فصلنامهٔ علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران
جلد ۲۹، شمارهٔ ۳، صفحهٔ ۶۲۰-۶۱۱ (۱۳۹۲)

استخراج و شناسایی ترکیب‌های شیمیایی موجود در اسانس زیرگونه‌های مختلف گیاه *Ziziphora clinopodioides* Lam. در رویشگاه‌های مختلف در ایران

الهام مدیری[1*]، فاطمه سفیدکن[2]، زیبا جمزاد[2] و اختر توسلی[3]

۱*- نویسنده مسئول، دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه الزهرا، تهران
پست الکترونیک: e_modiri@yahoo.com
۲- استاد، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور
۳- استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه الزهرا، تهران

تاریخ دریافت: ۷ شهریور ۱۳۹۰ تاریخ اصلاح نهایی: دی ۱۳۹۰ تاریخ پذیرش: دی ۱۳۹۰

چکیده

جنس *Ziziphora* متعلق به خانواده نعنا، شامل ٤ گونه (*Z. persica* Bunge.، *Z. capitata* L.، *Z. tenuior* L. و *Z. clinopodioides* Lam.)، پراکندگی وسیعی در ایران دارد. گونه *Z. clinopodioides* L. با نام فارسی کاکوتی کوهی منبع غنی از روغن اسانسی است. در این تحقیق بخش‌های هوایی پنج زیرگونه از گونه *Z. clinopodioides* Lam. از نقاط مختلف جمع‌آوری گردیدند. پس از خشک کردن گیاه، اسانس‌گیری از آن با روش تقطیر با آب صورت گرفت. جداسازی و شناسایی ترکیب‌های موجود در اسانس توسط کروماتوگرافی گازی (GC) و کروماتوگراف گازی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC/MS) انجام شد. از نظر کمّی و کیفی اسانس زیرگونه‌های مختلف، با یکدیگر متفاوت هستند. در اسانس زیرگونه *rigida* جمع‌آوری شده از ارومیه و فارس ۱۵ و ۱۹ ترکیب شناسایی شد؛ ترکیب شاخص در هر دو پولگون به‌ترتیب با ٤٦/٨٪ و ٣٦/١٪ بود. در اسانس زیرگونه‌های *filicaulis* از ارسباران، *bungeana* از تبریز و *ronnigeri* از ارومیه به‌ترتیب ۱۵، ۱۸ و ۱۹ ترکیب شناسایی شد که پولگون، به‌ترتیب با ٤٦٪، ٢٣٪ و ٥٢٪ ترکیب شاخص بود. در اسانس زیرگونه *pseudodasyantha* جمع‌آوری شده از قزوین نرسیده به زشک و قزوین به‌ترتیب ١٤ و ١٦ ترکیب شناسایی شد. در گیاه اول پولگون (٤٩/٨٪) و در گیاه دوم لیمونن (٢٩٪) ترکیب‌های شاخص هستند. در اسانس زیرگونه مذکور از دو منطقه گرمابدره و شهرستانک به‌ترتیب ۱۸ و ١٦ ترکیب شناسایی شد. ترکیب‌های شاخص گاما-ترپینن (١٦/١٪) در زیرگونه مربوط به گرمابدره و ۸،۱-سینئول (٣٢/٤٪) در زیرگونه مربوط به شهرستانک می‌باشند.

واژه‌های کلیدی: *Ziziphora clinopodioides* Lam.، روغن‌های اسانسی، پولگون، ۸،۱-سینئول.

مقدمه

استفاده از ادویه‌ها، چاشنی‌ها، افزودنی‌ها و دیگر مواد معطر سابقه طولانی در تاریخ زندگی بشر دارد. تحقیقات باستان‌شناسان نشان می‌دهد که انسانهای ماقبل تاریخ از برگ برخی گیاهان برای طعم دادن به غذاهای خود استفاده می‌کردند. مصرف و تولید ادویه‌ها و چاشنی‌ها در

Archive of SID

www.SID.ir

تمدن هند، چین، مصر، یونان، بابل و رم باستان معمول بوده‌است. استفاده از گیاهان دارویی نیز برای درمان بیماریها به بیش از ۲۰۰۰ سال پیش برمی‌گردد (Beikmohammadi, 2011).

Ziziphora با نام عامیانه کاکوتی، یکی از جنس‌های خانواده Lamiaceae، زیرخانواده Nepetoideae و طایفه Mentheae می‌باشد که شامل گیاهانی یکساله و چندساله است. این جنس دارای ٤٠ گونه در مدیترانه، منطقه ایران و توران و به‌ویژه مرکز آسیاست و ٤ گونه در ایران دارد (Rechinger, 1982). گونه *Ziziphora clinopodioides* Lam. از اعضای جنس مذکور دارای ۹ زیرگونه است که گسترش فراوانی در منطقه وسیعی از نواحی مختلف ایران، ارتفاعات البرز، نواحی غربی، جنوبی و شرق ایران دارد (زرگری، ١٣٦٩).

