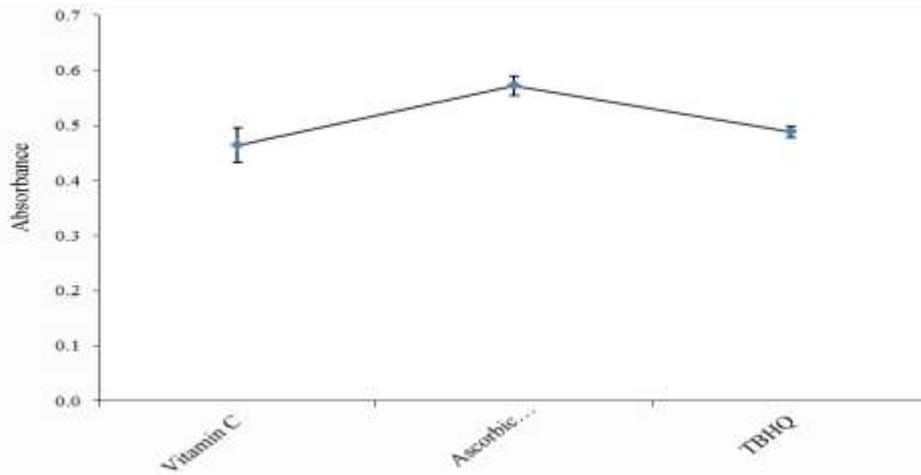


شكل 1. الطريقة المُتبعة لإستخلاص المركبات الطبيعية من الكالس المُحفز لنبات المريمية

حاضنة (Incubator) في درجة حرارة 37°C ولمدة 24 ساعة. في اليوم التالي جرى تكرار عملية المزج قبل وبعد إضافة محلول DMSO لجميع العينات ليتم بعدها سحب 200 مايكروليتر من تلك العينات ووضعها في 96-well cell culture. يتم على ضوءها تحديد الفعالية المضادة للأكسدة لجميع المستخلصات النباتية بإستعمال جهاز Universal Microplate Reader تحت طول موجي 570 نانوميترًا.

إختبار مضادات الأكسدة: جرى فحص الفعالية الإمتصاصية لبعض المركبات الكيميائية المعروفة بقدرتها على كسح الجذر الحر داخل الجسم البشري (فيتامين C، حامض الأسكوربيك، Tertiary butylhydroquinone) وإعتبارها كمركبات قياسية تحت ظروف التجربة الحالية (شكل 2).

تقدير الفعالية المضادة للأكسدة: قدرت الفعالية المضادة للأكسدة لجميع المستخلصات النباتية بإستعمال جهاز Universal Microplate Reader وفق ما جاء به كل من Liu وآخرون (11) و Zhang وآخرون (26)، وذلك بأخذ 10 ملغم من المستخلصات النباتية المُستحصل عليها في الشكل 1. أُضيف لها 1 مل من محلول Di-Methyl sulfoxide (DMSO). رُجَت العينة لمدة دقيقة واحدة بإستعمال جهاز المزج Vortex-Genie. سُجِب من كل عينة مقدار 10 مايكروليتر ووضعت في قنينة زجاجية سعة 5 مل. أُضيف لها محلول [3(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium bromide] (MTT) بمقدار 190 مايكروليتر. كُررت عملية المزج وبنفس المدة. بعدها حُفظت جميع عينات المستخلصات النباتية في



شكل 2. تقدير الفعالية الإمتصاصية لبعض مضادات الأكسدة المعروفة تحت ظروف التجربة

مُستعمل والتداخل الثنائي عند إستعمال الهكسان كمحلول لإستخلاص المركبات الطبيعية، إذ حقق الكالس المُستحث من الورقة الفلقية أعلى قدرة إمتصاصية في فحص MTT بلغ 0.375 تفوق من خلاله على الكالس المُستحث من السويقة الجنينية السفلى التي أعطت معدلاً بلغ 0.267 كما كان للتداخل الثنائي تأثيراً معنوياً في مدى تثبيط تكون الجذر الحر وحققت الورقية الفلقية النامية في وسط غذائي حاوي على 300 مايكرومول من جاسمونات المثل مقداراً لذلك

- التحليل الأحصائي: وزعت المعاملات بإستعمال التصميم التام التعشبية (C. R. D)، أُدخلت بيانات أربعة مكررات للتحليل الإحصائي وتم حساب قيمة أقل فرق معنوي (L.S.D) للمقارنة بين المتوسطات الحسابية عند مستوى احتمال 0.05 من خلال إستعمال البرنامج الحاسوبي GenState 12th Edition.

