

شناسایی ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس و بررسی آناتومیکی گیاه *Oliveria decumbens* Vent.

حمزه امیری^۱، حسین لاری یزدی^۲، بهروز دوستی^۳ و فرانک صمصام‌نیا^۲

۱- نویسنده مسئول، استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه لرستان، پست الکترونیک: amiri_h_lu@yahoo.com

۲- استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد بروجرد

۳- استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد خرم‌آباد

تاریخ پذیرش: اسفند ۱۳۸۸

تاریخ اصلاح نهایی: بهمن ۱۳۸۸

تاریخ دریافت: بهمن ۱۳۸۷

چکیده

جنس *Oliveria* متعلق به تیره چتریان بوده و فقط یک گونه با نام علمی *Oliveria decumbens* Vent دارد که اندمیک ایران است. از طرف دیگر اسانس‌ها از متابولیت‌های ثانویه گیاهی بوده که به‌طور وسیعی در صنایع غذایی، دارویی و بهداشتی و به‌عنوان ترکیب‌هایی با خاصیت ضد میکروبی مورد استفاده قرار می‌گیرند. در این تحقیق گیاه *Oliveria decumbens* Vent. از دامنه کوه‌های شمال غرب شهرستان کوه‌دشت در منطقه تنگ‌سیاب واقع در استان لرستان جمع‌آوری گردید و پس از خشک کردن گیاه در سایه، اسانس‌گیری از آن با روش تقطیر با آب انجام شد. شناسایی ترکیب‌های موجود در اسانس به وسیله کروماتوگراف گازی (GC) و کروماتوگراف گازی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC/MS) انجام شد. مطالعات آناتومیکی نیز توسط روش رنگ‌آمیزی مضاعف با استفاده از دو رنگ سبز متیل و قهوه‌ای بیسمارک انجام شد. نتایج این بررسی منجر به شناسایی ۱۶ ترکیب در اسانس این گیاه شد که ۹۶/۵٪ از کل ترکیب‌های اسانس را شامل شده و تیمول (۴۹/۳٪)، گاما-تریپنین (۲۳/۱٪) و پاراسیمین (۱۰/۰٪) ترکیب‌های اصلی آن محسوب می‌شدند. بنابراین بررسی نتایج آناتومیکی نشان داد که در سطح برگ‌های این گیاه کرک‌های غیرترش‌دی‌ده می‌شوند، در حالی که در قسمت‌های درونی پوست ساقه کانال‌های ترش‌دی‌ده مشاهده می‌شوند که محل تشکیل اسانس در این گیاه هستند.

واژه‌های کلیدی: *Oliveria decumbens* Vent، اسانس، ساختارهای ترش‌دی‌ده، تیمول، گاما-تریپنین.

مقدمه

تنوع آب و هوایی و در نتیجه فلور گیاهی بسیار متنوع در ایران، امکان شناسایی مواد مؤثره گیاهی در گیاهان مختلف بومی کشور و استخراج آنها به منظور تولید این مواد به مقدار زیاد و در سطح صنعتی وجود دارد. این کار به‌ویژه در مورد گیاهانی که منحصر به ایران هستند و تاکنون کمتر مورد بررسی قرار گرفته‌اند، اهمیت ویژه‌ای دارد (شفیع‌زاده، ۱۳۸۱).

استفاده از گیاهان دارویی برای درمان بیماری‌ها قرن‌ها سابقه دارد. امروزه با توجه به اینکه بخش عظیمی از داروهای مصرفی شیمیایی هستند، اما تخمین زده شده که دست‌کم یک سوم کلیه فرآورده‌های دارویی منشأ گیاهی دارند یا پس از استخراج از گیاه تغییر شکل یافته‌اند (Eisenberg et al., 1998). در همین راستا با توجه به

ساعت با استفاده از دستگاه کلونجر به روش تقطیر با آب مورد اسانس‌گیری قرار گرفت و بعد اسانس بدست آمده توسط سولفات سدیم رطوبت‌زدایی شد و در ظرف کوچک و دربسته در تاریکی و دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان انجام آزمایشها نگهداری گردید.