گیاه دارویی *Z. clinopodioides* در ایران به‌عنوان داروی مسکن برای دردهای شکم و معده و به‌عنوان ضدنفخ استفاده می‌شود. دانه‌های این گیاه تب‌بر است. در بلوچستان از جوشانده گیاه خشک شده برای رفع تب در بیماری تیفوس استفاده می‌کردند، به‌علاوه اینکه خیسانده گیاه در آب برای رفع ناراحتی‌های قلبی در صبح ناشتا بکار رفته‌است (زرگری، ١٣٦٩). به‌دلیل خواص متعدد دارویی اسانس گیاه *Ziziphora* نیز از نظر ترکیب‌های تشکیل‌دهنده و همچنین اثر ضدمیکروبی مورد مطالعه قرار گرفته‌است. تاکنون گزارش‌هایی در زمینه ترکیب شیمیایی اسانس گونه‌های *Ziziphora* ارائه شده‌است، ازجمله آنها می‌توان به موارد زیر اشاره کرد:

اسانس اندام‌های هوایی گونه *Z. persica* Bunge جمع‌آوری شده از خراسان، به روش تقطیر با آب استخراج و اجزاء تشکیل‌دهنده آن توسط GC/MS بررسی گردیده‌است. ٢٢ ترکیب که در کل ۹۸٪ از کل اسانس را شامل می‌شود جداسازی و شناسایی شده‌است. در این میان پولگون (٧٦/١٤٪) بیشترین ترکیب تشکیل‌دهنده اسانس گزارش شده‌است (Nezhadali & Zarrabi Shirvan, 2010).

Gozde و همکاران (٢٠٠٦) ترکیب شیمیایی اسانس موجود در *Z. taurica* subsp. *cleoniodies* بومی ترکیه را از نظر فعالیت ضدمیکروبی بررسی کردند. آنها گزارش کردند که اسانس گونه مذکور به‌طور قابل‌ملاحظه‌ای از رشد میکروارگانیسم‌های آزمایش شده که ٨ نژاد باکتری و قارچ *Candida albicans* می‌باشد، جلوگیری می‌کند. همچنین پولگون بالاترین مقدار را در این اسانس دارد که دارای اثر ضدمیکروبی و ضدقارچی است.

ترکیب‌های شیمیایی اسانس موجود در گونه *Z. teniuor* L. جمع‌آوری شده از ٣ منطقه در ایران، قزوین، مشهد و کرمان توسط GC و GC/MS شناسایی شده‌است. ترکیب اصلی موجود در اسانس این گونه در ٣ منطقه، پولگون است که به‌ترتیب به میزان ٨٧/٨٠٪، ٥٣/٢٥٪ و ٥٨/١٠٪ در اسانس این گیاه گزارش شده‌است (Javidnia *et al*., 1996).

در یک گزارش از اسانس گونه *Z. capitata* L.، ١٩ ترکیب که ۹۸/٨٪ کل ترکیب‌های شناسایی شده اسانس را به خود اختصاص دادند، بالاترین مقدار مربوط به جرماکرن D (٣١/١٪) می‌باشد که در اسانس این گونه خواص آنتی‌باکتریایی نیز مشاهده شده‌است. در اسانس *Z. capitata* L.، ٦ هیدروکربن منوترپن (٣٥/١٪)، ۹ هیدروکربن سسکوئی‌ترپن (٤٩/٤٪)، ٣ سسکوئی‌ترپن اکسیژنه (٨/٤٪) و یک آلفاتیک‌اسید (٥/٩٪) شناسایی شده‌است (Aghajani *et al*., 2008).

Archive of SID

www.SID.ir

شناسایی ترکیب‌های شیمیایی و فعالیت ضدمیکروبی *Z. clinopodioides* توسط محققان مختلف مورد بررسی قرار گرفته‌است. Ozturk و Ercisli (۲۰۰۶) در مطالعه اسانس *Z. clinopodioides* در ترکیه، ۱۸ ترکیب را توسط GC شناسایی کردند. در این مطالعه بالاترین مقدار مربوط به پولگون (۳۱/۸۶٪) گزارش شده و فعالیت ضدمیکروبی بر روی باکتری گرم مثبت و منفی بررسی شده‌است.

Verdian-Rizi (۲۰۰۸) اجزای تشکیل‌دهنده اسانس *Z. clinopodioides* را توسط GC و GC/MS مورد مطالعه قرار داد. ۲۶ ترکیب شناسایی شده در کل ۹۷/۶۲٪ از ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس را شامل می‌شود. بالاترین درصد ترکیب پولگون ۳۶/۴۵٪ می‌باشد. اسانس همچنین بر روی لاروهای *Anopheles stephensi* و *Culex pipiens* آزمایش و مشخص گردیده که اسانس *Z. clinopodioides* می‌تواند به‌عنوان یک لاروکش طبیعی استفاده شود.

در بررسی اسانس زیرگونه *rigida* از گونه *Z. clinopodioides*، توسط GC و GC/MS، ۳۱ ترکیب که (۹۹/۵٪) از کل ترکیب‌های موجود است، شناسایی شده‌است. پولگون (۴۵/۸٪) جزء اصلی اسانس این زیرگونه را تشکیل داده‌است؛ همچنین فعالیت آنتی‌باکتریایی آن نیز بر روی باکتریهای گرم مثبت و منفی مشاهده شده‌است (Salehi *et al.*, 2005). در بررسی ترکیب‌های شیمیایی موجود در اسانس *Z. clinopodioides* subsp. *bungeana*، ۳۲ ترکیب که در کل ۹۷/۱٪ از کل اسانس را تشکیل می‌دهند، شناسایی شدند که در این میان پولگون با ۶۵/۲٪ بیشترین ترکیب تشکیل‌دهنده اسانس گزارش شده‌است؛ همچنین فعالیت ضدمیکروبی این اسانس نیز بر روی ۷ نژاد باکتری بررسی گردیده‌است (Sonboli *et al.*, 2006). در نهایت معلوم شد که اسانس *Z. clinopodioides* دارای فعالیت ضدباکتریایی بر روی باکتری گرم مثبت و منفی به‌ویژه *Salmunella typhimurium* است (چیت‌ساز و همکاران، ۱۳۸۶).

