بررسی اجزا و اثرات ضدباکتریایی اسانس گیاه *Stachys acerosa* Boiss.

محمدحسن مصحفی[۱]، امیر مفیدی[۲]، مهرناز مهربانی[۳]، میترا مهربانی[٤]*

۱- دانشیار، گروه کنترل میکروبی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان
۲- دکتر داروساز، گروه فارماکوگنوزی ، دانشکده داروسازی ، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان
۳- دستیار فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران
٤- دانشیار، گروه فارماکوگنوزی، مرکز تحقیقات فارماسوتیکس، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان
* آدرس مکاتبه: کرمان، ابتدای بلوار هفت باغ، دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی کرمان، صندوق‌پستی: ٤٩٣ - ٧٦١٧٥، تلفن: ٣٢٠٥٠١٩ (٠٣٤١)، نمابر: ٣٢٠٥٠٠٣ (٠٣٤١)
پست الکترونیک: mmehrabani@hotmail.com

تاریخ دریافت: ۸۷/۳/۲۲ **تاریخ تصویب:** ۸۸/۸/۲٤

چکیده

مقدمه: گیاه *Stachys acerosa* Boiss. از خانواده نعنائیان[1] یکی از گیاهان بومی ایران می‌باشد.

هدف: با توجه به عدم وجود گزارش مدون در مورد این گیاه و در عین حال استفاده‌های درمانی سایر گونه‌های آن در تحقیق حاضر به بررسی اجزا و اثرات ضدباکتریایی اسانس سرشاخه گل‌دار و بدون گل این گیاه و ساختمان ماده موثره با اثر ضدباکتریایی آن پرداخته شده است.

روش بررسی: سرشاخه‌های گل‌دار و بدون گل گیاه از منطقه لاله‌زار کرمان جمع‌آوری شد و پس از خشک کردن اسانس آنها توسط دستگاه کلونجر به دست آمد. اسانس‌ها با استفاده از دستگاه GC-MS و اندیس بازداری آنالیز شد. اثرات ضدمیکروبی اسانس‌ها علیه باکتری‌های: *Staphylococcus aureus*، *Staphylococcus epidermidis*، *Bacillus subtilis*، *Escherichia coli*، *Klebsiella pneumoniae* و *Pseudomonas aerogenosa* با استفاده از روش بیواتوگرافی روی پلیت سیلیکاژل GF_{254} در سیستم حلال تولوئن- اتیل استات (۷ : ۹۳) بررسی شد.

نتایج: سرشاخه گل‌دار و بدون گل به ترتیب دارای ۰/۰۹ و ۰/۱۱ درصد اسانس شفاف زرد رنگ و جزء عمده کریزانتنیل استات و لینالول بودند. بیشترین اثرات ضدباکتریایی با استفاده از روش TLC در ۰/٦ - ۰/۵ = R_f در مورد اسانس سرشاخه بدون گل دیده شد و پس از جداسازی این فراکسیون و شناسایی آن با GC-MS، کارواکرول به عنوان جزء اصلی آن شناسایی شد.

نتیجه‌گیری: در مورد اثرات ضدباکتریایی سایر گونه‌های *Stachys* گزارش‌های متعددی وجود دارد که کریزانتنیل استات و لینالول به عنوان اجزای اصلی اسانس آنها گزارش شده است.

گل‌واژگان: *Stachys acerosa*، اسانس، اثرات ضدمیکروبی

[1] Lamiaceae

www.SID.ir

مقدمه

از بین گیاهان دارویی، تیره نعناع[1] اهمیت زیادی دارد و گونه‌های مفید این تیره در پاره‌ای از درمان‌ها استفاده می‌شوند. بعضی به مصرف اسانس‌گیری می‌رسند. تعداد زیادی از آنها برای تغذیه استفاده می‌شوند، یا به علت دارا بودن گل‌های زیبا و معطر پرورش می‌یابند و یا به دلیل داشتن اثرات ضدمیکروبی در طب سنتی کاربرد دارند.

