

## شناسایی مواد تشکیل دهنده و بررسی اثرات آنتی اکسیدانی اسانس و عصاره متانولی گیاه کاکوتی کوهی (*Ziziphora clinopodioides* Lam) در مرحله قبل از گلدهی

دکتر حمزه امیری<sup>۱</sup>

### خلاصه

مقدمه: کاکوتی کوهی (*Ziziphora clinopodioides*) گیاهی است متعلق به تیره نعناع که بخش‌های هوایی آن به عنوان ادویه و در طب سنتی در درمان سرماخوردگی و سرفه به کار می‌رود. روش: اسانس به دست آمده از بخش‌های هوایی این گیاه توسط روش تقطیر با آب به وسیله دستگاه GC و GC/MS مورد آنالیز قرار گرفت. عصاره‌های متانولی بخش‌های هوایی گیاه نیز با روش Lin و همکاران تهیه شد. فعالیت آنتی اکسیدانی احتمالی اسانس و عصاره متانولی گیاه با استفاده از ۲ و ۲- دی فنیل-۱- پیکریل هیدرازیل (DPPH) و بتاکاروتن- لینولئیک اسید مورد بررسی قرار گرفت. یافته‌ها: در مجموع ۲۳ ترکیب که ۹۸/۶٪ از کل اسانس را شامل می‌شدند مورد شناسایی قرار گرفتند. ترکیبات اصلی آن به ترتیب شامل پولگون (۳۰/۱٪)، تیمول (۲۱/۳٪)، پارامنتا-۳-ان-۸-ال (۱۲/۹٪)، پیریتنون (۹/۳٪)، و ۱ و ۸- سینئول (۴/۱٪) بود. در سیستم DPPH میزان  $IC_{50}$  برای فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌های متانولی ۲۱/۴  $\mu\text{g/ml}$  بود در حالی که میزان  $IC_{50}$  برای اسانس ۵۵/۳  $\mu\text{g/ml}$  به دست آمد. در روش بتاکاروتن- لینولئیک اسید فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره متانولی و اسانس به ترتیب ۸۹/۳٪ و ۶۱/۶٪ می‌باشد. نتیجه‌گیری: این مطالعه ضمن شناسایی مواد تشکیل دهنده گیاه فوق نشان داد که به‌طور کلی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره متانولی در مقایسه با اسانس بیشتر است. واژه‌های کلیدی: *Ziziphora clinopodioides* اسانس، فعالیت آنتی اکسیدانی، عصاره متانولی

۱- استادیار گروه زیست شناسی، دانشگاه لرستان • آدرس پست الکترونیک: amiri\_h\_lu@yahoo.com

پذیرش مقاله: ۱۳۸۷/۸/۱

دریافت مقاله اصلاح شده: ۱۳۸۷/۷/۲۱

دریافت مقاله: ۱۳۸۷/۴/۱۲

## مقدمه

بی شک توسل به گیاهان دارویی، کهن ترین رهیافت بشر برای درمان بیماری‌ها بوده است و در خلال توسعه تمام تمدن‌های بشری همواره ارتباطی تنگاتنگ بین آدمی و گیاه وجود داشته است. با این حال هنوز بیشتر گونه‌های گیاهی بررسی نشده و ناشناخته مانده‌اند و هنوز زمان زیادی مانده است تا منابع جدید و با ارزش گیاهی کشف شوند. بنابراین گیاهان را می‌توان به عنوان منبعی از مواد شیمیایی بالقوه مفید دانست که تنها بخشی از آن مورد بهره‌برداری قرار گرفته است. این مواد شیمیایی بالقوه مفید را می‌توان نه تنها به عنوان دارو بلکه به عنوان الگویی بی نظیر به عنوان نقطه شروعی برای ساخت آنالوگ‌های دارویی به کار برده و همچنین به عنوان ابزاری جالب به منظور فهم و درک بیشتر و بهتر پدیده‌های زیست شناختی به کمک گرفت (۱).