النتائج والمناقشة

بينت النتائج في الجدول 1 وجود تأثيراً معنوياً لكل جزء نباتي

جدول 1. تأثير الجزء النباتي والتراكيز المختلفة من جاسمونات المثل والتداخل بينهما في تقدير الفعالية

المُضادة للأكسدة من الكالس المُحفز لنبات المريمية والمُستعمل فيها الهكسان كمحلول إستخلاص

المتوسط	الجزء النباتي المُستعمل		تركيز جاسمونات المثل (مايكرومول)
	الورقة الفلقية	السويقة الجنينية السفلى	
0.312	0.347	0.276	0
0.304	0.355	0.253	100
0.332	0.375	0.289	200
0.337	0.422	0.252	300
	0.375	0.267	المتوسط
N.S= جاسمونات المثل		0.0243**= الجزء النباتي	L.s.d قيمة
التداخل=0.0485*			

زيادة معنوية في تثبيط تكون الجذر الحر بلغ 21.61% عن تلك المستخلصة من الكالس المُستحث من السويقة الجنينية السفلى. كما ساهمت تراكيز المعاملة بجاسمونات المثل بشكل إيجابي في فحص MTT 0.420 ومع عدم وصوله لمستوى المعنوية قياساً بما تم تحقيقه من قبل معاملتي المقارنة والتراكيز 200 مايكرومول (0.378 و 0.381)

التثبيط بلغ 0.422 بينما أعطى ذات التركيز عند تضمينه للوسط الغذائي المُعد لتنمية السويقة الجنينية السفلى (0.252) أقل معدلاً لذلك التثبيط. أثرت عوامل الدراسة والتداخل بينها معنوياً في الفعالية المُضادة للأكسدة عند إستعمال خلاص الأثيل كمحلول لإستخلاص المركبات الطبيعية، إذ حقق الكالس المُستحث من الورقة الفلقية نسبة

بالتتابع، إلا أنه قد اختلف معنوياً مع ماحققه التركيز 100 مايكرومول، إذ أعطى معدلاً بلغ 0.358. وأثر التداخل الثنائي بين معاملتي الدراسة معنوياً وحقق الكالس المستحث من الورقة الفلجية والمُعامل بالتركيز 300 مايكرومول معدلاً (2).

جدول 2. تأثير الجزء النباتي والتراكيز المختلفة من جاسمونات المثل والتداخل بينهما في تقدير الفعالية المضادة للأكسدة من الكالس المُحفز لنبات المريمية والمُستعمل فيها خلاص الأثيل كمحلول إستخلاص

تركيز جاسمونات المثل (مايكرومول)	الجزء النباتي المُستعمل		قيمة L.s.d
	السويقة الجينية السفلى	الورقة الفلجية	
0	0.333	0.423	0.378
100	0.314	0.403	0.358
200	0.400	0.361	0.381
300	0.342	0.499	0.420
المتوسط	0.347	0.422	
	الجزء النباتي = 0.0302**	جاسمونات المثل = 0.0426*	
	التداخل = 0.0602**		

الكالس المُستحث من السويقة الجينية السفلى المُمنات في وسط خالٍ من جاسمونات المثل معدلاً بلغ 0.402. مما سبق يتضح لنا قدرة عاملي الدراسة في زيادة الفعالية الحيوية للمستخلصات النباتية حتى إن الفعالية المضادة للأكسدة لبعض المعاملات قيد الدراسة قد ضاهت لفعالية بعض مضادات الأكسدة المعروفة (شكل 2). أن إختلاف القدرة التثبيطية بين السويقة الجينية السفلى والورقة الفلجية ربما يعود لأمر تتعلق بطبيعة النسيج النباتي الناشئة منه والمُختلف أصلاً في نوع وتركيز الهرمونات الحاوي عليها مع إمكانية وجود حالة من التضاد بينها وربما تكون لجاسمونات المثل دوراً في ذلك التضاد، فضلاً عن إختلاف في طبيعة المركبات الطبيعية المتمركزة في كل جزء نباتي (22).