گیاه .*Stachys acerosa* Boiss از تیره نعناع می‌باشد که تاکنون هیچ نتایج مدونی در مورد مواد موثره یا اثرات فارماکولوژیک آن گزارش نشده است و با توجه به خصوصیات فارماکولوژیکی سایر گونه‌های *Stachys* این گیاه انتخاب و اثرات ضدمیکروبی اسانس و جداسازی فراکسیون‌های اسانس و آن جزئی که دارای اثر ضدمیکروبی است، بررسی شده است.

بیش از ۲۷۰ گونه از جنس *Stachys* در جهان گزارش شده است. این گیاهان بیشتر در منطقه مدیترانه و جنوب شرقی آسیا دیده می‌شوند [۱]. این جنس در ایران ۳٤ گونه گیاه علفی چند ساله دارد که ۱۳ گونه‌های انحصاری بوده، *Stachys acerosa* Boiss. با نام فارسی سنبله کوهسری و سنبله خارآلود از آن جمله می‌باشد [۲].

Stachys acerosa مواد شیمیایی گیاهان این جنس بیشتر شامل ترکیبات عمده اسانس‌ها هستند. از جمله منوترپن‌ها و دی‌ترپن‌ها و سزکویی‌ترپن‌ها که در گونه‌های مختلف آنها متفاوت‌اند. به عنوان مثال گیاه *Stachys officinalis* شامل تانن، استاکیدرین، تبائین و کولین می‌باشد [۳] و در گیاه *S. tuberifera* آلکالوئید *Stachydrine* وجود دارد [۳]. ترکیبات اصلی اسانس گیاه *S. racta* شامل لینالول، oct-1-en-3-ol و بتاپینن و در گیاه *S. balansae* بتاکاریوفیلن، بتاپینن، آلفاپینن می‌باشد [٤].

گونه‌های مختلف این گیاه در طب سنتی ایران حائز اهمیت است. گونه *S. lavandulifolia* (چای کوهی) به عنوان مسکن ناراحتی‌های گوارشی و معدی استفاده می‌شود [۵]. همچنین گونه *S. officinalis* به عنوان مقوی همراه با سایر گیاهان و به عنوان یک سیگار گیاهی کاربرد دارد [٦]. سرشاخه‌های هوایی آن در درمان سردرد، اختلالات عصبی و سوءهاضمه و ایجاد دیورز متوسط به کار می‌رود. علاوه‌بر این دم کرده آن دارای اثرات آرام‌بخشی و ضدمیگرنی است. اثرات دیگر آن عبارتند از ضدعفونی‌کننده و ضدافسردگی، ضداسهال، ضدالتهاب، ضداسپاسم، ضدنفخ، صفراآور، خلط‌آور، پایین‌آورنده فشارخون، ضداضطراب [۷،۸،۹]. اثر ضدهلیکوباکتر هم از گونه‌های مختلف این گیاهان ذکر شده است [۱۰].

با توجه به مطالعات انجام شده قبلی تاکنون اجزای اسانس و اثرات ضدباکتریایی آن گزارش نشده است.

در این تحقیق اجزای اسانس و اثرات ضدباکتریایی گیاه *Stachys acerasa* با استفاده از دو روش سیلندر- پلیت و بیواتوگرافی تعلیقی جهت شناسایی ساختمان ترکیبات موثر بررسی شده است.

مواد و روش‌ها

گیاه مورد مطالعه

گیاه *Stachys acerosa* از منطقه لاله‌زار بردسیر استان کرمان جمع‌آوری شد. جمع‌آوری در ۲ نوبت صورت گرفت:

۱. زمان گل‌دهی در اواخر اردیبهشت

۲. در اواسط تیرماه بعد از گل‌دهی

نمونه هرباریومی در هرباریوم دانشکده بعد از تایید توسط گیاه‌شناس با شماره ۱۱۷۰ ثبت شد. گیاه جمع‌آوری شده در حرارت معمولی و در سایه خشک شد و سپس مورد استفاده قرار گرفتند. برای این منظور قطعات خشک شده گیاه به وسیله آسیاب برقی خرد شد. قسمت‌های هوایی گیاهان شامل: برگ‌ها و سرشاخه‌های گل‌دار، مورد استفاده قرار گرفت.

