

استخراج و تعیین ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس گونه *Origanum strobilaceum* Mobayen & Ghahreman

سمیه شاهوردی^{۱*}، فاطمه سفیدکن^۲، زیبا جمزاد^۳ و طاهر نژادستاری^۴

۱- نویسنده مسئول، دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران

پست الکترونیک: shahverdi185@yahoo.com

۲- استاد، بخش تحقیقات گیاهان دارویی و محصولات فرعی، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور

۳- استاد، بخش تحقیقات گیاه‌شناسی، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور

۴- دانشیار، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران

تاریخ پذیرش: دی ۱۳۸۹

تاریخ اصلاح نهایی: دی ۱۳۸۹

تاریخ دریافت: آبان ۱۳۸۹

چکیده

گونه *Origanum Strobilaceum* Mobayen & Ghahreman گیاهی از خانواده نعناء و متعلق به جنس *Origanum* است. در این تحقیق برای اولین بار، اسانس این گونه از نظر کمی و کیفی مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور سرشاخه گلدار گیاه مذکور از استان مازندران، جاده جنت روبار جمع‌آوری گردید. پس از خشک کردن در سایه با روش تقطیر با آب اسانس‌گیری شد. سپس اجزای تشکیل‌دهنده اسانس با استفاده از دستگاه‌های GC و GC/MS مورد تجزیه و شناسایی قرار گرفت. ۲۹ ترکیب در اسانس شناسایی شدند که ۹۷٪ اسانس را تشکیل می‌دادند. عمده‌ترین اجزای اسانس پارا-سیمین (۲۵٪)، ترانس کاریوفیلن (۱۴٪)، تیمول (۹٪)، کارواکرول (۵٪) و کومین‌آلدید (۱٪) می‌باشند. اسانس این گونه از نظر نوع ترکیب‌های تشکیل‌دهنده با اسانس گونه *O. vulgare* که اجزای اصلی آن فنولهای تیمول و کارواکرول و نیز جرماترن D و کاریوفیلن هستند، مشابهت‌ها و تفاوت‌هایی دارد.

واژه‌های کلیدی: *Origanum strobilaceum* Mobayen & Ghahreman، اسانس، پارا-سیمین، ترانس کاریوفیلن، تیمول.

این جنس در تمام منطقه مدیترانه حضور دارد و به علاوه در تمام قسمتهای ناحیه اروپا-سیبری و ایران-تورانی دیده می‌شود. آنچه که در برخی از منابع خارجی ذکر شده است (Gurtner, 1986)، با شک و تردید زادگاه مرزنگوش را آفریقای شمالی (در مصر) دانسته‌اند که از

مقدمه

جنس *Origanum* گیاهیست بوته‌ای که بیشترین پراکندگی را در منطقه مدیترانه دارد. بیشتر گونه‌های این جنس (۷۵٪) در منطقه مدیترانه شرقی حضور دارند. به علاوه ترکیه و ایران نیز رویشگاه این گونه هستند.

۹۹/۹ در ایران که در مجموع *O. vulgare* subsp. *vulgare* درصد ترکیب‌های آن را شامل می‌شوند، به ترتیب ترکیب‌های بتا-کاریوفیلن (۰/۲۴)، جرماتکن-دی (۰/۱۵)، ترانس-ساینن هیدرات (۰/۹)، ساینن (۰/۶)، آلفا-هومولن (۰/۵)، والنسن (۰/۴۳) و ترانس-بتا-اوسمین (۰/۴۲). بیشترین میزان را به خود اختصاص می‌دهند (برازنده، ۱۳۸۰). تاکنون اسانس گونه *O. strobilaceum* مورد بررسی قرار نگرفته است، اما اسانس برخی از سایر زیرگونه‌ها و گونه‌های این جنس در گذشته بررسی شده است. در اسانس *O. vulgare* subsp. *vulgare* از ترکیه ۶۲ ترکیب شناسایی شده که ۰/۸۹٪ اسانس مرزنگوش را تشکیل می‌داده‌اند. کاریوفیلن (۰/۱۴)، اسپاتولون (۰/۱۱)، جرماتکن D (۰/۸۱) و آلفا-تریپیثول (۰/۷۵) بیشترین ترکیب‌های این اسانس بوده‌اند (Sahin *et al.*, 2004). در بین ترکیب‌های شیمیایی شناسایی شده اسانس گونه *O. vulgare* subsp. *Vulgare* ترکیب‌های اصلی فنلهای تیمول و یا کارواکرول هستند (Leisher & Fleisher, 1991) و ترپنین-۴-آل نیز در این اسانس‌ها شناسایی شده‌اند (Trpinen-4-Al, Sivropoulou *et al.*, 1996). در تحقیقات دیگری گزارش شده که اسانس مرزنگوش فعالیت‌های ضد میکروبی و ضد قارچی قابل توجهی دارد (Kordali *et al.*, 2008).