يتضح من الجدول 3 وجود تأثير معنوي لكلا عاملي الدراسة والتداخل بينهما في مدى الفعالية الحيوية المضادة للأكسدة بالنسبة للكالس المستخلص بإستعمال الميثانول، إذ حقق الكالس المُستحث من الورقة الفلجية أعلى معدل بلغ 0.562 تفوق من خلاله معنوياً عن الكالس المُستحث من السويقة الجينية بنسبة زيادة بلغت 18.82%. كما أثرت تراكيز جاسمونات المثل معنوياً في وحقق التركيز 200 مايكرومول 0.576 تفوق من خلاله معنوياً على التركيزين 0 و 100 مايكرومول اللذان أعطيا معدلاً إمتصاصياً بلغ 0.462 و 0.472 ولم يختلفا فيما بينهما معنوياً. كما يبين الجدول أنف الذكر وجود تداخل معنوي بين عاملي الدراسة، إذ حقق التركيز 200 مايكرومول عن تضمينه للوسط المُعد لتحفيز الكالس المُستحث من الورقة الفلجية (0.656) في حين حقق

جدول 3. تأثير الجزء النباتي والتراكيز المختلفة من جاسمونات المثل والتداخل بينهما في تقدير الفعالية المضادة للأكسدة من الكالس المُحفز لنبات المريمية والمُستعمل فيها الميثانول كمحلول إستخلاص

تركيز جاسمونات المثل (مايكرومول)	الجزء النباتي المُستعمل		قيمة L.s.d
	السويقة الجينية السفلى	الورقة الفلجية	
0	0.402	0.523	0.462
100	0.471	0.473	0.472
200	0.497	0.656	0.576
300	0.521	0.595	0.558
المتوسط	0.473	0.562	
	الجزء النباتي = 0.0391**	جاسمونات المثل = 0.0553**	
	التداخل = 0.0782*		

Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) *in vitro*. M.Sc. Thesis, College of Science, Al-Mustansiriyah University. pp:126.

2.AL-Marsoomi, H. I. M. 2010. Influence of Medium Components and Explants on Callus Initiation and Secondary Metabolites Production from *Salvia officinalis* plants. M. Sc. Thesis, College of Agriculture, University of Baghdad., pp: 124.

3.Bauer J.; J. Kuehnl; J. M. Rollinger; O.S.cherer; H. Northoff; H. Werzo and A. Koeberle. 2012. Carnosol and Carnosic acids from *Salvia officinalis* Inhibit microsomal prostaglandin E2 synthase-1., *J. Pharm. Exp. Ther.*, 342(1): 169-176.

4.Cui, G.; L. Huang; X. Tang and J. Zhao. 2011. Candidate genes involved in tanshinone biosynthesis in hairy roots of (*Salvia miltiorrhiza*) revealed by cDNA microarray., *Mol. Biol. Rep.*, 38: 2471–2478.

5.El-Feky, A. M. and W. M. Aboulthana. 2016. Phytochemical and biochemical studies of sage (*Salvia officinalis* L.). *UK J. Pharm Biosci.*, 4(5): 56-62.

6.Ibrahim, K. M. 2016. Applications in Plant Biotechnology. College of Applied Biotechnology. pp: 680.

7.Kim, H. J.; F. Chen; X. Wang and H. J. H. Choi. 2006. Effect of methyl jasmonate on phenolics, isothiocyanate, and metabolic enzymes in radish sprout (*Raphanus sativus* L.). *J. Agric. Food Chem.*, 54: 7263–7269.