استخراج اسانس

اسانس‌گیری به روش تقطیر با آب با استفاده از دستگاه کلونجر به مدت ٤ ساعت انجام شد. هر نمونه دو بار تکرار شد.

[1] Lamiaceae

Archive of SID
www.SID.ir

بررسی اثرات ضدباکتریی

میکروارگانیسم‌های موردنیاز به صورت آمپول لیوفیلیزه از موسسه پژوهش‌های علمی صنعتی ایران پژوهشکده بیوتکنولوژی مرکز کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های ایران تهیه شدند که شامل سه سوش گرم مثبت و سه سوش گرم منفی بودند، اسامی و مشخصات آن‌ها در جدول شماره ۱ آمده است.

تهیه تلقیح باکتری

پس از ۲٤ ساعت انکوباسیون باکتری‌ها در محیط نوترینت آگار سوسپانسیونی در محیط نوترینت براث با غلظتی که کدورت حاصله معادل ۰/۵ مک فارلند باشد تهیه نمودیم. این سوسپانسیون دارای $۱/۵ \times ۱۰^{۸}$ باکتری در هر سی‌سی است. تمامی محیط‌های کشت مورد استفاده ساخت کارخانه مرک آلمان بودند [۱۱].

روش بیواتوگرافی تعلیقی

به منظور جداسازی عوامل ضدباکتری موجود در اسانس *Stachys acerosa* از روش بیواتوگرافی تعلیقی استفاده شد. مراحل مختلف و متوالی آن عبارتند از:

۱. اسانس با ۹ برابر حجم خودش با حلال دی کلرومتان مخلوط شد.

۲. جداسازی ترکیبات موجود در اسانس گل و سرشاخه‌های گیاه با سیستم حلال تولوئن – اتیل استات (۷ :۹۳) و با استفاده از کروماتوگرافی لایه نازک TLC به کمک صفحات کروماتوگرافی Silicagel GF_{254} پشت آلومینیومی ساخت شرکت Merck (۷/۵ cm × ۲) انجام شد [۱۲].

۳. خارج کردن کروماتوگرام از تانک کروماتوگرافی و اجازه دادن برای تبخیر حلال از سطح TLC و همزمان تابانیدن پرتو فرابنفش جهت از بین رفتن آلودگی سطحی احتمالی.

٤. انتقال صفحات کروماتوگرافی به درون پتری دیش‌هایی که از قبل اندکی محیط کشت مولر هینتون آگار (حدود ۵ میلی‌لیتر) کف آنها ریخته شده بود، که صفحات کروماتوگرافی به کف پتری دیش‌ها بچسبند. باید توجه داشت که هیچ‌گونه حبابی از هوا در زیر TLC قرار نگیرد.

۵. افزودن حدود ۷ میلی‌لیتر از محیط کشت مولر هینتون آگار مذاب در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد روی سطح صفحات کروماتوگرافی درون پتری دیش‌ها به صورتی که لایه‌ای نازک و یکنواخت روی آن‌ها را بپوشاند و منعقدگردد برای این منظور بعد از ریختن محیط کشت پتری دیش‌ها را تکان می‌دهیم تا سطح کاغذ کروماتوگرافی کاملاً در معرض محیط کشت قرار گیرد. محیط کشت مزبور قبل از آن با سوسپانسیون باکتری‌ها تلقیح شده بود. برای این منظور حدود ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی (با کدورت مطابق با استاندارد نیم مک فارلند یا $۱۰^{۸}$ CFU/ml) را به ۲۰ ml از محیط کشت (۵۰ درجه سانتی‌گراد) افزوده و سپس به آرامی تکان داده شد.