رادیکال‌های آزاد، واکنش گره‌های بسیار قوی هستند که تمایل زیادی برای گرفتن الکترون وجفت کردن الکترون‌های خود دارند، لذا باعث می‌شوند تا دیگر مولکول‌ها آسیب ببینند یا عملکرد خود را از دست بدهند. خسارت‌های ناشی از واکنش‌های اکسیداتیو به DNA، پروتئین و سایر مولکول‌ها می‌تواند باعث پیشرفت و تشدید بیماری‌های قلبی عروقی، سرطان، پیری، کاتاراکت، خونریزی کبدی و ایدز گردد (۲،۳). همچنین رادیکال‌های آزاد در مکانیسم عمل برخی از آنزیم‌های هم دار سیتوکروم شرکت می‌کنند (۴). رادیکال‌های آزاد می‌توانند از منابع آگزوژن بر اثر استرس‌های اکسیداتیو تولید شوند (۵). از جمله حساس‌ترین هدف‌های پراکسیدانت‌ها می‌توان از اسیدهای چرب موجود در غشاهای بیولوژیک نام برد. اکسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع منجر به کاهش سیالیت غشاء و از بین رفتن ساختمان و عملکرد آن می‌شود که در پاتوژنز بسیاری از بیماری‌ها دخالت دارد. در نتیجه پراکسیداسیون لیپیدها، اسیدهای چرب غیر اشباع تغییر

شکل می‌دهند و در نتیجه سیالیت و پتانسیل غشای لیپیدی کاهش می‌یابد که منجر به تغییر نفوذپذیری غشاهای سلولی می‌شود. از سوی دیگر پراکسیداسیون لیپیدها بر آنزیم‌های غشایی تاثیر گذاشته، در روند انتقال یون‌ها و نیز رهاسازی مواد داخل سلولی تغییراتی ایجاد می‌شود. همچنین متابولیت‌های سیتوتوکسیک حاصل از پراکسیدهای لیپیدی در اکسیداسیون پروتئین‌های موجود در LDL اهمیت به‌سزایی دارند (۶). این روند در پاتوژنز آرترواسکلروز اهمیت ویژه‌ای دارد. با توجه به عوارض سوء رادیکال‌های آزاد، استفاده از ترکیبات آنتی‌اکسیدان ضروری به نظر می‌رسد. آنتی‌اکسیدان‌ها قادرند در مقادیر کم، غشاهای سلولی و ترکیبات مختلف موجود زنده را در مقابل اکسیدان‌ها حفظ کنند (۷). نکته حائز اهمیت آن است که بین عوامل اکسید کننده و آنتی‌اکسیدان تعادل وجود داشته باشد تا شرایط بهینه فیزیولوژیکی در بدن حفظ گردد. تولید بیش از حد عوامل اکسید کننده (مخصوصاً در عفونت‌های مزمن باکتریایی، ویروسی و انگلی) می‌تواند باعث عدم تعادل یا اصطلاحاً تنش اکسایشی شود (۸).

جنس *Ziziphora* متعلق به تیره نعناع و دارای چهار گونه‌ی *Z. clinopodioides* Lam, *Z. capitata* L., *Z. persica* Bunge., و *Z. tenuior* L. در ایران بوده که در اغلب نواحی ایران دیده می‌شوند (۹). *Z. clinopodioides* Lam. در ایران با نام محلی کاکوتی کوهی شناخته می‌شود و دارای ۹ زیر گونه بومی در ایران است. در طب سنتی دم کرده گونه‌های مختلف آن را به عنوان مسکن، ضد نفخ و ضد دل درد بکار می‌برند. در ایران بخش‌های هوایی کاکوتی کوهی را به عنوان ادویه و همچنین برای درمان سرماخوردگی و سرفه مورد استفاده قرار می‌دهند (۱۰).

هدف از این پژوهش شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس گیاه *Z. clinopodioides* Lam. در مرحله قبل از گلدهی و مقایسه آن با مرحله گلدهی و همچنین بررسی ترکیبات این اسانس در استان لرستان بود که برای اولین بار انجام

آنالیزهای GC/MS با استفاده از دستگاه Hewlett-pakard 5973 مجهز به ستون HP-5MS (۰/۲۵mm×۳۰m) و ضخامت ۰/۲۵μm) صورت گرفت. دمای ستون برای ۳ دقیقه در دمای ۶۰°C نگهداری و تا ۲۲۰°C با سرعت ۵°C در دقیقه افزایش یافت و برای ۵ دقیقه در ۲۲۰°C نگهداری شد. گاز هلیوم با سرعت جریان یک میلی لیتر در دقیقه به عنوان گاز حامل ۷۰eV مورد استفاده قرار گرفت.

شناسایی مواد متشکله اسانس به وسیله مقایسه طیف جرمی و اندیس بازداریشان با آنچه که در منابع وجود دارد صورت گرفت (۱۲).