آنالیز GC با دستگاه کروماتوگراف گازی مدل Shimadzu-15A انجام شد. نیتروژن به‌عنوان گاز حامل با سرعت یک میلی‌لیتر در دقیقه و ستون DB-5 (۰/۲mm) × ۵۰m و ۰/۳۲μm استفاده شد. دمای ستون در ۶۰°C برای مدت ۳ دقیقه نگهداری و بعد با سرعت ۵°C در دقیقه تا ۲۲۰°C افزایش یافت و برای ۵ دقیقه در ۲۲۰°C ثابت گردید. درصد‌های نسبی با استفاده از نرم‌افزار کروماتوپیک C-R4A بدون استفاده از فاکتور تصحیح از سطح زیر منحنی برآورد شد.

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

شناسایی مواد تشکیل‌دهنده اسانس به وسیله مقایسه طیف جرمی و اندیس بازداریشان با آنچه که در منابع وجود دارد انجام گردید (Adams, 2001).

مطالعات آناتومیکی نیز با برش‌گیری از برگ و ساقه گیاه و رنگ‌آمیزی مضاعف توسط سبز متیل و قهوه‌ای بیسمارک انجام شد.

جنس *Oliveria* متعلق به خانواده چتریان بوده و در ایران یک گونه با نام *O. decumbens* دارد که در مناطق غربی و جنوب غربی ایران می‌روید (مظفریان، ۱۳۷۵).

Oliveria decumbens گیاهی یک‌ساله، ایستاده، معطر، به ارتفاع ۲۰-۴۵ سانتی‌متر است. ساقه آن محکم، دارای انشعابات دو شاخه و شاخه‌های فراوان ایستاده، گسترده، سفید بی‌کرک یا مانند ساقه کرکدار است. برگها به صورت بُن‌رُست و دم‌برگ‌دار هستند. گل آن صورتی-ارغوانی و نر ماده است. میوه به صورت تخم‌مرغی، در جهت پهلوها فشرده، پوشیده از کرکهای فراوان است (قهرمان، ۱۳۷۷ب). در طب سنتی ایران از این گیاه در درمان سوءهاضمه، اسهال، دردهای شکمی و رفع تب استفاده می‌شود. در جنوب غرب ایران به صورت سنتی و بومی از جوشانده و دم‌کرده گیاه *O. decumbens* برای درمان دردهای شکمی و عفونت‌های داخلی استفاده می‌شود (Amin et al., 2005).

در این تحقیق سعی شده است که مواد تشکیل‌دهنده اسانس *O. decumbens* شناسایی شده و در ضمن ساختارهای آناتومیکی این گیاه به‌ویژه بخش‌های ترش‌حی آن که مسئول تولید و ترشح اسانس هستند، مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روشها

اندامهای هوایی گیاه *Oliveria decumbens* از رویشگاه طبیعی و از دامنه کوههای شمال غرب شهرستان کوه‌دشت در منطقه تنگ‌سیاب واقع در استان لرستان جمع‌آوری شد. گیاه مذکور در مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان لرستان شناسایی و با کد ۳۶۱۶ ثبت شد. ۱۰۰ گرم از نمونه‌های خشک شده گیاه به مدت ۳

نتایج

۱۶ ترکیب شناسایی شد که در مجموع ۹۶/۴٪ از کل اسانس را شامل می‌شوند که در این بین تیمول (۴۹/۳٪)، گاما-ترپینن (۲۳/۱٪) و پارا-سیمن (۱۰/۰٪) ترکیب‌های اصلی محسوب می‌شوند.