Dehghan و همکاران (۲۰۱۰) تأثیر برخی از شرایط رویشگاهی روی کمّیت و کیفیت اسانس *Z. clinopodioides* زیرگونه *rigida* را در استان همدان مورد بررسی قرار دادند. بازده اسانس بین ۳۷٪ تا ۱٪ در رویشگاه‌های مختلف متفاوت بود، همچنین میزان پولگون و ۸،۱-سینئول به‌عنوان اجزای اصلی اسانس در رویشگاه‌های مختلف تفاوت داشت.

با توجه به ارزش دارویی گونه *Z. clinopodioides* و تفاوت‌ها و شباهت‌هایی که از نظر مورفولوژیک در زیرگونه‌های این گونه مشاهده می‌شود، به نظر می‌رسد که این تفاوت می‌تواند در ترکیب شیمیایی اسانس و تأثیر رویشگاه بر آن نیز دیده شود. در این مطالعه اسانس ۵ زیرگونه از *Z. clinopodioides* توسط کروماتوگرافی گازی (GC) و کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC/MS) مورد بررسی قرار گرفته‌است.

مواد و روشها

اندام‌های هوایی زیرگونه‌های مختلف گیاه *Z. clinopodioides* Lam. طی ماه‌های خرداد تا شهریور ۱۳۸۸ از رویشگاه‌های طبیعی شهرهای تهران (گرمابدره و شهرستانک)، قزوین، فارس، آذربایجان شرقی (ارسباران) و آذربایجان‌غربی جمع‌آوری و خشک شد. گیاهان مذکور در هرباریوم مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور شناسایی شد (جدول ۱). نمونه‌های خشک شده گیاه

Archive of SID

www.SID.ir

به‌صورت پودر درآمده و به کمک دستگاه کلونجر (Clevenger) و به روش تقطیر با آب به مدت ۳ ساعت مورد اسانس‌گیری قرار گرفتند (۸۰ تا ۹۵ گرم از هر گیاه) و بعد اسانس‌های بدست‌آمده در ظرف کوچک و در بسته تا زمان آزمایش در یخچال نگهداری شد. برای تجزیه اسانس‌ها از دستگاه‌های زیر استفاده شد.

مشخصات کروماتوگراف گازی (GC)

آنالیز GC با استفاده از دستگاه کروماتوگراف گازی مدل Thermo-UFM انجام شد. هلیم به‌عنوان گاز حامل با سرعت ۰/۵ میلی‌لیتر بر دقیقه بود. ستون مورد استفاده Ph-5 به طول ۱۰ متر، ضخامت داخلی ۰/۱ میلی‌متر و ضخامت فاز ساکن ۰/٤ میکرومتر بود. دمای ستون از ٦۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ دقیقه نگهداری شد و تا ۲۸۵ درجه سانتی‌گراد افزایش یافت و برای ۵/۸ دقیقه در ۲۸۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. دتکتور از نوع FID (آشکارساز یونیزاسیون شعله‌ای) با دمای ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد بود.

مشخصات دستگاه کروماتوگراف گازی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC/MS)

با استفاده از دستگاه Varian 3400 آنالیز با ستون DB-5 انجام شد. گاز حامل هلیم و دتکتور Ion Trap می‌باشد. سرعت جریان گاز حامل ۵۰ml/min و انرژی یونیزاسیون در طیف‌سنج جرمی معادل ۷۰ الکترون ولت بود. دمای ستون از ٤۰ درجه سانتی‌گراد تا ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ٤ درجه در دقیقه افزایش یافت. دمای اتاق تزریق ۲۳۰ درجه سانتی‌گراد بود. شناسایی مواد تشکیل‌دهنده اسانس به‌وسیله مقایسه طیف‌سنجی جرمی و اندیس بازداری کوارتز با آنچه در منابع وجود دارد انجام گردید (Adams, 2001).

جدول ۱- لیست نمونه‌های جمع‌آوری شده و شماره هرباریومی آنها

کد	نام زیرگونه	محل جمع‌آوری	شماره هرباریومی
Z1	*Z. clinopodioides* subsp. *rigida*	آذربایجان غربی، نقده، ایرانشهر، کیلومتر۵ سه‌راهی گلوان قرقی- وارناسا	۹۵۷٤۵ (TARI)
Z2	*Z. clinopodioides* subsp. *rigida*	فارس- اقلید	۹۵۷٤٦ (TARI)
Z3	*Z. clinopodioides* subsp. *filicaulis*	منطقه ارسباران، سه‌راهی اق‌داش به توپخانه	۹٦۱۳٦ (TARI)
Z4	*Z. clinopodioides* subsp. *bungeana*	آذربایجان شرقی، مرند، کوه میشو	۹۵۷٤۸ (TARI)
Z5	*Z. clinopodioides* subsp. *ronnigeri*	آذربایجان غربی، ارومیه، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی	۹۵۷٤٤ (TARI)
Z6	*Z. clinopodioides* subsp. *pseudodasyantha*	قزوین نرسیده به زشک	۹٦۱۳۵ (TARI)
Z7	*Z. clinopodioides* subsp. *pseudodasyantha*	قزوین	۹٦۱۳۷(TARI)
Z8	*Z. clinopodioides* subsp. *pseudodasyantha*	گرمابدره	۹٦۱۳۳ (TARI)
Z9	*Z. clinopodioides* subsp. *pseudodasyantha*	شهرستانک جاده چالوس	۹٦۱۳٤ (TARI)

Archive of SID

www.SID.ir

نتایج

نتایج مربوط به ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس ۵ زیرگونه از *Z. clinopodioides* Lam. در جدول ۲ آورده شده‌است. میانگین بازده اسانس براساس وزن خشک، درصد و تعداد ترکیب‌های شناسایی شده موجود در اسانس نیز در جدول ۳ آورده شده‌است.