د) اندازه گیری ترکیبات فنلی: اندازه گیری ترکیبات فنلی به وسیله روش هایی که از Folin-Ciocalteu به عنوان معرف و اسید گالیک به عنوان استاندارد استفاده می نمایند صورت گرفت. ۰/۱ میلی لیتر محلول عصاره با ۴۶ میلی لیتر آب مقطر و ۱ میلی لیتر معرف Folin-Ciocalteu با هم مخلوط و کاملاً تکان داده شد. پس از ۳ دقیقه، ۳ میلی لیتر محلول ۲٪ کربنات سدیم اضافه و مخلوط حاصل طی ۲ ساعت به طور متناوب تکان داده شد. جذب نمونه ها نیز در طول موج ۷۶۰ نانومتر اندازه گیری شد. همین روش برای کلیه محلول های استاندارد اسید گالیک و تهیه منحنی استاندارد به کار برده شد (۱۱).

ه) فعالیت آنتی اکسیدانی: بررسی فعالیت های آنتی اکسیدانی با دو روش زیر صورت گرفت:

۱) روش DPPH: فعالیت ام های هیدروژن و الکترون عصاره ها و بعضی از ترکیبات خالص از طریق بی رنگ شدن عصاره های متانولی ارغوانی رنگ DPPH اندازه گیری می شود. در این روش اسپکتروفوتومتری از رادیکال های آزاد دی فنیل پیکریل هیدرازیل (DPPH) به عنوان معرف استفاده می شود. ۵۰ میکرو لیتر از غلظت های مختلف اسانس مورد استفاده به ۵ میلی لیتر محلول متانولی ۰/۰۰۴ DPPH اضافه می گردد. بعد از ۳۰ دقیقه جذب نمونه ها در طول موج

می شود. در ضمن مطالعه اثرات آنتی اکسیدانی گیاه رشد یافته در استان لرستان و مقایسه نتایج آن با سایر بررسی های صورت گرفته در مناطق دیگر از اهداف دیگر این پژوهش به شمار می آید.

## روش بررسی

### روش استخراج اسانس

الف) تهیه نمونه گیاهی و استخراج اسانس: گیاه *Z. clinopodioides* Lam در اردیبهشت ماه ۱۳۸۶ از گردنه رازان در ۵۵ کیلومتری شهرستان خرم آباد در مرحله قبل از گلدهی جمع آوری گردید و در مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان لرستان با کد ۵۱۴۵ مورد شناسایی قرار گرفت. بخش های هوایی گیاه پس از خشک کردن در سایه جهت اسانس گیری با روش تقطیر با آب و توسط دستگاه کلونجر به مدت ۲ ساعت مورد استفاده قرار گرفت. ب) تهیه عصاره متانولی: ۱۰۰ گرم بخش هوایی گیاه در ۱ لیتر متانول خیسانده شد و به وسیله سوکسله در دمای زیر نقطه جوش به مدت ۷۲ ساعت مورد عصاره گیری قرار گرفت. عصاره حاصل به وسیله کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صاف شد و سپس توسط دستگاه روتاری در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد تغلیظ گردید (۱۱).

ج) تفکیک و شناسایی مواد متشکله اسانس: آنالیز GC با دستگاه کروماتوگراف گازی مدل Shimadzu 15A صورت گرفت. از N<sub>2</sub> به عنوان گاز حامل با سرعت (یک میلی لیتر در دقیقه) و ستون DB-5 (۰/۲mm×۵۰m) و ستون ۰/۳۲μm) استفاده شد. دمای ستون در ۶۰°C برای مدت ۳ دقیقه نگهداری و سپس با سرعت ۵°C در دقیقه تا ۲۲۰°C افزایش یافت و برای ۵ دقیقه در ۲۲۰°C ثابت گردید. درصد های نسبی با استفاده از نرم افزار کروماتوپیک C-R4A بدون استفاده از فاکتور تصحیح از سطح زیر منحنی برآورد شد.

شاهد و کنترل مثبت مقایسه گردید و به صورت درصد بیان شد (۱۱).