8.Kim, H. J.; J. M. Fonseca; J. H. Choi and C. Kubota. 2007. Effect of methyl jasmonate on phenolic compounds and carotenoids of romaine lettuce (*Lactuca sativa* L.). *J. Agric. Food Chem.*, 55: 10366–10372.

وقد يعزى التأثير الإيجابي للتركيز المختلفة من جاسمونات المثل في تحسن النشاط الإمتصاصي للمستخلصات النباتية إلى توفيره للوحدات البنائية الأساسية للكثير من المركبات الطبيعية وفي مقدمتها المركبات الفينولية بشقيها الأحماض الفينولية والفلافونيدات لاسيما الأخيرة باعتبارها من أهم مضادات الأكسدة المتوفرة في المجاميع النباتية ومنها نبات المريمية وتلعب دوراً بارزاً في تثبيط تكون الجذر الحر داخل الجسم البشري إذ أشارت دراسة Kim وآخرون (9) إلى دور جاسمونات المثل في زيادة النشاط الإنزيمي لبعض الإنزيمات داخل النبات ومنها إنزيم Phenylpropanoid ammonia-lyase وهو الأنزيم المتخصص المسؤول عن تحفيز المسار الأيضي Phenylpropanoid المسؤول عن بناء المركبات الفينولية في النبات، مما يسبب في زيادة تراكم تلك المركبات. فضلاً عن دور مركبات الجاسمونات في التأثير على التعبير الجيني للخلية النباتية مما يساهم في تفسير الإنزيمات المسؤولة عن بناء المركبات الفينولية (4) ، أما التركيز العالية عن الحد الأمثل من جاسمونات المثل فمن شأنها أن تؤثر بشكل سلبي على الكالس المستحث من الجزء النباتي، إذ يؤدي إلى إنخفاض النشاط الإنزيمي المسؤول عن بناء هذه المركبات، كل ماسبق ذكره أشارت إليه الكثير من الدراسات (7 ، 8 ، 12 ، 25). ان التباين الذي أحدثته التركيزات المختلفة من جاسمونات المثل بين كلا الجزئين النباتيين في القدرة الإمتصاصية وبالتالي القدرة المضادة لكسح الجذر الحر قد أدى إلى حدوث إختلاف معنوي للتداخل بين عاملي الدراسة، إذ نلاحظ مدى تأثير الجزء النباتي بجاسمونات المثل قد إختلف تبعاً لإختلاف الجزء والتركيز المُستعمل فعلى سبيل المثال نجد في الجدول 1 بأن جاسمونات المثل لم تؤثر بشكل واضح على القدرة الإمتصاصية للسويقة الجنينية السفلى عكس ما هو موجود بالورقة الفلجية والتي ازدادت فيها القدرة الإمتصاصية لتصل عند التركيز 300 مايكرومول إلى 0.422 وهكذا بالنسبة لبقية المستخلصات النباتية.

REFERENCES

1.Al-Attar, E. S. A. 2012. Stimulation of some Secondary Metabolites with Medical Important of