جدول شماره ۱- مشخصات سوش‌های باکتریایی مورد استفاده

شماره	نام میکـــروب	PTCC	ATCC	طبقه‌بندی
۱	استافیلوکوکوس آرئوس	۱۱۱۲	۲۹۷۳۷	کوکسی گرم مثبت
۲	استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس	۱۱۱٤	۲۸۵۷۳	کوکسی گرم مثبت
۳	اشرشیاکولی	۱۳۳۰	۱۰۵۳٦	باسیل گرم منفی
٤	کلبسیلا پنومونیه	۱۰۵۳	۱۰۰۳۱	باسیل گرم منفی
۵	باسیلوس سابتیلیس	۱۰۲۳	٦٦۲۳	باسیل گرم مثبت
٦	سودوموناس آئروژینوزا	۱۰۷٤	٦۰۲۷	باسیل گرم منفی

PTCC= Persian Type culture collection
ATCC= American Type Culture collection

Archive of SID
www.SID.ir

٦. انکوباسیون پتری‌دیش‌های حاوی کروماتوگرام محیط کشت تلقیح شده در شرایط مناسب که برای باکتری‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ٢٤ ساعت است.

۷. پس از طی زمان انکوباسیون معرف دهیدروژناز [محلول آبکی ۲ درصد ماده ۳- (٤- ید و فنیل) -۲- (٤- نیتروفنیل) -٥- فنیل - ۲H - تترازولیوم کلراید از شرکت Merck] به سطح داخل پتری دیش‌ها اسپری شده و آنگاه پتری دیش‌ها به مدت ٤ ساعت داخل انکوباتور گذارده شدند. در خاتمه حضور ترکیب ضدباکتریایی به صورت لکه‌های بی‌رنگ در زمینه قرمز ارغوانی مشخص شد.

۸. پس از مقایسه کروماتوگرام‌های تلقیح شده که با معرف دهیدروژناز اسپری شده‌اند با کروماتوگرام شاهد که معرف وانیلین اسید سولفوریک (وانیلین ۱ درصد الکلی - اسید سولفوریک ٥ درصد الکلی) به سطح آنها پاشیده شده بود و تطابق با R_F لکه مربوط به ترکیب ضدمیکروب با R_F ترکیب مشابه در کروماتوگرام‌های شاهد انجام شد [۱۱].

جداسازی اجزای دارای اثرات ضدباکتریایی

برای تهیه پلیت به قطر ۱ میلی‌متر، ۱۸ گرم سیلیکاژل را در بالن با ٤۰ سی‌سی آب حل کرده و سوسپانسیون یکنواخت روی پلیت شیشه‌ای با اپلیکاتور پلیت کشی کشیده شد، پلیت بعد از دو روز ماندن در محیط آزمایشگاه و خشک شدن به مدت یک ساعت در آون ۱۱۰ سانتی‌گراد فعال شد و پس از سرد شدن دوبار در حلال دی‌کلرومتان گسترش یافت تا سیلیکاژل از آلودگی‌های محلول در دی کلرومتان عاری شود.

پس از خشک شدن پلیت نمونه رقیق شده اسانس به نسبت ۱ به ۹ در حلال هگزان روی پلیت به صورت خطی کاشته شد و سپس در سیستم حلال اتیل استات: تولوئن (۹۳:۷) گسترش یافت بعد از خشک شدن پلیت زیر UV254 در R_f = ۰/٥ که اثرات ضدمیکروبی دیده شده بود لکه دارای خاموشی تراشیده و در حلال دی‌کلرومتان پراکنده شد. پس از صاف کردن زیر گاز ازت تغلیظ شد [۱۲]. نمونه تغلیظ شده برای شناسایی به دستگاه GC-MS با شرایط کاملاً مشابه تزریق اسانس‌ها تزریق شد. تنها جهت جداسازی بهتر لکه‌ها برنامه‌ریزی دمایی به ٥ دقیقه در دمای ٦۰ درجه و سپس ۲۷٥ - ٦۰ درجهٔ سانتی‌گراد با سرعت ٥ °C/ min تغییر یافت.