### نتایج

نتایج این بررسی نشان داد که بازده اسانس حاصل از بخش‌های هوایی گیاه *Z. clinopodioides* در مرحله قبل از گله‌دهی با روش Hydrodistillation معادل ۱/۴w/w می‌باشد. مواد شناسایی شده در اسانس گیاه در مرحله قبل از گله‌دهی در جدول ۱ آورده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود ۲۳ ترکیب در این اسانس شناسایی شده است که معادل ۹۸/۶٪ از مجموع ترکیبات را شامل می‌شود و شاخص‌ترین ترکیبات آن شامل پولگون (۳۰/۱٪)، تیمول (۲۱/۳٪)، پارامنتا-۳-ان-۸-ال (۱۲/۹٪)، پیریتنون (۹/۳٪) و او-۱-سینئول (۴/۱٪) می‌باشند.

بررسی حاضر نشان داد که میزان ترکیبات فنلی در عصاره متانولی گیاه معادل ۲۱ μg/mg یا ۲۱٪ وزنی-وزنی می‌باشد. توانایی جمع‌آوری رادیکال‌های DPPH، اسانس، عصاره متانولی و BHT در جدول شماره ۲ آورده شده است. بررسی حاضر نشان داد که میزان ترکیبات فنلی در عصاره متانولی گیاه معادل ۲۱ μg/mg یا ۲۱٪ وزنی-وزنی می‌باشد. توانایی جمع‌آوری رادیکال‌های DPPH، اسانس، عصاره متانولی و BHT در جدول شماره ۲ آورده شده است.

۵۱۷ نانومتر خوانده می‌شود. بازدارندگی رادیکال‌های آزاد از طریق رابطه زیر محاسبه گردید:

$$I\% = (A_{\text{blank}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{blank}}$$

که در این رابطه  $A_{\text{blank}}$  جذب واکنش کنترل (دارای تمام معرف‌ها به‌جز غلظت مشخص از اسانس مورد نظر) می‌باشد. مقادیر  $IC_{50}$  بیانگر غلظتی از اسانس است که باعث ۵۰٪ بازدارندگی فرآیندهای اکسیداتیو می‌گردد (۱۱).

۲) روش  $\beta$ -کاروتن-لینولئیک اسید: در این روش فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس‌ها به وسیله آزمایش بی‌رنگ شدن  $\beta$ -کاروتن صورت می‌گیرد. برای تهیه محلول استوک بتا کاروتن-لینولئیک اسید، ۰/۵ میلی‌گرم بتا کاروتن در ۱ میلی‌لیتر کلروفرم حل شد و ۲۵ میکرولیتر لینولئیک اسید و ۲۰۰ میلی‌گرم توین ۴۰ اضافه گردید. با استفاده از دستگاه تبخیر در خلا کلروفرم به‌طور کامل تبخیر گردید. سپس ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر اشباع از اکسیژن اضافه و ظرف حامل به شدت تکان داده شد. سپس ۲۵۰۰ میکرولیتر از مخلوط واکنشی به لوله‌های آزمایش اضافه و ۳۵۰ میکرولیتر از اسانس به دست آمده به لوله‌ها اضافه گردید و پس از ۴۸ ساعت جذب لوله‌ها در طول موج ۴۹۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. همین روش برای BHT به عنوان کنترل مثبت و شاهد که فاقد آنتی‌اکسیدان یا اسانس می‌باشد به کار برده شد. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی اسانس با

جدول ۱: مواد تشکیل دهنده اسانس گیاه *Ziziphora clinopodioides* در مرحله قبل از گله‌دهی

شماره	ترکیبات	RI	درصد	شماره	ترکیبات	RI	درصد
۱	$\alpha$ -thujene	۹۳۱	۰/۱	۱۳	isomenthone	۱۱۶۵	۱/۶
۲	$\alpha$ -pinene	۹۳۹	۰/۶	۱۴	Terpinene-4-ol	۱۱۷۷	۰/۲
۳	Camphene	۹۴۶	۰/۲	۱۵	$\alpha$ -terpineol	۱۱۸۹	۰/۸
۴	Sabinene	۹۷۰	۰/۳	۱۶	Pulegone	۱۲۳۸	۳۲/۱
۵	$\beta$ -pinene	۹۸۰	۰/۶	۱۷	Bornyl acetate	۱۲۸۵	۴/۷
۶	$\alpha$ -phellenderene	۱۰۰۵	۰/۳	۱۸	Thymol	۱۲۹۰	۲۱/۳
۷	1,8-cineole	۱۰۳۳	۴/۱	۱۹	Piperitenone	۱۳۲۰	۹/۳
۸	p-mentha-3-en-8-ol	۱۱۴۰	۱۲/۹	۲۰	$\beta$ -caryophyllene	۱۴۱۸	۰/۵
۹	$\gamma$ -terpinene	۱۰۶۲	۰/۳	۲۱	Germacrene-D	۱۴۴۸	۱/۱
۱۰	P-Mentha-3,8-diene	۱۰۷۲	۳/۷	۲۲	$\beta$ -bisabolene	۱۵۰۹	۰/۱
۱۱	Menthone	۱۱۵۲	۲/۴	۲۳	Caryophyllene oxide	۱۵۸۱	۰/۹
۱۲	Neomenthl	۱۱۶۰	۲/۵				