9. Kim, H. J.; K. J. Park and J. H. Lim. 2011. Metabolomic analysis of phenolic compounds in Buckwheat (*Fagopyrum esculentum* M.) sprouts treated with methyl jasmonate. *Agric. Food Chem.*, 59: 5707-5713.
10. Kontogianni V. G.; G. Tomic; I. Nikolic; A. Nerantzaki; N. Sayyad; S. Stosic-Grujicic; I. Stonovic; I. P. Gerothanassis and A. G. Tzakos. 2013. Phytochemical profile of *Rosmarinus officinalis* and *Salvia officinalis* extracts and correlation to their antioxidant and antiproliferative activity. *Food Chem.*, 136(1): 120-129.
11. Liu, Y.; S. S. Roy; R. H. C. Nebie; Y. Zhang; and M. G. Nair. 2013. Functional food quality of *Curcuma caesia*, *Curcuma zedoraria* and *Curcuma aeruginosa* Endemic to Northeastern India. *Plant Foods Hum. Nutr.*, 68(1): 72-77.
12. Luo, H.; Y. Zhu; J. Song ; L. Xu; C. Sun; X. Zhang; Y. Xu; L. He; W. Sun; H. Xu; B. Wang; X. Li; C. Li; J. Liu and S. Chen. 2014. Transcriptional data mining of *Salvia miltiorrhiza* in response to methyl jasmonate to examine the mechanism of bioactive compound biosynthesis and regulation. *Physiol. Plant.*, 152: 241–255.
13. Ma, Y.; L. Yuan; B. Wu; X. Li; S. Chen and S. Lu. 2012. Genome-wide identification and characterization of novel genes involved in terpenoid biosynthesis in (*Salvia miltiorrhiza*). *J. Exp. Bot.*, 63: 2809-2823.
14. Maniciula D.; C. Roba; I. Oprean and R. M. Barbu. 2013. Synthesis of ursolic acid dipeptide derivatives with potential biological activity. *Rev. Chim.*, 64(12): 1454-1458.
15. Martins, N.; L. Barros; C. Santos-Buelga; S. Silva and I. C. F. R. Ferreira. 2015. Evaluation of bioactive properties and phenolic compounds in different extracts prepared from *Salvia officinalis* L. *Food Chim.*, 170: 378-385.
16. Mayer, B.; C. H. Baggio; C. S. Freitas; A. C. Dos Santos; A. Twardowschy; H. Horst; M. G. Pizzolatti; G. A. Micke; M. Heller; E. P. Dos Santos; M. F. Otuki and M. C. A. Marques. 2009. Gastroprotective Constituents of *Salvia officinalis* L. *fitoterapia*, 80: 421-426.
17. Miraj, S. and S. Kiani. 2016. A review study of therapeutic effect of *Salvia officinalis* L. *Der Pharmacia Letter*, 8 (6): 299-303.
18. Mounyr, B.; M. Sadiki; W. O. Abdellah; S. El-Abed and S. I. Korachi. 2014. Antibacterial Activity of Extracts From *Salvia officinalis* and *Rosmarinus officinalis* Obtained by Sonication and Maceration Methods. *Int. J. Pharm. and Pharmace. Sci.*, 6(2): 167-170.
19. Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco cultures. *Physiol. Plant.*, 15: 473-497.
20. Neamah, S. I. 2015. *In vivo* and *In vitro* Production of Active Ingredients from Buckwheat (*Fagopyrum esculentum* M.) Plants. Ph.D Dissertation, Department of Field Crops, College of Agriculture, University of Baghdad. pp: 167.
21. Neamah, S. I. 2016. Antioxidant and Lipid Peroxidation Inhibitory of Compounds in Common Buckwheat. *TIJAS.*, 47(5): 1328-1333.
22. Neamah, S. I. 2017. Effect of Explant and Methyl Jasmonate on Production of Phenolic Compounds *In vitro* of *Salvia officinalis*. *Jtuas*, 17(2): 76-86.
23. Nuttall, S.L.; M. J. Kendall; E. Bombarardelli and P. Morazzoni. 1998. An evaluation of the antioxidant activity of a standardized grape seed extract, leuco select. *J. Clin. Pharm. Ther.*, 23: 385-389.
24. Rus, C. F.; P. Georgeta; E. Alexa; R. M. Sumaalan and D. M. Copolovici. 2015. Antifungal activity and chemical composition of *Salvia officinalis* L. essential oil. *Res. J. Agri. Sci.*, 47(2): 186-193.
25. Wang, S. Y. and W. Zheng. 2005. Preharvest application of methyl jasmonate increases fruit quality and antioxidant capacity in raspberries. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 40 :187–195.

26.Zhang, C. R.; S. A. Aldosari; P. S. P. V. Vidyasagar; P. Shukla; and M. G. Nair. 2015. Health-benefits of date fruits produced in Saudi Arabia based on in vitro antioxidant, anti-

inflammatory and human tumor cell proliferation inhibitory assays. Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences.