

بررسی ترکیبات شیمیایی اسانس گیاه بهلیمو

فراز مجاب^{۱*}، کتایون جاوید نیا^۲، افشین زرقی^۳، مصطفی یامحمدی^۴

۱- استادیار گروه فارماکوگنوزی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران

۲- دانشیار گروه شیمی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز

۳- دانشیار گروه شیمی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران

۴- داروساز، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران

*آدرس مکاتبه: تهران، صندوق پستی ۱۴۱۵۵-۶۱۵۳ - دانشکده داروسازی شهید بهشتی

تلفن: ۸۷۹۵۰۰۸، نامبر: ۸۷۷۳۵۲۱-۵

پست الکترونیک: sfmojab@yahoo.com

چکیده

اسانس گیاه بهلیمو با نام علمی *Lippia citriodora* H.B.K. (از خانواده وربناسه) کاشته شده در ایران با روش تقطیر با آب استخراج شد. راندمان این عملیات ۰/۶ درصد بود. اسانس حاصل با استفاده از روش‌های کروماتوگرافی کازی تجزیه‌ای و متصل به طیف نکار جرمی و نیز روش co-injection بررسی شد. ضریب بازداری اجزای اسانسی محاسبه و همراه با طیف‌های جرمی‌شان با استاندارد مقایسه گردید. بیست و پنج ترکیب مشتمل بر ۹۴/۶ درصد کل اسانس شناسایی شد. مواد عمدۀ این اسانس عبارتند از: ژرانيول، لیمون، سینثول، نرال، ۱-اکتن-۳-ال و نرول.

گل واژگان: بهلیمو، *Lippia citriodora*، وربناسه، اسانس، GC/MS، co-injection، ژرانيول، نرال، نرول، سینثول، لیمون

مقدمه

اجزای زیر در اسانس گیاه بهلیمو کاشته شده در فرانسه مشخص شده است: نرال، ژرانیال، ژرانیول، لیمونن، سیترونول، نرول و ۱،۸-سینثول [۷]. محققین در سال ۱۹۷۶ توانستند اثبات کنند که گیاه بهلیمو حاوی موسیلاژ، اسانس، تانن هیدرولیز شونده، فنلهای اسیدی، فلاونویید و آکالالویید می‌باشد [۸]. از برگ گیاه بهلیمو ۱۳ فلاونویید جداسازی، تعیین ساختمان و نامگذاری شده است [۹]. طی یک مطالعه دیگر از ساقه‌های این گیاه استیگماسترول و مونواستات آن، بتا-آمیرین، بتا-سیتوسترونول و مونواستات و بنزووات آن جدا شده‌اند [۱۰]. معلوم نیست که در گیاه کاشته شده در ایران نیز آیا این مواد وجود دارند یا خیر. شرایط جغرافیایی، نوع اقلیم و شرایط مختلف کشت روی خصوصیات مورفولوژیکی و مواد مؤثره گیاه تأثیر می‌گذارد [۱۱] و از آنجایی که شرایط جغرافیایی و آب و هوای کشور ما با کشورهای اروپایی و آمریکای جنوبی تفاوت دارد، احتمال می‌رود که اجزای مؤثر و عمدۀ گیاه بهلیموی کاشته شده در ایران با نوع خارج تفاوت کنند. در منابع به اثر مدری [۱۲]، اثر ضد میکروبی اسانس علیه میکروفلور دندان (عمدتاً گرم مثبت‌ها) [۱۳]، مهار اثر تحریک کنندگی هیستامین [۸]، اثر اسپاسمولتیک اسانس در ایلئوم جدا شده خوکچه هندی [۸] و اثر ضد اسهالی اسانس [۱۴] گیاه بهلیمو اشاره شده است. طی بررسی دیگری، از گیاه فوق ترکیبی بنام «آکتنوزید» جدا کرده‌اند که اثر آرامبخشی ضعیف و ضدت ب از خود نشان داده است [۱۵]. تا آنجا که ما بررسی کرده‌ایم، تاکنون اسانس گیاه بهلیموی کاشته شده در ایران مورد مطالعه قرار نگرفته است.

مواد و روش کار

گیاه بهلیمو به صورت خشک و بسته‌بندی شده در سال ۱۳۷۷ از بازار گیاهان دارویی (عطاری) در

گیاه بهلیمو با نام علمی *Lippia citriodora* H.B.K. (*Verbena citriodora* Cav.) (سینونیمهای *Verbena* و *Aloysia citriodora* Ort. Et Palav. ، *Verbena triphylla* L'Herit (Verbenaceae) [۲و۱]) درختچه‌ای است به ارتفاع ۱/۵ تا ۲ متر، دارای ساقه دراز، زاویه‌دار و منشعب، با برگ‌های ساده، خشن، کامل، فراهم و مجتمع به تعداد ۴-۳ عددی به رنگ سبزروشن. گلهای کوچک و دارای جامی است که از خارج سفید و از داخل آبی مایل به بنفش است. مجموعه گلهای آن ظاهر هرمی شکل در حول یک محور دراز به وجود می‌آورد. کاسه گل آن لوله‌ای شکل، منتهی به ۴ دندانه باریک و جام گل آن مرکب از ۴ لوب پهن می‌باشد. ۴ پرچم دارد که دو به دو مساوی هستند. میوه‌اش شفت‌مانند و محتوی دو دانه است [۳]. این گیاه در اصل بومی آمریکای جنوبی است و در کشورهایی مثل پرو، آرژانتین و شیلی گزارش شده است [۲]. سایر کشورها از جمله کشورهای اروپایی و ایران نیز گیاه را وارد کرده و کشت می‌نمایند و به خاطر خواص مفیدش مصرف می‌کنند. در فرهنگ گیاه‌درمانی و طب عام ایران، برگ‌های این گیاه به صورت یک دم کردنی آرامبخش، ضدتشنج، مدر و برطرف کننده تپش قلب و سرگیجه مصرف دارد [۴]. در کشور ما فرآورده‌های گیاه فوق به صورت خام (گیاه خشک)، تی‌بگ و مقطره (عرقیات، هیدرولا) در بازار موجود است و مصرف می‌شود.

چند مقاله در مورد بررسی اسانس این گیاه در کشورهای دیگر وجود دارد. مواد عمدۀ موجود در اسانس گیاه بهلیموی کاشته شده در مراکش ۱و-۸-سینثول، ژرانیال، نرال و ۶-متیل-۵-هپتن-۲-ون گزارش شده‌اند [۵]. در اسانس گیاه به عمل آمده در کشور آرژانتین، میرسنون، آلفا-توجون، لیمونن و لیپوفولون به عنوان مواد عمدۀ شناسایی شدند [۶].

GC for Co-injection:

Perkin Elmer 8700 with a OV-17 packed column 2m x 1.8 mm i.d. temperature programme 60°C, 4°C/min to 220°C

Carrier gas N₂, Flow 5 ml/min

Injector temperature 250°C

FID temperature 250°C

یافته‌ها

اسانس حاصل از برگ‌های گیاه به‌لیمو، به رنگ زرد پررنگ (مایل به نارنجی - قرمز) و با بوی مشخص و تند، به میزان ۰/۶ درصد بود. در اسانس گیاه به‌لیموی کاشته شده در ایران، مواد عمدۀ زیرشناسایی شدند (جدول شماره ۱):

از مونوتربنولیدها: ژرانیول (۲۱ درصد)، نرول (۱۲/۸ درصد)، نرال (۱۲/۷ درصد)، ژرانیال (۱۲/۱ درصد)، لیمونن و ۹/۳-سینئول (۹/۳ درصد به صورت مخلوط). سایر مونوتربنولیدهای شناسایی شده در این اسانس عبارتند از: سابی‌نن، لینالول، نرول اکساید، آلفا-ترپنئول، ۴-ترپنئول و تریل استات (مونوتربنولید استاته). از سزکویی‌ترپنولیدها، اسپانولول (۴/۴ درصد) و آلفا - کورکومن (۲/۲ درصد) ترکیبات عمدۀ بودند. ۹ سزکویی‌ترپنولید دیگر نیز شناسایی شدند. از فنیل پروپن‌ها، تنها اوژنول (به میزان ۱/۲ درصد) شناسایی گردید. از سایر مواد غیرترپنی، دو هیدروکربور الکلی هشت کربنی (یعنی ۱-اکتن-۳-اول به میزان ۶/۳ درصد و ۳-اکتانال به میزان ۴/۰ درصد) شناسایی شدند.

بمث

پس از بررسی اسانس گیاه به‌لیمو، ۲۶ ماده از ترکیبات موجود در اسانس آن شامل ۹۴/۶ درصد از کل مقدار اسانس شناسایی شدند.
بیشترین مقدار اجزای این اسانس را ترکیبات تربنولیدی (شامل مونو و سزکویی تربنولیدها)

شهر تهران خریداری شد و در آزمایشگاه مورد شناسایی قرار گرفت (این گیاه در مناطق شمالی ایران کشت می‌شود). پس از اطمینان از ماهیت آن، نمونه‌ای از آن با آسیاب برقی، به صورت پودر درآمد و با استفاده از دستگاه تقطیر با آب مورد عملیات اسانس‌گیری قرار گرفت (لازم به ذکر است که نمونه‌ای از گیاه خریداری شده در هرباریوم گروه فارماکوگنوژی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی نگهداری می‌شود). اسانس پس از تهیه، مورد عمل آبگیری- توسط سولفات سدیم آنیدر- قرار گرفت و در یک ظرف فلزی کوچک در یخچال نگهداری شد. اسانس حاصل با روش‌های کروماتوگرافی گازی تجزیه‌ای (Analytical Gas Chromatography) گازی متصل به [Gas Chromatography / Mass Spectroscopy (GC/MS)] طیف نگار جرمی (Co-injection) مورد بررسی قرار گرفت و اجزای مختلف موجود در آن به روش مقایسه طیف‌های جرمی تک تک اجرا با طیف‌های شاهد و نیز محاسبه ضریب بازداری مواد متشکله و استفاده از مواد استاندارد شناسایی و تعیین مقدار شدند [۱۶].

مشخصات دستگاه‌های مورد استفاده:**Analytical GC:**

Varian 3600 with a DB-1 column 30m x 0.25mm i.d., temperature programme 50°C

3°C/min to 230°C

Carrier gas N₂, Flow 14 ml/min, Injector temperature 220°C

FID temperature 250°C

GC/MS:

Finnigan TSQ 70 combined with Varian 3600, 60m DB-1 column

Carrier gas He, flow 8 ml / min

درصد از نوع الكلی، ۲۴/۸ درصد از نوع آلبیدی، ۵/۴

مجموعاً ۸۶ درصد تشکیل می‌دادند که سرکوئیتربنوتییدها و مونوتربنوتییدها به ترتیب ۱۲/۷ و ۴۲/۳ درصد می‌باشند. در میان مونوتربنوتییدها،

جدول شماره ۱- ترکیبات شیمیایی اسانس گیاه بهلیمو

روش تشخیص	درصد	ضریب بازداری (RI)	ترکیبات
GC,MS	۶/۳	۶۹۲	۱-اکتن-۳-اول (1-Octen-3-ol)
GC,MS	۰/۸	۹۶۷	سابین (Sabinene)
GC,MS	۰/۴	۹۷۸	۳-اکتانال (3-Octanal)
GC,MS,Co	۹/۳	۱۰۲۲	لیمونن و ۱-او-۸-سینئول (Limonene + 1,8-cineol)
GC,MS	۰/۹	۱۰۷۸	لینالول (Linalool)
MS	۰/۷	-	نروال اکساید (Nerol oxide)
GC,MS	۰/۸	۱۱۶۴	۴-تریپنول (4-Terpineol)
GC,MS	۱/۴	۱۱۷۶	۴-تریپنول (α-Terpineol)
GC,MS,Co	۱۲/۸	۱۲۱۷	نروال (Nerol)
GC,MS	۱۲/۷	۱۲۲۲	نرا (Neral)
GC,MS,Co	۲۰/۹	۱۲۲۳	ژرانیول (Geraniol)
GC,MS	۱۲/۱	۱۲۴۵	ژرانیال (Geranial)
GC,MS	۱/۲	۱۲۳۲	اوژنول (Eugenol)
GC,MS	۰/۶	۱۲۵۱	نریل استات (Neryl acetate)
MS	۰/۵	-	بتا-پاتچولن (β-Patchoulene)
MS	t	-	بتا-بوربون (β-Bourbonene)
GC,MS	۰/۹	۱۴۳۱	بتا-کاریوفیلن (β-Caryophyllene)
GC,MS	۰/۷	۱۴۳۷	بتا-گورجون (β-Gurjunene)
GC,MS	۰/۶	۱۴۶۵	آلو-آرومادندرن (Allo-Aromadendrene)
GC,MS	۲/۲	۱۴۶۸	آلفا-کورکومن (α-Curcumene)
GC,MS	۱/۱	۱۴۷۸	گاما-مورولن (γ-Murolene)
GC,MS	t	۱۴۹۹	بتا-هیماچالن (β-Himachalene)
GC,MS	۰/۹	۱۵۱۹	آلفا-کوپائن (α-Copaene)
GC,MS	۰/۴	۱۵۴۸	ترانس-نرولیدول (Trans Nerolidol)
MS	۴/۴	-	اسپاتولنول ((-)Spathulenol)

که مجموعاً ۶/۷ درصد کل اسانس را تشکیل می‌دادند. در اسانس فوق یک مونوتربنوتیید استری (نریل استات به مقدار ۰/۶ درصد) و یک ترکیب فنیل پروپنی بنام اوژنول (۱/۲ درصد) گزارش می‌شود. بیشترین مقدار این اسانس را ترکیبات الكلدار تشکیل می‌دهند.

درصد از نوع هیدروکربوری و ۰/۷ درصد از نوع اکسیدی بودند. سرکوئیتربنوتییدها تنها از ۲ نوع الكلی (۴/۸ درصد) و هیدروکربوری (۷/۹ درصد) شناسایی شدند.

در اسانس گیاه بهلیمو ۲ الكل خطی ۸ کربنی به نام‌های ۱-اکتن-۳-ال و ۳-اکتانول شناسایی شدند

این تحقیق به هزینه معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهیدبهشتی در دانشکده داروسازی این دانشگاه انجام گرفته است. نویسندهان مراتب قدردانی و سپاسگزاری خود را از مقام محترم معاونت پژوهشی، همچنین اعضای محترم شورای پژوهشی و نیز دفتر خدمات پژوهشی دانشگاه اعلام می‌دارند.

از نظر مقایسه مواد عمدۀ اسانس گیاه بهلیموی بررسی شده در ایران با نمونه‌های کشورهای دیگر، بیشترین شباهت ابتدا با نمونه فرانسوی [۷] و بعد نمونه مراکشی [۵] و بیشترین اختلاف با نمونه آرژانتینی [۶] می‌باشد.

تقدیر و تشکر

منابع

citriodora. Rev. R. Acad. Farm. Barcelona 1976; 14: 39-55.

9. Skaltsa H, and Shammas G. Flavonoids from *Lippia citriodora*. *Planta Med.* 1988; 54: 465.

10. Rao ChB, Vijayakumar EKS and Rama Krishna R. Chemical examination of the stems of *Lippia citriodora*. *Curr. Sci.* 1979; 48: 534-535.

11. Evans WC. Trease and Evans' Pharmacognosy, Bailliere Tindall. 13th ed. London. 1989, pp: 79-81.

12. Abed L and Benmerabet K. Interet de l'apport en potassium et sodium des infusions de plantes medicinales. *Plant Med. Phtother.* 1981; 15: 92-8.

13. Torrent Marti MT. Pharmacological effects of essential oils of biological origin. *Rev. R. Acad. Farm. Barcelona* 1985; 1: 43-46.

14. Salud Perez G, Zavala MA, Vargas SR, Perez GC and Perez GRM. Antidiarrhoeal activity of C-9 aldehyde isolated from *Aloysia triphylla*. *Phytother. Res.* 1998; 12: S45-S46.

15. Nakamura T, Okuyama E, Tsukada A, Yamazaki M, Satake M, Nishibe S, Deyama T, Moriya A, Maruno M and Nishimura H. Acteoside as the analgesic principle of cedron (*Lippia triphylla*), a peruvian medicinal plant. *Chem. Pharm. Bull.* 1997; 45: 499-504.

16. Davies NW. Gas chromatographic retention indices of monoterpenes and sesquiterpenes on

1. مظفریان ولی ا...، فرهنگ اسامی گیاهان ایران.

فرهنگ معاصر، ۱۳۷۵، صفحه ۲۲۵

2. زرگری علی. گیاهان دارویی. چاپ پنجم. مؤسسه چاپ و انتشارات دانشگاه تهران. ۱۳۷۱، جلد سوم، صفحات ۷۱۱-۱۲

3. Tutin TG. *Lippia* In: Tutin TG. *Flora Europea*. Cambridge University Press, Cambridge, 1981, Vol. 13, p. 123.

4. امین غلامرضا، گیاهان دارویی سنتی ایران. انتشارات معاونت پژوهشی وزارت بهداشت و درمان، تهران، ۱۳۷۰، جلد اول، صفحات ۶۴-۶۵..

5. Bellakhdar A, Il Idrissi, Canigueral S, Iglesias J and Vila R. Analysis of the essential oil of the odorant vervein (*Lippia citriodora* H.B.and K.). *Plant Med. Phytother.* 1993; 26: 269-273.

6. Zygaldo JA. Lamarque AL, Maserti DM. Guzman CA. Lucini EI. Grossi NR and Ariza-Espinar L. Volatile constituents of *Aloysia triphylla* (L'Herit) Britton. *J. Essent.Oil Res.* 1994; 6: 407-410.

7. Montes M, Valenzuela L, Wilkomirsky T and Arrive M. Composition of the essential oil from *Aloysia triphylla* (Cedron). *Planta Med.* 1973; 23: 119-124.

8. Torrent Marti MT. Some pharmacognostic and pharmacodynamic aspects of *Lippia*

components by gas chromatography / mass spectroscopy. Allured Publishing Corporation, Illinoise. 1994.

methyl silicon and carbowax 20M phases. *J. Chromatog.* 1990; 503: 1-24.

17. Adams RP. Identification of essential oil