RI: Retention Indices

جدول ۲: نتایج بررسی اثرات آنتی‌اکسیدانی اسانس و عصاره متانولی گیاه *Ziziphora clinopodioides* در مرحله قبل از گلدهی

نمونه	روش	DPPH ( $\mu\text{g/ml}$ ) <sup>a</sup>	$\beta$ -Carotene/linoleic acid (% inhibition rate) <sup>b</sup>
اسانس		۵۵/۳±۰/۸۵	۶۱/۶±۹۰
عصاره متانولی		۲۱/۴±۵۰	۸۹/۳±۱/۹
BHT		۱۸/۰±۰/۴۰	۹۶/۶±۱/۲۹

b: درصد بازدارندگی لیپولیک اسید

a: مقادیر IC<sub>50</sub> بر حسب  $\mu\text{g/ml}$ 

## بحث

درصد تیمول در این بررسی نسبت به سایر بررسی‌های مشابه بیشتر است که احتمالاً به دلیل زمان جمع‌آوری گیاه (قبل از گلدهی) می‌باشد. بنابراین اگر در بهره‌برداری از اسانس این گیاه هدف تهیه تیمول باشد زمان قبل از گلدهی گیاه بهترین زمان برای جمع‌آوری می‌باشد. البته شرایط اقلیمی محل رویش گیاه نیز می‌تواند از موارد مهم در تغییر مواد مؤثره گیاه باشد ولی مقایسه ترکیبات اصلی تشکیل اسانس گیاه *Z. clinopodioides* Lam رشد یافته در مناطق غرب ایران تغییرات اندکی را نشان می‌دهد.

مطالعات صورت گرفته نشان داده است که پولگون (۶۵/۲٪)، ایزومنتون (۱۱/۹٪)، ۱ و ۸-سینئول (۷/۸٪) و پیریتون (۶/۵٪) ترکیبات اصلی *Z. clinopodioides subsp. bungeana* می‌باشد (۱۸).

نتایج این تحقیق با یافته‌های مطالعات قبلی که بر روی سایر گونه‌های *Ziziphora* صورت گرفته است و نشان داده‌اند که اسانس آن‌ها دارای مقادیر قابل توجهی پولگون است مطابقت دارد. در مقایسه با سایر گونه‌های *Ziziphora* مقدار پولگون در اسانس *Z. clinopodioides* کمتر می‌باشد به طوری که مقدار این ترکیب در اسانس *Z. taurica subsp. cleonioides* ۸۱/۹٪ در *Z. persica* ۶۶٪ در *Z. vychodcevia* ۵۷/۵٪ و در *Z. tenuior* ۸۷/۱٪ می‌باشد (۱۹-۲۱).

پولگون به عنوان ترکیب شاخص اسانس گونه‌های *Ziziphora* یک مونوترپن اکسیژن‌دار حلقوی با چگالی ۰/۹۳ می‌باشد که دارای بوی مطبوعی بوده و در تعدادی از