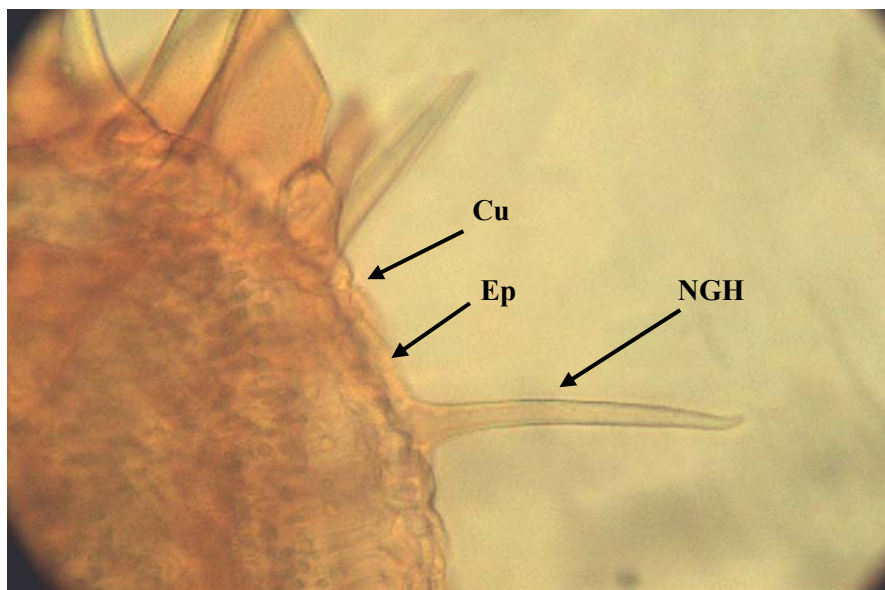
نتایج بررسی نشان داد که بازده اسانس حاصل از گیاه *O. decambens* ۱/۸٪ (وزنی-وزنی) است. نتایج مربوط به مواد تشکیل‌دهنده اسانس نیز در جدول ۱ آورده شده است براساس داده‌های این جدول در اسانس مذکور

جدول ۱- ترکیب‌های شناسایی شده در اسانس گیاه *Oliveria decambens* Vent.

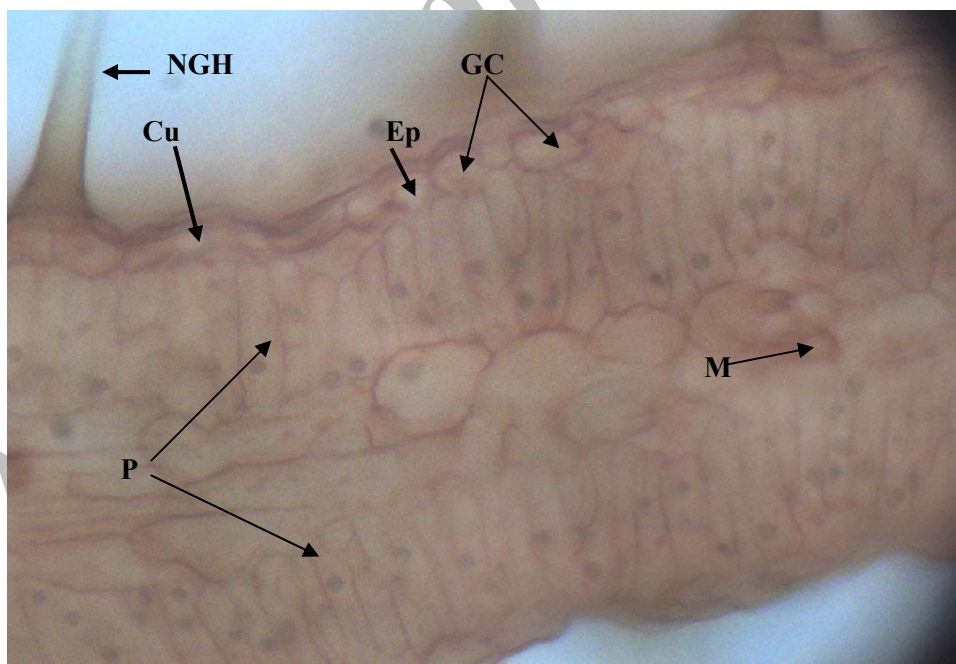
| ردیف | نام ترکیب | شاخص بازداری | درصد |
|------|-----------------------|--------------|------|
| ۱ | hexanol | ۸۶۰ | ۰/۲ |
| ۲ | α -thujene | ۹۲۸ | ۰/۲ |
| ۳ | α -pinene | ۹۳۵ | ۰/۱ |
| ۴ | β -myrcene | ۹۸۵ | ۱/۱ |
| ۵ | α -terpinene | ۱۰۱۳ | ۰/۴ |
| ۶ | <i>p</i> -cymene | ۱۰۲۰ | ۱۰/۰ |
| ۷ | limonene | ۱۰۲۷ | ۳/۶ |
| ۸ | β -phellandrene | ۱۰۲۸ | ۲/۷ |
| ۹ | γ -terpinene | ۱۰۵۷ | ۲۳/۱ |
| ۱۰ | terpinolene | ۱۰۸۷ | ۰/۳ |
| ۱۱ | chrysanthenyl actate | ۱۲۳۶ | ۰/۳ |
| ۱۲ | thymol | ۱۲۹۰ | ۴۹/۳ |
| ۱۳ | nonenal | ۱۱۰۲ | ۰/۸ |
| ۱۴ | γ -gurjunene | ۱۴۰۶ | ۰/۳ |
| ۱۵ | myristicin | ۱۵۲۲ | ۳/۲ |
| ۱۶ | spathulenol | ۱۵۸۹ | ۰/۸ |
| | جمع | | ۹۶/۴ |