مواد و روشها

جمع‌آوری و آماده‌سازی گیاه

اندام هوایی گیاه *O. strobilaceum* در اوخر فصل بهار و اوایل تابستان در مرحله گلدهی کامل از جاده جنت روبار جمع‌آوری شد و سپس در سایه خشک شد. نمونه هرباریومی این گیاه تهیه و توسط هرباریوم مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراعع کشور شناسایی و با کد ۸۴۸۳ ثبت شد.

آنچه به اروپای مرکزی رفته است و به همین دلیل است که در عهد باستان، مرزنگوش به عنوان یک ادویه مهم و نیز گیاه اهلی و پرارزش، به‌ویژه در مشرق زمین، می‌درخشیده است (جاویدتاش، ۱۳۷۳). بیشتر گونه‌های این جنس در ارتفاع ۱۲۰۰-۱۵۰۰ متر می‌رویند و در جنگل‌های باز سوزنی برگ دیده می‌شوند، ولی به هر حال تعدادی از گونه‌ها در ارتفاعات پایین‌تر نیز دیده می‌شوند. تقریباً تمام گونه‌های این جنس در دامنه‌ی سنگلاخی و صخره‌ای می‌رویند و تعدادی نیز به‌طور مشخص در شکاف صخره‌ها می‌رویند (Ietswaart, 1980).

گونه *O. strobilaceum* گیاهیست علفی با ساقه چهارگوش و گاهی کم و بیش گرد که پوشیده از کرک می‌باشد. برگها عمولاً متقابل، گاهی چرخه‌ای، و بدون گوشوارک هستند. روزنمه‌ها دیاستیک، تعدادی آنوموتیک، گل آذین گرزن است که به صورت متراکم شده در یک مجموعه قرار می‌گیرند که اصطلاحاً چرخه گل نامیده می‌شوند. پرچم‌ها چهار عدد و دی دینام می‌باشد. تخدمان فوقانی و میوه فندقه و تخمرک ۴ عدد می‌باشد (قهرمان، ۱۳۸۵).

این گیاه ارزش دارویی بسیار زیادی دارد و از آن به عنوان ادویه استفاده می‌شود. در طب سنتی از برگها و سرشاخه‌های برگدار مرزنگوش به عنوان ماده مسکن برای ناراحتی عصبی، درمان تپش قلب و همین طور عامل حفظ معده و روده استفاده می‌شود. این گیاه مقوی، نیرودهنده، اشتتها آور، ضد نفخ، دارای خواص گندздایی است و با راندن مواد سمی از اندامها آنها را شستشو می‌دهد. مرزنگوش از راه خوراکی مفید برای گوارش و مثل آویشن خلط‌آور، مسکن سرفه، ضد اسهال و ضد التهاب است (توکلی صابری و صداقتی، ۱۳۷۹). از میان ۳۶ ترکیب شناسایی شده در روغن اسانسی

مشخصات گاز کروماتوگرافی متصل به طیفسنج جرمی (GC/MS)

گاز کروماتوگرافی متصل شده به طیفسنج جرمی مدل واریان ۳۴۰۰ از نوع تله یونی مجهز به ستون DB-5 به طول ۳۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلی‌متر که ضخامت لایه فاز ساکن در آن ۰/۰۲۵ میکرومتر بود مورد استفاده قرار گرفت. برنامه‌ریزی حرارتی ستون از دمای اولیه ۵۰ درجه سانتی‌گراد تا دمای نهایی ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد بود که در هر دقیقه ۳ درجه سانتی‌گراد به آن افزوده می‌شد. دمای محفظه تزریق، ۱۰ درجه بیش از دمای نهایی ستون تنظیم گردید. گاز حامل هلیوم بود که با سرعت ۳۱/۵ سانتی‌متر بر ثانیه در طول ستون حرکت می‌کرد. زمان اسکن برابر یک ثانیه، انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت و ناحیه جرمی از ۴۰ تا ۳۴۰ بود.