بررسی‌های چیت‌ساز و همکاران منجر به شناسایی ۲۲ ترکیب متفاوت در اسانس کاکوتی کوهی شده است که ۵ ترکیب بیش از ۷۳ درصد اسانس را تشکیل می‌دادند و به ترتیب، شامل پولگون (۲۹/۳٪)، پارامنتا-۳-ان-۸-اول (۱۹/۱٪)، نئو-منتول (۱۱/۶٪)، پیری تنون (۹/۴٪) و ۱ و ۸-سینئول (۴/۵٪) بودند (۱۳). بهروان و همکاران نیز ۲۷ ترکیب را در اسانس *Z. clinopodioides* شناسایی نمودند که عمده‌ترین این ترکیبات شامل پولگون (۴۴/۵٪)، تریپنتول (۱۴/۵٪)، متیل استات (۱۰/۹٪)، ایزونئو-منتول (۷/۱٪) و ۸-سینئول (۴/۱٪) می‌باشند (۱۴). در بررسی اسانس گیاه *Z. clinopodioides* که از اطراف شهر کرد جمع‌آوری شده است مشخص گردید که پولگون (۵۳/۲٪)، پارامنتا-۲-ان-۱-ال (۲۱/۴٪)، ۸-سینئول (۱۰/۳٪)، پارامنتا-۳-دی-ان (۳/۷٪) و بتا-پینن (۱/۶٪) ترکیبات اصلی آن می‌باشند (۴). در تحقیقات صورت گرفته در روسیه و غرب ترکیه مشخص شده است که پولگون (۲۱/۹٪-۱۳/۲٪)، ایزومنتون (۱۰/۸٪-۲٪)، منتون (۵/۴٪-۴/۶٪)، لیمونن (۸/۱٪-۱/۸٪) و ۸-سینئول (۱۴/۵٪-۲/۳٪) ترکیبات شاخص گیاه *Z. clinopodioides* می‌باشند (۱۵، ۱۶). پولگون (۳۱/۸٪)، ۱ و ۸-سینئول (۱۲/۲٪)، لیمونن (۱۰/۵٪)، منتول (۹/۱٪)، بتاپینن (۶/۸٪)، منتون (۶/۷٪)، پیری تنون (۵/۳٪) و پیریتون (۴/۲٪) به عنوان ترکیبات اصلی اسانس *Z. clinopodioides* جمع‌آوری شده از شرق ترکیه گزارش شده‌اند (۱۷). همان‌طور که بررسی حاضر نشان می‌دهد

اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های متانولی نشان می‌دهد که احتمالاً پلی‌فنل‌ها یا فلاون‌ها و فلاونوئیدها نقش مهمی در این فعالیت‌ها بازی می‌کنند (۲۲). بررسی صالحي وهمکاران در مورد اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های *Z. clinopodioides* نشان داده است که در سیستم DPPH، عصاره‌های متانولی این گیاه نسبت به عصاره‌های دیگر بیشترین اثرات را با  $IC_{50}$  برابر با ۳۰/۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر دارا است. در این مطالعه بیشتر بودن فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های متانولی را به بالا بودن میزان ترکیبات فنلی در این عصاره‌ها نسبت داده‌اند (۱۰). بررسی‌های دیگر اثرات آنتی‌اکسیدانی اسانس و عصاره‌های متانولی *Z. clinopodioides* و بعضی از گونه‌های *Ziziphora* را نشان داده‌اند (۱۰، ۲۰). فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس *Z. clinopodioides* را می‌توان به وجود ترکیباتی مثل تیمول، ۱ و ۸- سینئول و بتا کاروفیلین نسبت داد زیرا گزارشات متعددی در مورد اثرات آنتی‌اکسیدانی قابل توجه ترکیبات مذکور وجود دارد (۲۲).

### نتیجه‌گیری

با توجه به اهمیت گیاه *Z. clinopodioides* Lam که از نظر دارویی و غذایی در ایران و به ویژه مناطق غربی مورد توجه قرار دارد، مطالعه ترکیبات مؤثره آن به‌ویژه اسانس آن که از نظر پولگون و تیمول غنی است می‌تواند حائز اهمیت باشد. این بررسی نشان داد که اگر هدف از بهره‌برداری از *Z. clinopodioides* Lam استحصال پولگون باشد، بهترین زمان برای جمع‌آوری گیاه زمان گلدهی آن است در حالی که اگر هدف به‌دست آوردن تیمول باشد بهترین زمان برای جمع‌آوری گیاه قبل از گلدهی است. همچنین این بررسی نشان می‌دهد که اسانس و عصاره‌های متانولی این گیاه منابع خوبی از مواد آنتی‌اکسیدانی هستند که می‌توانند در پزشکی و بیماری‌های وابسته به ترکیبات اکسیدان و همچنین صنایع غذایی مورد استفاده قرار گیرند.

گیاهان تیره، جزء اصلی تشکیل دهنده اسانس محسوب می‌شود. پولگون ترکیبی سمی بوده که باعث صدمات حاد کبدی می‌شود. این ماده همچنین می‌تواند موجب نکرور شدید کبدی، سقط جنین و کواگولاسیون داخل رگی منتشر گردد. پولگون دارای خاصیت ضد گیاهخواری است و در طبیعت گیاه را از آسیب‌های حشرات و گیاهخواران حفظ می‌نماید و در صنعت از آن در ساخت حشره‌کش‌ها، صابون‌های عطری و دئودورانت‌ها و همچنین به عنوان طعم‌دهنده در خمیر دندان‌ها استفاده می‌شود. این ترکیب دارای خاصیت بارز ضدباکتری و ضد قارچ بوده و به‌ویژه بر روی سوش‌های مختلف سالمونلا مؤثر است. پولگون ماده‌ای ضدالتهاب بوده که فعالیت آنتی‌هیستامینی آن بر روی خوکیچه هندی بررسی شده و مشخص شده که آتاگونست گیرنده‌های  $H_1$  بوده و دارای اثرات مشابه دکس کلرفنیرآمین است (۴).

بررسی حاضر نشان داد که میزان ترکیبات فنلی در عصاره متانولی گیاه معادل ۲۱  $\mu\text{g}/\text{mg}$  یا ۲۱٪ وزنی-وزنی می‌باشد. توانایی جمع‌آوری رادیکال‌های DPPH، اسانس، عصاره متانولی و BHT در جدول شماره ۲ آورده شده است. در روش DPPH غلظتی از عصاره و اسانس که باعث ۵۰٪ بازدارندگی فعالیت‌های اکسیداتیو شد ( $IC_{50}$ ) به ترتیب ۲۱/۴ و ۵۵/۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود در حالی که  $IC_{50}$  برای BHT ۱۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. این نتایج نشان می‌دهند که اسانس و عصاره متانولی گیاه *Z. clinopodioides* به‌طور قابل توجهی میزان رادیکال‌های آزاد DPPH را کاهش می‌دهند. این بررسی همچنین نشان داد که کارایی عصاره متانولی در جمع‌آوری رادیکال‌های DPPH بیشتر از اسانس بوده اما فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن از آنتی‌اکسیدان سنتتری BHT اندکی کمتر است. در روش  $\beta$ -carotene-linoleic acid نیز میزان بازدارندگی عصاره متانولی و اسانس به ترتیب ۸۹/۳٪ و ۶۱/۶٪ بود در حالی که این مقدار در مورد BHT برابر با ۹۶/۶٪ بود. بالا بودن

## Composition and Antioxidant Activity of the Essential Oil and Methanolic Extract of *Ziziphora Clinopodioides* Lam in Preflowering Stage

Amiri H., Ph.D.<sup>1</sup>

1. Assistant Professor, Biology Department, Lorestan University, Khoramabad, Iran

\* Corresponding author, e-mail: amiri\_h\_lu@yahoo.com

(Received 2 July 2008 Accepted 22 Oct. 2008)

### Abstract

**Background & Aims:** *Ziziphora clinopodioides* Lam belongs to the Labiatae family and its dried aerial parts are used as flavors and also in the treatment of cold and cough.

**Methods:** The chemical composition of the essential oil obtained from aerial parts by hydro distillation method was analyzed by GC and GC/MS. The methanolic extract was also obtained from the aerial parts of the plant. Samples were subjected to a screening for their possible antioxidant activities by using 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) and  $\beta$ -carotene-linoleic acid.

**Results:** Twenty three constituents accounting to 96.6% of the total oil were identified. Major components of the oil were pulegon (30.1%), thymol (21.3%), p-mentha-3-en-8-ol (12.9%), piperitenone (9.3%) and 1, 8-cineol (4.1%), respectively. In the DPPH test system, the IC<sub>50</sub> value for antioxidant activity of methanolic extract was determined to be 28.4  $\mu$ g/ml, whereas it was 55.3  $\mu$ g/ml for the oil. In  $\beta$ -carotene-linoleic acid test system, antioxidant activities of the extract and oil were 89.3% and 61.6%, respectively.

**Conclusion:** In general, methanolic extract of *ziziphora clinopodioides* lam showed greater antioxidant activity than its essential oil.

**Keywords:** *Ziziphora clinopodioides*, Essential oil, Antioxidant activity, Methanolic Extract

Journal of Kerman University of Medical Sciences, 2009; 16(1): 79-86

### References

1. Morteza Semnani K, Saeedi M, Mahdavi MR, Rahimi F. Study and comparison of the antimicrobial activity of methanolic extracts of several species of *Stachys* and *Phlomis*. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2007; 57: 57-66 [Persian].
2. Laster P, Midori H, Toshikazu Y. Antioxidant food supplements in human health. Sandiago Adademic Press, 1999; pp371-2.
3. Leake DS, Rankin SM. The oxidative modification of low-density lipoproteins by macrophages. *Biochem J* 1990; 270(3): 471-8.
4. Sajadi SE, Ghasemi dehkordi N, Balochi M. Chemical composition of the essential oil of aerial parts of *Ziziphora clinopodioides* Lam. *Pajouhesh Va Sazandegi J* 2003; 16 (1): 97-100 [Persian].
5. Delattre J, Bonne font-Rousselot D. Oxidative stress, free radical and aging. *Biotech Lab Inter* 1998; 21-3.
6. Cross C, Halliwell B, Brish ET, Pryor WA, Ames BN, Saul RL, *et al*. Oxygen radicals and human disease. *Ann Intern Med* 1987; 107(4): 526-45.
7. Cross AR, Jones OT. Enzymatic mechanisms of superoxide production. *Biochim Biophys Acta* 1991; 1057(3): 281-98.

8. Leung FY. Trace elements that act as antioxidants in parenteral micronutrition. *Biochem* 1998; 9(6): 304-7.
9. Mozaffarian V. A Dictionary of Iranian Plant Names. Tehran, Farhang Moaser Publisher, 1996; p591 [Persian].
10. Salehi P, Sonboli A, Eftekhari F, Nejad-Ebrahimi S, Yousefzadi M. Essential oil composition, antibacterial and antioxidant activity of the oil and various extracts of *Ziziphora clinopodioides* subsp. *rigida* (Boiss.) RECH. F. from Iran. *Biol Pharm Bull* 2005; 28(10): 1892-6.
11. Şahin F, Güllüce M, Daferera D, Sökmen A, Sökmen M, Polissiou M, *et al.* Biological activities of the essential oils and methanol extract of *Origanum vulgare* ssp. *vulgare* in the Eastern Anatolia region of Turkey. *Food Control* 2004; 15(7): 549-57.
12. Adams RP. Identification of essential oil components by Gas chromatography/mass spectroscopy. Illinois, Allured Publishing Corporation, 2001.
13. Chitsaz M, Pergar A, Naseri M, Kamalinajad M, Bazargan M, Mansouri S, Ansari F. Composition of the essential oil and antibacterial activity of alcoholic extract and oil of *Ziziphora clinopodioides*. LAM on selected bacteria. *Daneshvar J* 2007; 14 (68): 15-22 [Persian].
14. Behravan J, Ramezania M, Hassanzadeh MK, Eskandari M, Kasaian J and Sabeti Z. Composition, antimycotic and antibacterial activity of *Ziziphora clinopodioides* Lam. Essential oil from Iran. *J Essent Oil-Bearing plant* 2007; 10(4): 339-45.
15. Baser KHC, Sezik E, Tuemen G. Composition of the essential oil of *Ziziphora clinopodioides* Lam. *J of Essent Oil Res* 1991; 3: 237-9.
16. Goryaev MI, Gratsianskaya LP and Lishtnanova N L. Essential oil components. XVII Investigation of *Ziziphora clinopodioides*. *Serial Khimika Nauk* 1964; 14, 75-9.
17. Ozturk S, Ercisli S. Antibacterial activity and chemical constitutions of *Ziziphora clinopodioides*. *Food Control* 2007; 18(5): 535-40.
18. Sonboli A, Mirjalili MH, Hadian J, Ebrahimi SN, Yousefzadi M. Antibacterial activity and composition of the essential oil of *Ziziphora clinopodioides* subsp. *bungeana* (Juz.) Rech. f. from Iran. *Z. Naturforsch* 2006; 61(9-10): 677-80.
19. Dembitskii AD, Bergaliev ES, Kyazimov IM. Chemical composition of the essential oils of *Ziziphora* growing under various ecological conditions. *Chemistry of Natural Compounds* 1994; 30(6): 673-5.
20. Meral GE, Konyalioglu S, Ozturk B. Essential oil composition and antioxidant activity of endemic *Ziziphora taurica* subsp. *Cleonioides*. *Fitoterapia* 2002; 73(7-8): 716-8.
21. Ozturk S, Ercisli S. The chemical composition of essential oil and *in vitro* antibacterial activities of essential oil and methanol extract of *Ziziphora persica* Bunge. *J Ethnopharmacol* 2006; 106(3): 372-6.
22. Sokmen A, Gulluce M, Akpulat HA, Daferera D, Tepe B, Polissiou M, *et al.* The *in vitro* antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts of endemic *Thymus spathulifolius*. *Food Control* 2004; 15(8): 627-34.