براساس داده‌های جدول ۳ به‌طور میانگین ۹٤/۵٪ از ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس‌ها شناسایی شده‌است. در اسانس مربوط به زیرگونه *rigida* از منطقه ارومیه (Z1)، ۱۵ ترکیب که ۹۷/۲٪ از کل اسانس است شناسایی شده، پولگون (٤٦/۸٪) بیشترین ترکیب و بعد از آن به‌ترتیب پارا- منت-۳-ان-۸-اول (۱٤٪)، پیپریتنون (۹/۵٪) و ۸،۱-سینئول (۵/۵٪) می‌باشد که در کل ۷۵/۸٪ از حجم کل اسانس را تشکیل می‌دهند. در زیرگونه *rigida* جمع‌آوری شده از فارس (Z2)، ۱۹ ترکیب که ۹٦/۷٪ از کل اسانس را تشکیل می‌دهند شناسایی شده؛ پولگون با ۳٦/۱٪ بالاترین درصد ترکیب، ۸،۱-سینئول (۱٤/۳٪)، پارا- منت-۳-ان-۸-اول (۱۳/٤٪)، لیمونن (٦/۹٪) و پیپریتنون (٦/۷٪) اجزاء اصلی اسانس می‌باشند که در کل ۷۷/٤٪ از حجم اسانس را به خود اختصاص می‌دهند. در زیرگونه *filicaulis* جمع‌آوری شده از ارسباران (Z3)، ۱۵ ترکیب که ۹٦/۵٪ از کل اسانس را شامل می‌شود شناسایی شده؛ پولگون (٤٦٪)، نئومنتون (۱۳/۱٪)، ۸،۱-سینئول (۹/۵٪) و پارا-منت-۳-ان-۸-اول (۷/٤٪)، در کل ۷٦٪، اجزاء اصلی اسانس محسوب می‌شوند.

در زیرگونه *bungeana* جمع‌آوری شده از تبریز (Z4)، ۱۸ ترکیب که ۸٤/۱٪ از کل ترکیب‌ها می‌باشند شناسایی شده‌اند؛ پولگون (۲۳٪)، پارا- منت-۳-ان-۸-اول (۱۹٪) و ۸،۱-سینئول (۱۲٪)، در کل ٥٤٪ از حجم کل اسانس را تشکیل می‌دهند. در زیرگونه *ronnigeri* جمع‌آوری شده از ارومیه (Z5)، ۱۹ ترکیب که ۹۹/۷٪ از کل اسانس می‌باشد شناسایی شده؛ پولگون (۵۲٪) و پارا- منت-۳-ان-۸-اول (۲٤/۳٪)، ۷٦/۳٪ از حجم کلی اسانس را تشکیل می‌دهند.

در زیرگونه *pseudodasyantha* جمع‌آوری شده از قزوین (Z6)؛ تعداد ۱٤ ترکیب که ۹۵٪ از کل اسانس می‌باشد، شناسایی شد. پولگون (٤۹/۸٪)، پیپریتنون (۱٦/۸٪) و ایزومنتون (۷/۳٪)، ۷۳/۹٪ از حجم کل اسانس را تشکیل می‌دهند. در زیرگونه *pseudodasyantha* جمع‌آوری شده از قزوین (Z7)، تعداد ۱٦ ترکیب که ۸۹/۳۳٪ از کل اسانس می‌باشد، شناسایی شد. لیمونن (۲۹٪)، نئومنتون (۲٦٪)، ۸،۱-سینئول (۱۰/۸٪) و جرماکرن D (٦٪)، در مجموع ۷۱/۸٪ از حجم کل اسانس را تشکیل می‌دهند. در زیرگونه *pseudodasyantha* جمع‌آوری شده از گرمابدره (Z8)، تعداد ۱۸ ترکیب که ۹۳/۷٪ از کل اسانس می‌باشد، شناسایی شد. گاما- ترپینن (۱٦/۱٪)، ۸،۱-سینئول (۱۵/۸٪)، آلفا-ترپینئول (۱٤/۸٪) و پارا-منت-۳-ان-۸-اول (۱۱/۳٪)، در کل ۵۸٪ از حجم کل اسانس را تشکیل می‌دهند. در زیرگونه *pseudodasyantha* جمع‌آوری شده از شهرستانک (Z9)، ۱٦ ترکیب که ۹۸/۳٪ از کل اسانس می‌باشد، شناسایی شد. ۸،۱-سینئول(۳۲/٤٪)، پولگون (۲۵٪) و پارا- منت-۳-ان-۸-اول (۱۸/۹٪) در مجموع ۷٦/۳٪ از حجم کل اسانس را تشکیل می‌دهند.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۲- ترکیب‌های شیمیایی اسانس گیاه *Ziziphora clinopodioides* Lam. از مناطق مختلف ایران