محاسبه شاخص بازداری و شناسایی ترکیب‌ها

برای محاسبه اندیس‌های بازداری ترکیب‌ها، آلکان‌های نرمال C9-C22 به دستگاه GC تزریق گردید. شناسایی ترکیب‌ها با مطالعه طیف‌های جرمی و مقایسه با طیف جرمی ترکیب‌های استاندارد، با استفاده از اطلاعات موجود در کتابخانه ترپنئیدها در کامپیوتر و به کمک شاخص‌های بازداری محاسبه شد و مقایسه آنها با شاخص‌های بازداری استاندارد که در منابع مختلف منتشر گردیده، انجام شد. محاسبات کمی (تعیین درصد هر ترکیب) به کمک داده‌پرداز R3A-Chromatepac و نرمال کردن سطح (Area normalization method) و نادیده گرفتن ضرایب پاسخ (Response factors) مربوط به طیف‌ها انجام شد.

اسانس‌گیری

برای اسانس‌گیری نمونه خشک شده آسیاب گردید و به صورت پودر درآمد. سپس به روش تقطیر با آب (طبق فارماکوپه اروپا) اسانس‌گیری شد. دستگاه مورد استفاده، یک دستگاه تمام شیشه‌ای طرح کلونجر بود. برای اسانس‌گیری، ۸۰ گرم از اندام هوایی خشک شده گیاه مورد بررسی آسیاب شده و مورد تقطیر قرار گرفت. اسانس بدست آمده با سولفات سدیم رطوبت‌زدایی شد. برای تعیین بازده اسانس نسبت به وزن خشک، رطوبت نمونه در زمان اسانس‌گیری نیز تعیین شد.

جداسازی و شناسایی ترکیب‌های اسانس توسط GC و GC/MS

برای شناسایی ترکیب‌های اسانس از دستگاه‌های گاز کروماتوگرافی (GC) و گاز کروماتوگرافی متصل به طیفسنج جرمی (GC/MS) استفاده گردید.

مشخصات گاز کروماتوگرافی (GC)

آنالیز GC با دستگاه گاز کروماتوگرافی فوق سریع (ultra fast) مدل Thermo-UFM ساخت کشور ایتالیا، مجهز به ستون PH-5 (به طول ۱۰ متر، قطر داخلی ۰/۱ میلی‌متر و ضخامت فاز ساکن ۰/۴ میکرومتر) مورد استفاده قرار گرفت. دمای اولیه، ۶۰ درجه سانتی‌گراد (با زمان نگهداری ۳ دقیقه) بود که با ۸۰ درجه سانتی‌گراد افزایش در هر دقیقه به دمای نهایی ۲۸۵ درجه سانتی‌گراد رسید. درجه حرارت محفظه تزریق و آشکارساز (FID)، ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد بود. گاز حامل هلیوم (با درجه خلوص ۹۹/۹۹٪) بود که با سرعت ۳۲ سانتی‌متر بر ثانیه در طول ستون حرکت می‌کرد.