روش جداسازی و شناسایی اسانس‌ها

برای جداسازی و شناسایی اجزای روغن فرار از دستگاه GC-MS با مشخصات ذیل استفاده شد: مدل Shimadzu QP 5050 با ستون (ضخامت لایه ۰/۱۸ µm و ۰/۱۸ mm × ٤۰ m) DB5-MS و برنامه دمایی ۲۷٥ - ٦۰ درجهٔ سانتی‌گراد با سرعت ٥ °C/min، حجم تزریق ۰/۱ µm اسپلیت ۱:٤۰، دمای محل تزریق: ۲۸۰ درجهٔسانتی‌گراد، گاز حامل هلیم با جریان ۰/۹ ml/min، انرژی یونیزاسیون: ۷۰ eV، دمای منبع یونیزاسیون: ۲۳۰ درجهٔ سانتی‌گراد، محدوده اسکن: ۳۰۰-٤۰، جریان یونیزاسیون ۱۰۰۰ µA، قدرت تفکیک MS: ۱۰۰۰.

شناسایی اجزای اسانس

در تجزیه GC-MS ترکیبات موجود در یک اسانس، به دلیل شباهت طیف جرمی به خصوص ترکیبات ترپنی در اثر مشابهت بسیار ساختمانی و شکست‌های متنوع و بازآیی بعد از یونیزاسیون، استفاده تنها از طیف جرمی برای شناسایی هر یک از اجزا اسانس دقت کافی را نخواهد داشت. به همین دلیل برای افزایش دقت شناسایی هر جزء جدا شده، همراه با طیف جرمی از ارزش بازداری نسبی (اندیس کواتس) جهت صحه گذاردن بر شناسایی توسط طیف جرمی استفاده شد. در نهایت اجزای اسانس با استفاده از مقایسه طیف‌های جرمی به دست آمده با طیف‌های جرمی استاندارد موجود در کتابخانه الکترونیک Wiley 2000 موجود در نرم‌افزار Lab solution دستگاه GC-MS و محاسبه اندیس بازداری استاندارد بر اساس سری آلکان‌ها C_9 - C_{20} تزریق شده با شرایط یکسان و مقایسه آنها با اعداد استاندارد موجود در مرجع [۱۳] شناسایی شدند.

نتایج

نتایج حاصل از اسانس‌گیری *S. acerosa*

از برگ و سرشاخه‌های هوایی گیاه بدون گل (v/w) ۰/۱۱ درصد و از گیاه با گل (v/w) ۰/۰۹ درصد اسانس شفاف، سبک‌تر از آب و کمی متمایل به زرد به دست آمد.

Archive of SID
www.SID.ir

نتایج اثرات ضدباکتریایی اسانس به روش بیواتوگرافی تعلیقی

با انجام این روش برای اسانس بدون گل گیاه دیده شد که بر روی هر ٦ سوش میکروبی اثر ضدباکتریایی از خود نشان می‌دهد که R_Fهای هر ترکیب در جدول شماره ۲ ارایه شده است. با توجه به اینکه در اکثر باکتری‌های مورد آزمایش فراکسیون‌های با R_f = ۰/۵ اثرات ضدباکتریایی از خود نشان داده‌اند، بنابراین با کاشتن اسانس بر روی Plate و جداسازی این R_F و عملیات جداسازی ترکیبات حاصله به کمک دستگاه GC-MS شناسایی شدند. نمونه‌ای از هاله‌های عدم رشد در شکل شماره ۱ آورده شده است. شکل شماره ۲، TLC اسانس بعد از پاشیدن معرف وانیلین اسید سولفوریک را نشان می‌دهد.

نتایج حاصل از تزریق اسانس به دستگاه GC-MS و شناسایی اجزا

اجزای هر کدام از اسانس‌های گیاه *S. acerosa* در جدول شماره ۲ آورده شده است.

نتایج حاصل از جزء جداشده اسانس بدون گل گیاه در R_f = ۰/۵ به دستگاه GC-MS

با توجه به اینکه در R_f = ۰/۵ از اسانس بدون گل گیاه اثرات ضدمیکروبی دیده شد. بعد از مراحل جداسازی به دستگاه GC-MS تزریق شد و نتایج به دست آمده در جدول شماره ۳ آورده شده است.