شده از ساقه نیز به ترتیب از بیرون به درون اپیدرم، پارانشیم پوستی، آندودرم، دستجات آوندی چوب و آبکش و مغز دیده می‌شوند (شکل‌های ۳ و ۴). همچنین در ناحیه پوست این گیاه کانال‌های ترشح‌کننده اسانس مشاهده می‌شود (شکل ۴).

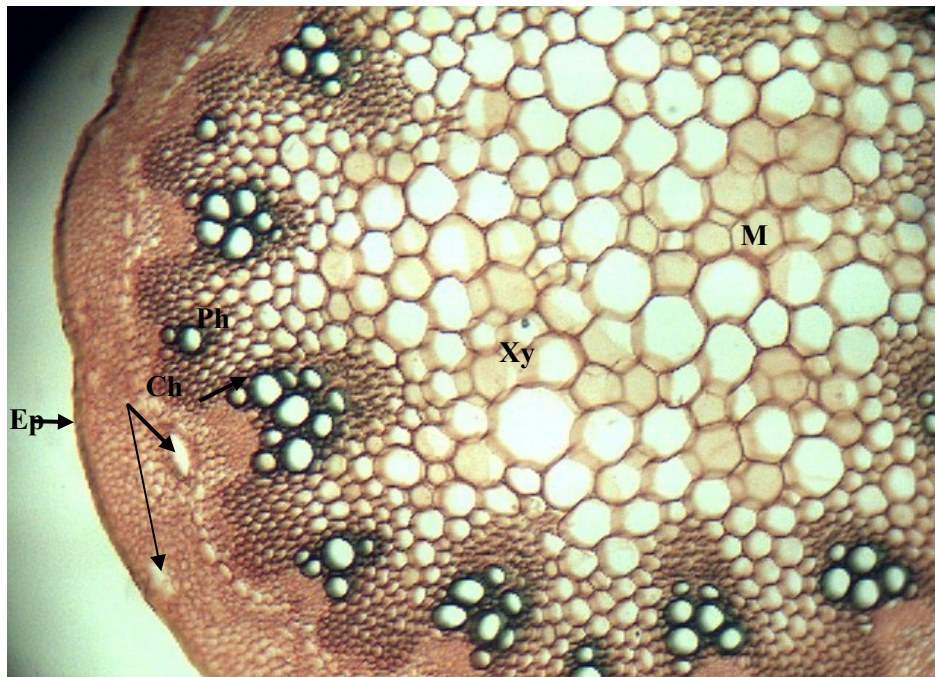
در برشهای عرضی برگ گیاه *O. decambens* در سطح تحتانی و فوقانی پارانشیم‌های نردبانی دیده می‌شود که پارانشیم‌های حفره‌ای را در مرکز برگ احاطه نموده‌اند. همچنین در این برشها، کرک‌های غیرترشحي بلند تک‌سلولی در اپیدرم فوقانی و تحتانی دیده می‌شوند (شکل‌های ۱ و ۲). به طوری که در برشهای عرضی تهیه