جدول ۱- ترکیب‌های موجود در اسانس گونه *Origanum strobilaceum*

درصد	شاخص بازداری (RI)	نام ترکیب	شماره
۰/۲	۹۲۶	α -thujene	۱
۰/۱	۹۳۲	α -pinene	۲
۰/۷	۹۵۲	camphene	۳
۴/۹	۹۷۴	sabinene	۴
۱/۹	۱۰۱۵	α -terpinene	۵
۲۵/۰	۱۰۲۵	<i>P</i> -cymene	۶
۷/۴	۱۰۶۰	γ -terpinene	۷
۰/۱	۱۰۸۰	terpinolene	۸
۰/۹	۱۱۷۴	terpinolene-4-ol	۹
۵/۱	۱۲۳۹	cumin aldehyde	۱۰
۹/۶	۱۲۹۰	thymol	۱۱
۵/۳	۱۲۹۸	carvacrol	۱۲
۰/۲	۱۳۷۵	α -copaene	۱۳
۰/۶	۱۳۸۴	β -bourbonene	۱۴
۰/۲	۱۳۸۶	β -cubebene	۱۵
۰/۷	۱۳۸۹	β -elemene	۱۶
۱۴/۴	۱۴۱۶	E-caryophyllene	۱۷
۰/۳	۱۴۳۰	β -copaene	۱۸
۲/۶	۱۴۵۴	α -humulene	۱۹
۱/۲	۱۴۵۸	allo-aromadendrene	۲۰
۲/۲	۱۴۷۷	γ -muarolene	۲۱
۲/۰	۱۴۸۳	germacrene D	۲۲
۱/۲	۱۴۹۸	bicyclogermacrene	۲۳
۲/۲	۱۵۷۵	spathulenol	۲۴
۴/۹	۱۵۸۱	caryophyllen oxide	۲۵
۰/۳	۱۵۸۳	globulol	۲۶
۰/۲	۱۶۴۹	β -eudesmol	۲۷
۰/۲	۱۶۵۱	α -cadinol	۲۸
۲/۶	۱۶۷۲	β -bisabolol	۲۹
۹۷/۲		مجموع	

آزمایش در این تحقیق با تحقیقات قبلی (Sahin et al., 2004) تفاوت‌هایی وجود دارد.

O. vulgare subsp. *vulgare* قبلاً در روغن اسانسی کشت شده در ایران، ترکیب‌های بتا-کاریوفیلن (۵٪)، جرماقرن-دی (۱۵٪)، ترانس-سابینن هیدرات (۹٪)، سابینن (۶٪)، آلفا-هومولن (۵٪)، والنسن (۴٪) و ترانس بتا-اوسمین (۴٪) به عنوان ترکیب‌های اصلی گزارش شده بودند (برازنده، ۱۳۸۰). نتایج این تحقیق نشان داد که در اسانس گونه *O. strobilaceum* بیشترین درصد ترکیب‌ها را پارا-سیمن به میزان ۲۵٪ و ترانس-کاریوفیلن به میزان ۱۴٪ و کمترین میزان ترکیب‌ها را آلفا-پینن و آلفا-تریپینولن (۱٪) به خود اختصاص داده‌اند که این نشان‌دهنده تفاوت اسانس این گونه با سایر گونه‌های مرزنگوش می‌باشد.

منابع مورد استفاده

- برازنده، م.م. ۱۳۸۰. شناسایی ترکیب‌های تشکیل‌دهنده روغن اسانسی گل مرزنگوش (مرزنگوش) (*Origanum vulgare* L.). تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران جلد، ۹، ۱۸۷-۱۷۸.
- توکلی صابری، م.ر. و صداقتی، م.ر. ۱۳۷۹. گیاهان دارویی. انتشارات چاپخانه گلشن، تهران، ۲۶۰ صفحه.
- جاویدتاش، ا. ۱۳۷۳. کشت تا برداشت گیاه مرزنگوش (*Origanum vulgare* L.). انتشارات مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، تهران، ۳۰ صفحه.
- قهرمان، ا. ۱۳۸۵. گیاه‌شناسی پایه. جلد سوم، مؤسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران، ۷۸۲ صفحه.
- Gurtner, M., 1986. Gesund durch Heilkräuter. Gondrom Varlag Salzburg, S., 210: 504.
- Ietswaart, J.H., 1980. A taxonomic revision of the genus *Origanum* (Labiatae). PhD thesis. Leiden Botanical Series 4, Leiden University Press, The Hague.
- Kordali, S., Cakir, A., Ozer, H., Cakmakci, R., Kesdek, M. and Mete, E., 2008. Antifungal, phytotoxic and insecticidal properties of essential oil

نتایج

نتایج نشان داد که بازده اسانس حاصل از گیاه *O. strobilaceum*، ۱٪ است. ترکیب‌های شناسایی شده در اسانس مذکور در جدول ۱ آورده شده است. در اسانس این گیاه ۲۹ ترکیب شناسایی شده که به ترتیب پارا-سیمن (۲۵٪)، ترانس-کاریوفیلن (۹٪)، تیمول (۷٪)، گاما-تریپین (۴٪)، کارواکرول (۵٪) و کاریوفیلن اکساید (۴٪) ترکیب‌های شاخص بودند.