جدول شماره ۲- نتایج حاصل از شناسایی اجزای اسانس گیاه گل‌دار و بدون گل *Stachys acerosa*

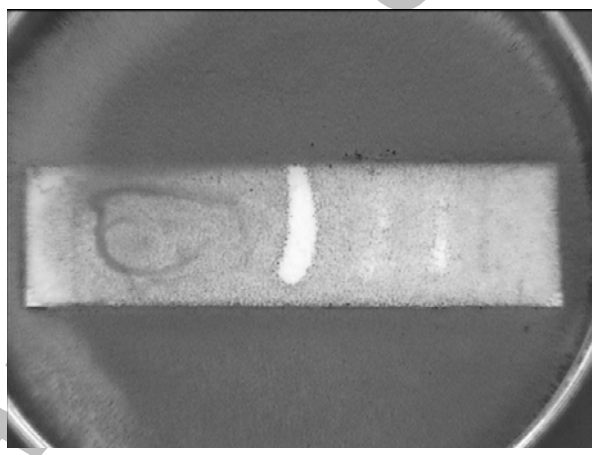
نام مـاده	درصد ماده در اسانس گیاه گل‌دار	درصد ماده در اسانس گیاه بدون گل	اندیس بازداری استاندارد
beta-myrcene	–	۰/۲۳	۹۹۱
para-cymene	–	۰/٤۷	۱۰۲۵
l-limonene	–	۰/٦۵	۱۰۲۹
1,8-cineol	–	۰/۷۱	۱۰۳۱
l-linalool	۷/۹۵	۲۱/٦۰	۱۰۹۷
para-menth-3-en-8-ol	–	۱/۱۱	۱۱۵۰
cis-chrysanthenol	۱/۷۰	۰/۸	۱۱٦٤
neo-menthol	–	۰/۵٤	۱۱٦٦
borneol	–	۰/۷۰	۱۱٦۹
4-terpineol	۰/٤۵	۰/۹٦	۱۱۷۷
cis-pinocarveol	۱/٦٤	۰/٦۳	۱۱۸٤
alpha-terpineol	۲/۲۲	۵/۷۹	۱۱۸۹
n-decanal		۰/۵۱	۱۲۰۲
nerol	۰/٤۱	۰/۹۸	۱۲۳۰
(+)-pulegone	–	۵/۲۹	۱۲۳۷
geraniol	۱/۲۱	–	۱۲۵۳
Linalyl acetate	–	۱۳/٤۸	۱۲۵۷
cis-chrysanthenyl acetate	۳٦/۰٦	۱۲/٤۳	۱۲٦۵
thymol	۰/۳۲	۱/۰۸	۱۲۹۰
carvacrol	۰/۹۸	۱۱/۰۵	۱۲۹۹
noe-isopulegyl	۳/۱٤	۱/۱٦	۱۳۱۳
delta-elemene	۰/٤۷	–	۱۳۳۸
alpha-terpenyl acetate	۰/٦۸	۰/۳٦	۱۳٤۹
neryl acetate	–	۱/۳٦	۱۳٦۲
geranyl acetate	–	۲/۱۳	۱۳۸۱
unknown	–	۰/٦۹	—
beta-caryophyllene	۱۰/۲۷	۱/۳۲	۱٤۱۹

Archive of SID

www.SID.ir

ادامه جدول شماره ۲- نتایج حاصل از شناسایی اجزای اسانس گیاه گل‌دار و بدون گل *Stachys acerosa*