ردیف	ترکیب	شاخص بازداری	Z1 (٪)	Z2 (٪)	Z3 (٪)	Z4 (٪)	Z5 (٪)	Z6 (٪)	Z7 (٪)	Z8 (٪)	Z9 (٪)
	monoterpene hydrocarbons										
١	α-thujene	٩٢٦	١/٥	١/٢	٠/٥	١/٥	٠/٦	١/٥	١	٠/٨	١
٢	alpha-Pinene	٩٣٥	٠/٥	٠/٦	–	٠/٥	–	–	٠/٥	٠/٨	٠/٤
٣	camphene	٩٥٠	٠/٦	١/٣	٠/٧	١/٤	٠/٥	٠/٤	٤/٩	٢/٢	١/٦
٤	Sabinene	٩٧١	٢/٦	٢/٧	١/٨	٣/٣	١/٦	٢/٩	١/٦	–	٢/٧
٥	*p*-cymene	١٠٢٤	–	–	–	–	–	–	–	٤/١	٠/٤
٦	limonene	١٠٢٧	٠/٤	٦/٩	–	٣/٨	٠/٣	٠/٦	٢٩	٢/٩	١
٧	1,8-cineol	١٠٣١	٥/٥	١٤/٣	٩/٥	١٢	٤/١	٣/٥	١٠/٨	١٥/٨	٣٢/٤
٨	(E)-β-ocimene	١٠٤٨	–	٠/٤	–	١/٤	–	–	–	٠/٧	–
٩	γ-terpinene	١٠٦٠	٠/٧	١/٥	٠/٤	١/١	١/٢	–	٠/٩	١٦/١	٢/٢
	Oxygenated monoterpenes										
١٠	p-menth-3-en-8-ol	١١٤٦	١٤	١٣/٤	٧/٤	١٩	٢٤/٣	٥/٧	–	١١/٣	١٨/٩
١١	isomenthone	١١٦٠	٢/٣	٤/٥	٣/٩	٠/٩	٤/٦	٧/٣	٠/٩	٨/٥	٣/١
١٢	neomenthone	١١٦٣	٠/٧	١/٢	١٣/١	٠/٨	–	٠/٨	٢٦	٢/٩	٥/٥
١٣	p-menth-1,5-dien-8-ol	١١٦٨	–	–	–	–	–	–	–	–	٢
١٤	alpha-terpineol	١١٨٥	٥/٧	١/٤	٣/٥	–	٢/١	–	٠/٦	١٤/٨	–
١٥	trans-piperitol	١٢٠٨	٠/٤	٠/٥	–	–	–	–	–	–	–
١٦	pulegone	١٢٣٣	٤٦/٨	٣٦/١	٤٦	٢٣	٥٢	٤٩/٨	١/٧	٣/٦	٢٥
١٧	piperitone	١٢٤٩	٤	١/٥	٣/١	١	٠/٩	٤	–	١/٩	–
١٨	bornylacetate	١٢٨٥	٢/٤	١/٦	٠/٩	٣/٦	٠/١	٠/٧	٢/٦	٤/٩	١
١٩	piperitenone	١٣٣٩	٩/٥	٦/٧	٣/١	١/٧	٢/٧	١٦/٨	٠/٤٣	٠/٥	٠/٦
	Sesquiterpenes										
٢٠	β-bourbonene	١٣٨٤	٠/٥	٠/٣	٠/٦	٣/٢	٠/٣	٠/٣	٠/٤	٠/٨	٠/٥
٢١	E-caryophyllene	١٤١٥	٠/٢	–	–	–	–	–	–	–	–
٢٢	germacrene D	١٤٨١	١/٤	٠/٦	٢	٥/٢	١/٩	–	٦	١/١	–
٢٣	spathulenol	١٥٧٦	–	–	–	٠/٧	–	٠/٧	١/٧	–	–
٢٤	caryophyllen oxide	١٥٨١	–	–	–	–	–	–	٢	–	–

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۳- لیست درصد اسانس، تعداد و درصد ترکیب‌های موجود در زیرگونه‌های *Ziziphora clinopodioides* Lam.

کد	نام زیرگونه	محل جمع‌آوری	بازده اسانس (٪)	درصد ترکیب‌های شناسایی شده	تعداد ترکیب‌های شناسایی شده
Z1	*Z. clinopodioides* subsp. *rigida*	ارومیه	۱/۲	۹۷/۲	۱۵
Z2	*Z. clinopodioides* subsp. *rigida*	فارس	۱/٤٤	۹٦/۷	۱۹
Z3	*Z. clinopodioides* subsp. *filicaulis*	ارسباران	۰/۸٤	۹٦/۵	۱۵
Z4	*Z. clinopodioides* subsp. *bungeana*	تبریز	۰/٦۳	۸٤/۱	۱۸
Z5	*Z. clinopodioides* subsp. ronnigeri	ارومیه	۰/٤٤	۹۹/۷	۱۹
Z6	*Z. clinopodioides* subsp. *pseudodasyantha*	قزوین	۰/٦٦	۹۵	۱٤
Z7	*Z. clinopodioides* subsp. *pseudodasyantha*	قزوین	۰/۱۸	۸۹/۳۳	۱٦
Z8	*Z. clinopodioides* subsp. pseudodasyantha	گرمابدره	۰/۱۳	۹۳/۷	۱۸
Z9	*Z. clinopodioides* subsp. *pseudodasyantha*	شهرستانک	۰/۲۵	۹۸/۳	۱٦

بحث

در زیرگونه‌های *pseudodasyantha* که از سه شهر مختلف جمع‌آوری شده‌است تفاوت‌هایی در اسانس آنها از نظر کمّی و کیفی دیده می‌شود، در زیرگونه‌های *pseudodasyantha* جمع‌آوری شده از شهر قزوین (Z7)، پولگون کمترین میزان را دارد. درصورتی‌که در زیرگونه قزوین (Z6) پولگون (٤۹/۸٪) درصد عمده‌ای را تشکیل می‌دهد. در نمونه جمع‌آوری شده از منطقه حفاظت‌شده گرمابدره (Z8)، پولگون به میزان (۳/٦٪) می‌باشد که در مقایسه با سایر نمونه‌ها مقدار کمی است.