شکل ۱- مشاهده کرک‌های غیرترش‌حی در سطح برگ *O. decambens*
 (NGH: کرک غیرترش‌حی، Ep: اپیدرم، Cu: کوتیکول)

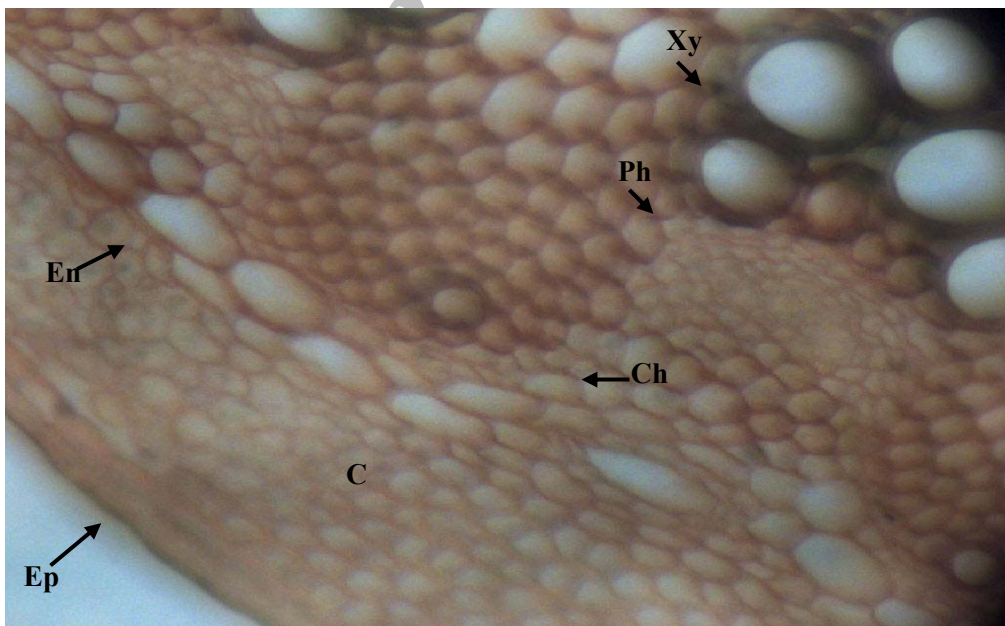


شکل ۲- برش عرضی برگ *O. decambens*
 (P: پارانشیم نردبانی، M: پارانشیم حفره‌ای، Ep: اپیدرم، GC: سلول‌های محافظ روزنه، NGH: کرک غیرترش‌حی، Cu: کوتیکول)



شکل ۳- برش عرضی ساقه *O. decumbens* Vent.

(Ep: اپیدرم، Ch: مجرای ترشچی، Xy: آوند چوب، Ph: آوند آبکش، M: پارانشیم مغز)



شکل ۴- برش عرضی ساقه *O. decumbens* Vent.

(Ep: اپیدرم، Ch: مجرای ترشچی، C: پارانشیم پوست، Xy: آوند چوب، Ph: آوند آبکش، En: لایه آندودرم)

بحث

تیمول (۲۶/۹٪)، پاراسیمین (۱۳/۳٪) و گاما-تریپنین (۱۱٪) مهمترین ترکیب‌های موجود در اسانس به دست‌آمده از اندام‌های هوایی *O. decumbens* که از شیراز جمع‌آوری شده است، می‌باشند (محبوبی و همکاران، ۱۳۸۷).

مقایسه نتایج بررسی حاضر با گزارشهای قبلی نشان می‌دهد که ترکیب‌های شاخص اسانس گیاه در اغلب موارد با تفاوت‌هایی در درصد آنها مشابه است، اما یکی از تفاوت‌های قابل‌توجه در این پژوهش با اغلب بررسی‌ها این است که در پژوهش حاضر کارواکرول شناسایی نشد. در حالی که ترکیب مذکور در سایر گزارشهای موجود به‌عنوان یکی از ترکیب‌های مهم اسانس *O. decumbens* ذکر شده است. این تفاوت و سایر تفاوت‌های مشاهده شده در جدول ۲ می‌تواند به دلیل نوع اندام مورد استفاده و محل جمع‌آوری گیاه باش، زیرا عوامل اکولوژیکی محل رویش گیاه می‌تواند در تغییرات کمی و کیفی متابولیت‌های ثانویه گیاهی نقش عمده‌ای را ایفا نمایند.