نام مـاده	درصد ماده در اسانس گیاه گل‌دار	درصد ماده در اسانس گیاه بدون گل	اندیس بازداری استاندارد
aromadendrene		۰/۵۹	۱٤٤۱
cis-beta-farnesene	۰/٤۹	–	۱٤٤۳
alpha-humulene	۱/۷۳	–	۱٤٤٥
beta-franesene	–	۰/۵۰	۱٤٥۷
beta-chamigrene	–	۰/۵۸	۱٤۷۸
gama-curcumene	۱/۳۰	–	۱٤۸۱
ar-curcumene	۳/۲٤	–	۱٤۸۳
beta-selinene	–	۰/٦۱	۱٤۹۰
viridiflorene	۰/۷۰	–	۱٤۹٤
alpha-zingiberene	۱/۵۷	–	۱٤۹۷
bicyclogermacrene	۲/۰٦	–	۱۵۰۰
beta-bisabolene	۲/٤۰	۰/۵۲	۱۵۰٦
delta-amorphene	۲/٤۰	۱/۲۳	۱۵۱۲
alpha-trans bisabolene	۳/۷۷	۱/۰۸	۱۵۲۳
trans-nerolidod	۰/۷۰		۱۵٦۳
(-)- spathulenol	۵/۱۰	۲/۱۷	۱۵۷۹
caryophyllene oxide	٤/۸۲	۱/۳۳	۱۵۸۳
viridiflorol	۰/۷۲	۱/٦۰	۱۵۹۳
beta-eudesmol	–	۰/۷۰	۱٦۵۱
selin-ll-en-4-alpha-ol	–	۱/۰۵	۱٦٦۰
epi-alpha-bisabolene	۳/٤٦	۱/۹۸	۱٦۸۵
	۱۰۰	۱۰۰	



شکل شماره ۱- تصویر نتیجه اثر ضدمیکروبی اسانس بدون گل گیاه *Stachys acerosa* روی میکروب کلبسیلا پنومونیه

شکل شماره ۲- تصویر TLC اسانس گیاه بدون گل *Stachys acerosa*

Archive of SID
www.SID.ir

جدول شماره ۳- نتایج حاصل از جزء جداشده اسانس بدون گل گیاه *Stachys acerosa* در R_f= ۰/۵

شماره	نام مـاده	درصد ماده در اسانس	اندیس بازداری استاندارد
۱	*(+) – pulegone*	۱۷/۰٦	۱۲۳۷
۲	*linalyl acetate*	۱٤/٤	۱۲٥۷
۳	*cis-chrysanthenyl acetate*	۱٦/٦۲	۱۲٦٥
٤	*thymol*	۲/٤۹	۱۲۹۰
٥	*carvacrol*	٤۰/٤٥	۱۲۹۹
٦	*neryl acetate*	۰/۹۰	۱۳٦۲
۷	*geranyl acetate*	٤/۲۰	۱۳۸۱
۸	*caryophyllene oxide*	٤/۲٥	۱٥۹۳
		۱۰۰	

بحث

گیاه *Stachys acerosa* به صورت بدون گل حاوی ۰/۱۱ درصد و با گل حاوی ۰/۰۹ درصد اسانس زرد رنگ بود که با مقایسه با سایر گونه‌های *Stachys* کمی بیشتر می‌باشد [۱٤،۱٥].

در آنالیز اسانس گل دار گیاه ۲۹ ترکیب شناسایی شد و در آنالیز اسانس بدون گل گیاه از ۳۸ ترکیب، ۳۷ ترکیب شناسایی شد. درصد عمده اسانس گل‌دار گیاه شامل:

سیس _ کریزانتینیل استات ۳٦/۰٦ درصد، بتاکاریوفیلن ۱۰/۲۷ درصد، ال _ لینالول ۷/٦٥ درصد هستند و درصد عمده ترکیبات اسانس بدون گل گیاه عبارتند از: ال _ لینالول ۲۱/٦۰ درصد، لینالیل استات ۱۳/٤۸ درصد، کارواکرول ۱۱/۰٥ درصد، سیس _ کریزانتینیل استات ۱۲/٤۳ درصد.

لینالول ترکیب عمده اسانس *S. iberica* و *S. athorecalyx* را تشکیل داده، بتاکاریوفیلن ترکیب عمده اسانس *S. lavandolifolia* و *S. balansea* می‌باشد [۱٤،۱٥]. اکثر ترکیبات اسانس گیاه در سایر گونه‌های آن با درصدهای مختلف یافت شده‌اند [۱٤،۱٥].

در مورد اثرات ضدباکتریایی اسانس این گیاه بعد از بررسی هر ۲ نوع اسانس، اسانس گیاه گل‌دار اثر ضدمیکروبی به روش بیواتوگرافی از خود نشان نداد در حالی که در نمونه بدون گل گیاه اثر ضدباکتریایی مشاهده گردید. با توجه به اینکه در روش بیواتوگرافی تعلیقی اکثر میکروب‌ها در R_f =۰/۵ هاله عدم رشد داشتند این R_f پس از جداسازی روی پلیت تهیه‌ای و تزریق به GC-MS با شرایط تغییر یافته، ترکیبات آن جداسازی شد.