در نمونه *pseudodasyantha* متعلق به گرمابدره (Z8)، پولگون درصد بسیار کمی دارد و گاما-ترپینن (۱٦/۱٪)، ۸،۱-سینئول (۱۵/۸٪) و آلفا-ترپینول (۱٤/۸٪) بیشترین ترکیب تشکیل‌دهنده می‌باشند. در *pseudodasyantha* شهرستانک (Z9)، ۸،۱-سینئول (۳۲/٤٪) بیشترین ترکیب تشکیل‌دهنده اسانس و بعد از آن پولگون (۲۵٪) است. این زیرگونه که از رویشگاه‌های مختلف جمع‌آوری شده تفاوت‌هایی در ترکیب‌های عمده اسانس نشان می‌دهد، و تنها در نمونه با کد (Z6) پولگون بالاترین مقدار را نسبت به سایر ترکیب‌ها دارد. در زیرگونه *rigida* نتایج بدست‌آمده با نتایج مطالعه Salehi و همکاران (۲۰۰۵) تا حدودی مشابه است، در این مطالعه عمده‌ترین ترکیب‌های بدست‌آمده از اسانس زیرگونه *rigida* جمع‌آوری شده از تبریز پولگون (٤۵/۸٪)، پیپریتنون (۱۷/٤٪)، پارا-منت-۳-ان-۸-اول (۱۲/۵٪) و تیمول (۸/۰٪) گزارش گردیده است. ۳ ترکیب اصلی در این زیرگونه مشابه است، اما تیمول در مطالعه حاضر مشاهده نشده‌است. در زیرگونه *bungeana* نتایج مطالعه حاضر با نتایج بدست‌آمده توسط Sonboli و همکاران (۲۰۰٦) بر روی اسانس زیرگونه *bungeana* تا حدودی متفاوت است؛ ترکیب‌های عمده در مطالعه آنها پولگون (٦۵/۲٪)، ایزومنتون (۱۱/۹٪)، ۸،۱-سینئول (۷/۸٪) و پیپریتنون (٦/۵٪) گزارش شده‌است، در صورتی‌که در این مطالعه ایزومنتون (۰/۹٪) و پیپریتنون (۱/۷٪) می‌باشد. در دو زیرگونه *ronnigeri* و *filicaulis* نیز عمده‌ترین ترکیب پولگون می‌باشد.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ٤- تغییرات کمّی و کیفی اسانس گیاه *Z. clinopodioides* Lam. در مناطق مختلف ایران

زیرگونه	اجزای اصلی اسانس
subsp. *rigida* (Z1)	پولگون (٤٦/٨٪)، پارا-منت-٣-ان-٨-اول (١٤٪)، پیپریتنون (٩/٥٪)
subsp. *rigida* (Z2)	پولگون (٣٦/١٪)، ٨،١-سینئول (١٤/٣٪)، پارا-منت-٣-ان-٨-او (١٣/٤٪)، پیپریتنون (٦/٧٪)
subsp. *filicaulis* (Z3)	پولگون (٤٦٪)، نئومنتون (١٣/١٪)، ٨،١-سینئول (٩/٥٪)
subsp. *bungeana* (Z4)	پولگون (٢٣٪)، پارا-منت-٣-ان-٨-اول (١٩٪)، ٨،١-سینئول (١٢٪)
subsp. *runnigeri* (Z5)	پولگون (٥٢٪)، پارا-منت-٣-ان-٨-اول (٢٤/٣٪)
subsp. *pseudodasyantha* (Z6)	پولگون (٤٩/٨٪)، پیپریتنون (١٦/٨٪)، ایزومنتون (٧/٣٪)
subsp. *pseudodasyantha* (Z7)	لیمونن (٢٩٪)، نئومنتون (٢٦٪)، ٨،١-سینئول (١٠/٨٪)، جرماکرن D (٦٪)
subsp. *pseudodasyantha* (Z8)	گاما-ترپینن (١٦/١٪)، ٨،١-سینئول (١٥/٨٪)، آلفا-ترپینئول (١٤/٨٪)، پارا-منت-٣-ان-٨-اول (١١/٣٪)
subsp. *pseudodasyantha* (Z9)	٨،١-سینئول (٣٢/٤٪)، پولگون (٢٥٪)، پارا-منت-٣-ان-٨-اول (١٨/٩٪)

در کل می‌توان گفت در شش نمونه از ۹ نمونه مورد مطالعه از زیرگونه‌های گونه *Ziziphora clinopodioides* مانند گونه‌های *Z. persica* و *Z. teniuor* براساس مطالعات انجام شده (Nezhadali & Zarrabi Shirvan, 2010؛ Javidnia *et al.*, 1996)، پولگون بیشترین ترکیب تشکیل‌دهنده می‌باشد. ازاین‌رو این نتایج با نتایج Salehi و همکاران (۲۰۰۵)، Sonboli و همکاران (۲۰۰٦) و سایر مطالعات قبلی که بر روی دیگر گونه‌های *Ziziphora* انجام شده و نشان داده که اسانس آنها دارای مقادیر قابل‌توجهی پولگون است، مطابقت دارد. پولگون یک منوترپن اکسیژن‌دار حلقوی با چگالی ۰/۹۳ و بوی مطبوع می‌باشد. در مقایسه با سایر گونه‌های *Ziziphora* مقدار پولگون در اسانس *Z. clinopodioides* کمتر می‌باشد. به‌طوری که مقدار این ترکیب در *Z. persica*، ۷۹/۳۳٪ و ۷۸/۱٤٪ و در گونه *Z. teniuor* مقدار این ترکیب ۸۷/۸۰٪ گزارش شده‌است (Ozturk & Ercisli, 2006؛ Nezhadali & Zarrabi Shirvan, 2010؛ Javidnia *et al.*, 1996).