تحقیقات متعددی در مورد شناسایی ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس بخش‌های مختلف گیاه *O. decumbens* انجام شده است که در این بین می‌توان به بررسی‌های Amin و همکاران (۲۰۰۵) که منجر به شناسایی تیمول (۴۷/۱٪)، کارواکرول (۲۳/۳٪)، گاما-تریپنین (۱۸/۹٪) و پاراسیمین (۸/۷٪) به‌عنوان ترکیب‌های اصلی اسانس گل *O. decumbens* جمع‌آوری شده از جنوب شیراز شده است اشاره نمود. همچنین تیمول (۲۸٪)، کارواکرول (۲۹٪)، پاراسیمین (۱۵/۴٪) و گاما-تریپنین (۲۰/۵٪) مهمترین ترکیب‌های اسانس حاصل از گل‌های گیاه جمع‌آوری شده از کرمانشاه محسوب می‌شوند (میرزا و نجف‌پور نوایی، ۱۳۸۱). در حالی که اسانس حاصل از گل‌های گیاه جمع‌آوری شده از خوزستان شامل تیمول (۳۷/۲٪)، کارواکرول (۲۲/۱٪)، پاراسیمین (۱۱/۸٪) و گاما-تریپنین (۱۲/۸٪) می‌باشد (Sajadi & Hoseini, 2002).

جدول ۲- تغییرات کمی و کیفی اسانس گیاه *O. decumbens* در مناطق مختلف ایران

| اندام مورد استفاده | محل جمع‌آوری گیاه | اجزاء اصلی اسانس |
|--------------------|-------------------|--|
| گل | شیراز | تیمول (۴۷/۱٪)، کارواکرول (۲۳/۳٪)، گاما-تریپنین (۱۸/۹٪) و پاراسیمین (۸/۷٪) |
| گل | خوزستان | تیمول (۳۷/۲٪)، کارواکرول (۲۲/۱٪)، پاراسیمین (۱۱/۸٪) و گاما-تریپنین (۱۲/۸٪) |
| گل | کرمانشاه | تیمول (۲۸٪)، کارواکرول (۲۹٪)، پاراسیمین (۱۵/۴٪) و گاما-تریپنین (۲۰/۵٪) |
| اندام هوایی | شیراز | تیمول (۲۶/۹٪)، پاراسیمین (۱۳/۳٪) و گاما-تریپنین (۱۱٪) |
| اندام هوایی | لرستان | تیمول (۴۹/۳ درصد)، گاما-تریپنین (۲۳/۱۲ درصد) و پاراسیمین (۹/۹۷٪) |

دسته‌های کوچک مربوط به برگها (آثار برگ) هستند. به‌طوری که همه دستجات آوندی ساقه به وسیله حلقه‌هایی از بافت اسکلرانشیم احاطه شده‌اند (قهرمان، ۱۳۷۷ الف).

در *O. decumbens* همانند سایر گونه‌های تیره جعفری تشکیلات ثانویه چوب‌پنبه و پارانشیم ثانوی (سوبروفلودرمی) در پوست ساقه دیده نمی‌شود، بنابراین دارای اپیدرم پایا هستند. دسته‌های چوب و آبکش ساقه هم‌اندازه نیستند، زیرا دسته‌های بزرگ مربوط به ساقه و