ترکیبات آن به ترتیب عبارتند از: کارواکرول ٤۰/٤٥ درصد، پولگون ۱۷/۰٦ درصد، سیس کریزانتینیل استات ۱٦/۰۲ درصد، لینالین استات ۱٤/۰٤ درصد، کاریوفیلن اکسید ٤/۲٥ درصد، ژرانیل استات ٤/۲۰ درصد، تیمول ۲/٤۹ درصد، نریل استات ۰/۹ درصد.

با توجه به اینکه از ترکیبات کارواکرول و کاریوفیلن اکسید اثرات ضدباکتریایی گزارش شده است [۱٤] و با مقایسه این مواد در دو نوع اسانس دیده می‌شود که کارواکرول در گیاه گل‌دار ۰/۹۸ درصد و در گیاه بدون گل ۱۱/۰٥ درصد می‌باشد. بنابراین می‌توان دلیل اثرات ضدمیکروبی اسانس بدون گل را بیشتر به کارواکرول آن نسبت داد.

منابع

1. Meremeti A, Karioti A, Skaltsa H, Heilmann J. Secondary metabolites from *Stachy ionica*. *Biochemical systematics and Ecol*. 2004; 34: 139 - 51.

Archive of SID
www.SID.ir

2. Mozaffarian V. A Dictionary of Iranian Plant Names. 1st ed. Farhang Moaser. Tehran. 1997, pp: 198 - 9.

3. Evans WC. Treas and Evans pharmacognosy. San Sanders. UK. 2002, pp: 253 - 83.

4. Cakir A, Duru ME, Harmandar M, Izumi S and Hirata T. The volatile constituents of *Stachy recta* and *Stachys balansae* from Turkey. *Flavour Fragr J*. 1997; 12: 215 - 8.

5. Rabbani M, Sajjadi SE and Zarei HR. Anxiolytic effects of *Stachyis lavandulifolia* on the elevated plus-maze model of anixety in mice. *J. Ethnopharm*. 2003; 89: 271 - 6.

6. Amin Gh. Popular Medicinal Plants of Iran. Iranian Research Institute of Medicinal Plants, Tehran, 1991, pp: 80 - 1.

7. Bremness L. Herbs. Dorling Kindersley. London.1994, pp: 219 - 20.

8. Duke JA. Hand book of Medicinal herbs.2nd ed. CRC Press. USA. 2001, pp: 792 - 3.

9. Ody P. Complete medicinal herbal. Dorling Kindersley. London. 1995, pp: 990 - 1.

10. Stamatis G, Kyriazopoulos P, Golegou S, Basayianmis A, Skaltsa S and Skaltsa H. In vitro anti-helicobacter pylori activity of greek herbal medicines. *J. Ethnopharm*. 2003; 88: 175 - 9.

11. Moshafi MH, Mehrabani M, Zolhasab H. Antibacterial activity studies of Salvia mirzayanii and Salvia atropatana against six standard gram positive and gram negative bacteria. *J. of Kerman University of Medical Sci*. 2004; 11 (2): 109 - 18

12. Wagner H and Bladt S. Plant drug analysis. Springer. Berlin. 1996, pp: 149 - 68.

13. Adams R. Identification of essential oil composition by GC-MS. Allured Publishing. Illinois. 2001, pp: 9 - 40.

14. Jovanovic GS, Skaltsa DH, Marin P and Sokovic M. Composition and antibacterial activity of the essential oil of six *Stachys* species from Serbia. *Flavour Fragr J.* 2004; 19: 139 - 44.

15. Skaltsa HD, Demetzos C, Lazari D and Sokovic M. Essential oil analysis and antimicrobial activity of eight *Stachys* species from Greece. *Phytochem.* 2003; 64: 743 - 52.

Archive of SID

www.SID.ir