دامنه تغییرات پولگون در این مطالعه به‌عنوان اصلی‌ترین ترکیب از ۵۲٪ در نمونه متعلق به ارومیه (Z5) تا ۱/۷٪ در نمونه متعلق به قزوین (Z7) می‌باشد. پارا-منت-۳-ان-۸-اول به‌عنوان دومین ترکیب عمده از ۲٤/۳ در نمونه متعلق به ارومیه (Z5) تا - در نمونه متعلق به قزوین (Z7) تغییر می‌کند. دامنه تغییرات ۸،۱-سینئول به‌عنوان سومین ترکیب اصلی از ۳۲/٤٪ در نمونه متعلق به شهرستانک (Z9) تا ۳/۵٪ در نمونه متعلق به قزوین (Z6) می‌باشد.

با توجه به اثر ضدباکتریایی در اسانس این گونه، به نظر می‌رسد این خاصیت براساس تحقیقات مهرابیان و همکاران (۱۳۷۵) و مهربان سنگ‌آتش و همکاران (۱۳۸٦)، به‌دلیل وجود پولگون باشد. ازاین‌رو براساس میزان پولگون در اسانس نمونه‌های مورد مطالعه، زیرگونه‌های (Z5) *ronnigeri*، *pseudodasyantha* (Z6)، *rigida* (Z1) و (Z3) *filicaulis* به‌ترتیب با (۵۲٪)، (٤۹/۸٪)، (٤٦/۸٪) و (٤٦٪) پولگون با کیفیت‌ترین و اسانس زیرگونه‌های (Z7) *pseudodasyantha* و (Z8) *pseudodasyantha* با ۱/۷٪ و ۳/٦٪ پولگون بی‌کیفیت‌ترین اسانس می‌باشند.

همانطور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود، بین بازده اسانس (از ۱/٤٤٪ مربوط به فارس تا ۰/۱۳٪ مربوط به گرمابدره) تفاوت معنی‌داری وجود دارد. یک تفاوت دیگر

Archive of SID

www.SID.ir

در ترکیب اسانس در نمونه مربوط به قزوین (Z7) است، در این نمونه لیمونن (۲۹٪) درصد نسبتاً بالایی نسبت به سایر نمونه‌ها دارد و در نمونه ارسباران مقدار بسیار ناچیزی دارد. در نمونه مربوط به گرمابدره گاماترپینن درصد نسبتاً بالایی دارد (۱٦/۱٪)، در حالی‌که این ترکیب در سایر نمونه‌ها بسیار کم است و در نمونه قزوین (Z6) بسیار ناچیز است. نئومنتون در نمونه قزوین (Z7)، (۲٦٪) و ارسباران (۱۳/۱٪) درصد نسبتاً بالایی نسبت به سایر گونه‌ها دارد و در نمونه مربوط به ارومیه (Z5) مقدار بسیار ناچیز دارد. پیپریتنون در نمونه قزوین (Z6) با ۱٦/۸٪ و در ارومیه (Z1) با ۹/۵٪ در مقایسه با سایر نمونه‌ها میزان بالایی است. این تفاوت و سایر تفاوت‌های مشاهده شده در جدول ٤ می‌تواند به‌دلیل تأثیر شرایط رویشگاه باشد، زیرا عوامل اکولوژیکی محل رویش گیاه می‌تواند در تغییرات کمّی و کیفی متابولیت‌های ثانویه گیاه نقش عمده‌ای را ایفا نماید.

منابع مورد استفاده

–چیت‌ساز، م.، پرگر، ا.، ناصری، م.، کمالی‌نژاد، م.، بازرگان، م.، منصوری، ص. و انصاری، ف.، ۱۳۸٦. تأثیر اسانس و آثار آنتی‌باکتریال عصاره هیدروالکلی و اسانس گیاه آویش باریک (*Ziziphora clinopodioides* LAM.) بر باکتریهای منتخب. دانشور ۱٤(٦۸): ۲۲–۱۵.

– زرگری، ع.، ۱۳٦۹. گیاهان دارویی (جلد چهارم). انتشارات دانشگاه تهران، ۹٦۹ صفحه.

– مهرابیان، ص.، ملاباشی، ز. و مجد، ا.، ۱۳۷۵. بررسی اثر ضد میکروبی سه گونه از گیاهان تیره نعناع (کاکوتی، مریم‌گلی و نعناع)، بر ۱۵ سویه باکتری بیماری‌زای روده‌ای و عامل مسمومیت غذایی. نشریه علوم، ۸(۱): ۱۱–۱.

– مهربان سنگ آتش، م.، کاراژیان، ر. و بیرقی طوسی، ش.، ۱۳۸٦. مطالعه اثر ضد میکروبی عصاره کاکوتی کوهی بر باکتریهای مولد فساد و بیماری‌زای مواد غذایی. گیاهان دارویی، ٦(۲۳): ۵۱–٤٦.