بحث

نتایج این تحقیق نشان داد که گونه *O. strobilaceum* با داشتن ترکیب پارا-سیمن به میزان ۲۵٪ از سایر گونه‌ها و زیرگونه‌های جنس *Origanum* قابل تفکیک است و این می‌تواند یکی از شواهد مورد استفاده برای منظور نمودن آن به عنوان گونه مستقل در نظر گرفته شود. در بین ترکیب‌های شناخته شده از اسانس زیرگونه *O. vulgare* subsp. *vulgare* ترکیب‌های اصلی فنل‌های تیمول و کارواکرول (Leisher & Fleisher, 1991) و همچنین جرماقرن D و تریپین-۴-آل (Sivropoulou et al., 1996) می‌باشند. اما در مطالعه انجام شده در این تحقیق، تیمول در اسانس گونه *O. strobilaceum* تیمول در اسانس گونه ۰.۶٪، کارواکرول ۳٪ و جرماقرن D فقط ۰.۲٪ را به خود اختصاص داده است و این مقدار ترکیب‌های فنلی در مقایسه با تحقیقات قبلی درصد قابل ملاحظه‌ای نیست اما مقدار تیمول در مقایسه با سایر گونه‌ها و زیرگونه‌های این جنس درصد قابل توجهی است. در مقایسه ترکیب‌های اصلی اسانس روغنی گیاهان مورد

- methanol extract of *Origanum Vulgare* ssp. *vulgare* in the Eastern Anatolia region of Turkey. Food Control, 15: 549-557.
- Sivropoulou, A., Papanikolaou, E., Nikolaou, C., Kokkinin, S., Lanaras, T. and Arsenakis, M., 1996. Antimicrobial and cytotoxic activities of *Origanum* essential oil. Journal of Agriculture and Food chemistry, 44: 1201-1205.
 - isolated from Turkish *Origanum acutidens* and its three components, carvacrol, thymol and p-cymene. Bioresource Technology, 99(18): 8788-8795.
 - Leisher, A. and Fleisher, Z., 1991. Antimicrobial and cytotoxic activities of *Origanum* essential oils. Journal of Essential Oil Research, 3: 121-123.
 - Sahin, F., Gulluce, M., Dafereera, D., Sakman, A., Sokman, M., Polissiou, M., Agar, G. and Ozer, H., 2004. Biological activities of the essential oils and

Archive of SID

Essential oil composition of *Origanum strobilaceum* Mobayen & Ghahreman

S. Shahverdi^{*1}, F. Sefidkon², Z. Jamzad² and T. Nejhadsattari³

1*- Corresponding author, MSc. Student, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran

E-mail: shahverdi185@yahoo.com

2- Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, Iran

3- Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran

Received: October 2010

Revised: January 2011

Accepted: January 2011

Abstract

Origanum strobilaceum Mobayen & Ghahreman belongs to Lamiaceae. Thirty eight species of the genus were known so far which are categorized in 9 sections. The species is aromatic and its essential oil compositions are valuable. In this research, for the first time, the essential oil content and composition of *O. strobilaceum* was studied. The aerial parts of the plant were collected from janat rodbar in Mazandaran Province road at full flowering stage. After drying the plant materials, the essential oil was obtained by hydro-distillation method. Identification of essential oil constituents was done by using GC and GC/MS. The results showed 29 constituents in this oil that presented 97.3% of total oil. The main components of the oil were P-cymen (25%), E-caryophyllen (14.4%), thymol (9.6%), carvacrol (5.3%) and cumin aldehyde (5.1%). This oil had some similarities and differences with *O. vulgare* oil with high content of phenols, thymol and carvacrol as well as germacrene D and caryophyllene.

Key words: *Origanum strobilaceum* Mobayen & Ghahreman, essential oil, p-cymene, E-caryophyllen, thymol.