- کوهستان (*Oliveria decumbens* Vent.). تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۲۴(۱): ۶۵-۵۶.
- مظفریان، و.، ۱۳۷۵. فرهنگ نامهای گیاهان ایران. انتشارات فرهنگ معاصر، تهران، ۶۷۱ صفحه.
- میرزا، م. و نجف‌پور نوایی، م.، ۱۳۸۱. بررسی ترکیبهای شیمیایی اسانس *Oliveria decumbens* Vent. تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۱۵: ۳۱-۲۳.
- Adams, R.P., 2001. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy. Allured Publishing Corporation, Carol Stream, USA, 475p.
- Amin, G.h., Salehi Sourmaghi, M.H., Zahedi, M., Khanavi, M. and Samadi, N., 2005. Essential oil composition and antimicrobial activity of *Oliveria decumbens*. *Fitoterapia*, 76: 704-707.
- Davies, J. and Webb, V., 1998. The Emergining Infections. Academic Press, Sandiego, 273p.
- Eisenberg, D.M., Davis, R.B., Ernst, S.L., Apple, S., Wilkey, S., Van Rompay, M. and Kessler, R.C., 1998. Trends in alternative medicine use in the united states. 1990-1997, Results of a follow up national survey. *The Journal of American Medical Association*, 280: 1569-1575.
- Kaya A., 2003. The genus *Astrantia* L. in Turkey: morphology and anatomy. *Acta Botanica Croatica*, 62(2): 89-102.
- Sajadi, S.E. and Hoseini, S.A., 2002. Essential oil constituents of *O. decumbens* Vent. *Journal of Essential Oil Research*, 14(3): 220-221.

بافت ترشح‌کننده در *O. decumbens* همانند سایر گیاهان تیره جعفری مجاری یا کانالهای ترشح‌کننده ترکیب‌های روغنی است که در این گیاه فقط در منطقه پوست دیده می‌شوند، در حالی که در سایر گیاهان این تیره علاوه بر پوست در مناطق مختلف دیگر مثل پارانشیم مغز و پارانشیم آبکشی مشاهده می‌شوند. همچنین در برگ اغلب گیاهان تیره جعفری حفره‌های ترشح‌کننده اسانس یا رزین دیده می‌شود، در حالی که در برگ *O. decumbens* چنین ساختارهایی مشاهده نشد (قهرمان، ۱۳۷۷ الف؛ Kaya, 2003).

منابع مورد استفاده

- شفیغ‌زاده، ف.، ۱۳۸۱. گیاهان دارویی لرستان. انتشارات حیوان، تهران، ۲۳۳ صفحه.
- قهرمان، ا.، ۱۳۷۷ الف. کورموفیت‌های ایران. جلد دوم، انتشارات مرکز نشر دانشگاهی، تهران، ۸۴۲ صفحه.
- قهرمان، ا.، ۱۳۷۷ ب. فلور رنگی ایران. جلد ۱۸، انتشارات مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، تهران، ۱۲۴ صفحه.
- محبوبی، م.، فیض‌آبادی م.م.، حقی، ق. و حسینی ح.، ۱۳۸۷. مطالعه خاصیت ضد میکروبی و ترکیب شیمیایی اسانس لعل

Essential oil composition and anatomical study of *Oliveria decumbens* Vent.

H. Amiri^{1*}, H. Lari Yazdi², B. Dosti³ and F. Samsamnia²

1*- Corresponding author, Department of Biology, Lorestan University, Khoram-Abad, Iran, E-mail: amiri_h_lu@yahoo.com

2- Department of Biology, Islamic Azad University, Broujerd Branch, Broujerd, Iran

3- Department of Science, Islamic Azad University, Khoram-Abad Branch, Khoram-Abad, Iran

Received: February 2009

Revised: February 2010

Accepted: March 2010

Abstract

Oliveria genus belongs to Umbeliferae family and only has one species, *Oliveria decumbens* Vent endemic to Iran. On the other hand, essential oils are of secondary materials in plants widely used in the food, hygienic and pharmaceutical industry, and also as antimicrobial compounds. *Oliveria decumbens* was collected from northwest mountains of Kuh-dasht in Lorestan province. Afterward, plant materials were dried in shade and hydro distilled using a Clevenger apparatus. The oil was analyzed by capillary GC and GC/MS. The anatomical studies were carried out using distaining method with Bismark brown and methyl green. GC and GC/MS analysis of the essential oil resulted in identification of 16 compounds representing 96.4% of the total oil. Anatomical studies showed that the surface of leaves was covered by non-glandular hairs while in cross section of the stems, the secretory canals were observed in cortex region.

Key words: *Oliveria decumbens*, essential oil, secretory structure, thymol, γ -terpinene.

Archive of SID