- Adams, R.P., 2001. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry. Illinois: Allured Publishing Corporation, 804p.
- Aghajani, Z., Assadian, F., Masoudi, S., Chalabian, F., Esmaeili, A., Tabatabaei-Anaraki, M. and Rustaiyan, A., 2008. Chemical composition and in vitro antibacterial activities of the oil of *Ziziphora clinopodioides* and *Z. capitata* subsp. *Capitata* from Iran. Chemistry of Natural Compounds, 44(3): 309-310.
- Beikmohammadi, M., 2011. The evaluation of medicinal properties of *Ziziphora clinopodioides*. World Applied Sciences Journal, 12(9): 1635-1638.
- Gozde, E., Yavaşoğlu, N., Ülkü, K. and Öztürk B., 2006. Antimicrobial activity of endemic *Ziziphora taurica* subsp. *cleonioides* (Boiss.) essential oil. Acta Pharmaceutica Sciencia, 48: 55-62.
- Dehghan, Z., Sefidkon, F., Bakhshi Khaniki, Gh. and Kalvandi, R., 2010. Effects of some ecological factors on essential oil content and composition of *Ziziphora clinopodioides* Lam. subsp. *rigida* (Boiss.). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 26(1): 49-63.
- Javidnia, K., Tabatabaiee, M. and Shafiee, A., 1996. Composition and antimicrobial activity of essential oil of *Ziziphora teniur*, population Iran. Daru, 6: 55-59.
- Nezhadali, A. and Zarrabi Shirvan, B., 2010. Separation, identification and determination of volatile compounds of *Ziziphora persica* Bunge using HS-SPME/GC-MS. International Journal of Environmental Science and Development, 1(2): 115-118.
- Ozturk, S. and Ercisli, S., 2006. Antibacterial activity and chemical constitutions of *Ziziphora clinopodioides*. Food Control, 18: 535-540.
- Rechinger, K.H., 1982. *Ziziphora*: 480-493. In: Rechinger, K.H., (Ed.). Flora Iranica (Vol. 150). Akademische Druck-und Verlagsanstalt, Graz.
- Salehi, P., Sonboli, A., Eftekhari, F., Nejad-Ebrahimi, S. and Yousefzadi, M., 2005. Essential oil composition, antibacterial and antioxidant activity of the oil and various extracts of *Ziziphora clinopodioides* subsp. *rigida* (BOISS.) Rech. f. from Iran. Biological and Pharmaceutical Bulletin, 28(10): 1892-1896.
- Sonboli, A., Mirjalili, M.H., Hadian, J., Nejad Ebrahimi, S. and Yousef zadi, M., 2006. Antibacterial activity and composition of the essential oil of *Ziziphora clinopodioides* subsp. *bungeana* (Juz.) Rech. f. from Iran. Zeitschrift für Naturforschung C, 61(9-10): 677-680.
- Verdian-Rizi, M.R., 2008. Essential oil composition and biological activity of *Ziziphora clinopodioides* Lam. from Iran. American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture, 2(1): 69-71.

Archive of SID

www.SID.ir

Extraction and identification of essential oil composition of different Subspecies of *Ziziphora Clinopodioides* Lam. from different habitats of Iran

E. Modiri[1*], F. Sefidkon[2], Z. Jamzad[2] and A. Tavasoli [3]

1*- Corresponding author, M.Sc. student, Department of Biology, Faculty of Science, Alzahra University, Tehran, Iran
E-mail: e_modiri@yahoo.com
2- Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, Iran
3- Department of Biology, Faculty of Science, Alzahra University, Tehran, Iran

Received: August 2011 Revised: December 2011 Accepted: January 2012

Abstract

The genus *Ziziphora* (Lamiaceae) consists of four species (*Z. clinopodioides* L., *Z. capitata* L., *Z. persica* Bunge. and *Z. tenuior* L.), wildly distributed in Iran. *Ziziphora clinopodioides* with the common Persian name of "kakuti-e kuhi" is a rich source of essential oils. In this study, aerial parts of five subspecies of *Z. clinopodioides* were collected. After drying the plants, the essential oils were obtained by hydro-distillation. The composition of the essential oils was analyzed and identified by gas chromatography (GC) and gas chromatography/Mass (GC/MS). The essential oils of different subspecies were different qualitatively and quantitatively. In the essential oil of subsp. *Rigida*, collected from Urmia and Fars, 15 and 19 compounds were identified, respectively. In both, the main compound was pulegone (46.8%) and (36.1%), respectively. In the essential oil of subsp. *filicaulis* from Arasbaran, subsp. *bungeana* from Tabriz and subsp. *ronnigeri* from Urmia, 15, 18 and 19 compounds were identified, respectively. The main compound was pulegone (46%), (23%) and (52%), respectively. In the essential oil of subsp. *pseudodasyantha*, collected from Qazvin (before to Zoshk) and Qazvin, 14 and 16 compounds were identified, respectively. Pulegone (49.8%) and Limonene (29%) were identified as the main compounds, respectively. In the essential oil of the mentioned subspecies, collected from Garmabdareh and Shahrestanak, 18 and 16 compounds were identified, respectively. The main compounds were γ-terpinene (16.1%) and 1,8-cineol (32.4%), respectively.

Key words: *Ziziphora clinopodioides* Lam., essential oils, pulegone, 1,8-cineol.

Archive of SID

www.SID.ir