مجله علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی، (JSIAU)
جلد ۱۸ شماره ۷۰ زمستان ۸۷

شناسایی ترکیب های روغن اسانسی گیاه *Stachys lavandulifolia Vahl* و اثرات ضدمیکربی آنها

حمزه امیری*
گروه زیست شناسی، دانشگاه لرستان، لرستان، ایران
عبدالحسین روستائیان
گروه شیمی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
حسین لاری یزدی
گروه زیست شناسی، واحد بروجرد، دانشگاه آزاد اسلامی، بروجرد، ایران
عبدالکریم حقیر چهرگانی
گروه زیست شناسی، دانشگاه بوعلی سینا همدان، همدان، ایران

Archive of SID

چکیده

جنس *Stachys* بیش از ۲۷۰ گونه دارد و یکی از بزرگترین جنس های تیره لابیاته محسوب می شود. اسانس به دست آمده از گیاه *Stachys lavandulifolia* بوسیله دستگاه GC و GC/MS آنالیز گردید. بررسی اثرات ضد میکربی نیز با روش حفر چاهک و اندازگیری قطر هاله بازدارندگی رشد صورت گرفت.

نتایج نشان داد که اصلی ترین ترکیبات تشکیل دهنده اسانس این گیاه از گروه هیدرو کربنهای مونوترپنی است. ۱۴ ترکیب در روغن اسانسی این گیاه شناسایی شد که ۹۰/۹۶٪ از کل اسانس را شامل می شود، در بین ترکیبات شناسایی شده α-Terpinene(20%) , α-Pinene(16.3%) , Myrcene(20.9%) و Bicyclogermacrene (8.7%) ترکیبات اصلی محسوب می شوند. نتایج بررسی اثرات ضد میکربی اسانس گیاه *St. lavandulifolia* نیز نشان دادکه اسانس گیاه مذکور برعلیه باکتریهای گرم مثبت و گرم منفی(*Staphylococcus epidermidis PTCC1349*، *Salemonella typhi PTCC1185* و *E. coli PTCC1330*) دارای اثر ضد میکربی بالایی است(قطر هاله بازدارندگی رشد به ترتیب ۲۹، ۳۱ و ۲۵ میلی متر).

* عهده دار مکاتبات

www.SID.ir

کمترین اثر ضد مکیربی اسانس مورد مطالعه بر علیه *Haemophilus influenzae* و *Bacillus cereus* مشاهده گردید.

واژه های کلیدی: ترکیبات روغن اسانسی, اثرات ضد میکروبی, *Stachys lavandulifolia*, Myrcene α-, Bicyclogermacrene, α-Terpinene ,Pinene

مقدمه

جنس *Stachys* بیش از ۲۷۰ گونه دارد و یکی از بزرگترین جنس های تیره لابیاته محسوب می شود. گونه های این جنس در مناطق مدیترانه ای و جنوب آسیا یافت می شوند, ۳٤ گونه از این جنس در فلور ایران وجوددارد‌که ۱۳ گونه از آنها بومی ایران هستند. گونه چای کوهی یا *Stachys lavandulifolia* گیاهی است از تیره نعناع به ارتفاع حدود ۲۵ سانتی متر با ساقه کرکدار و خزی که به گل آذین پشم گونه و الیافی دراز و خوش بو منتهی می شود. [۱] این گیاه در طب سنتی به عنوان بادشکن, مسکن دردهای احشایی, سردرد, دردهای عصبی, معرق, اشتها آور, تب بر و در موارد اضطراب به عنوان آرام بخش مورد استفاده قرار می گیرد. [۲]

بررسیهای صورت گرفته به وسیله H.D. Skaltsa و همکاران در مورد آنالیز اسانس هشت گونه از گیاهان جنس *Stachys* که در یونان می روید نشان دادکه هیدروکربن های سزکوئی ترپنی بخش اصلی اسانس کلیه گونه های مورد مطالعه را تشکیل می دهند. [۳]

تحقیقات Chalchat وهمکاران مشخص نمود که ترکیبات اسانس حاصل از *Stachys recta* جمع آوری شده از صربستان با اسانس حاصل از این گیاه که از ترکیه جمع آوری شده است مشابه می باشد. [۴] پژوهش های Skaltsa وهمکاران نشان داده است که ترکیبات Abietariene, 13- epi-manoyl oxide با درصد های بالا در اسانس *Stachys candida* مشاهده می شود و از این نظر این گونه مشابه *Stachys menthifolia* است. [۵]

مطالعات روستائیان و همکاران در مورد آنالیز اسانس *St. pilifera* و *St. acerosa* نشان داد که Cis- chrysanthenyl acetate(25.2%) و Trans- verbenol(19.7%) ترکیبات اصلی اسانس گونه اولی و Cis-chrysanthenyl acetate(41%) و Linalool اجزای اصلی اسانس گونه بعدی هستند. [۶] بررسیهای Khanavi و همکاران در مورد شناسایی مواد متشکله اسانس گونه *St.byzanthin* نشان داد که سزکوئی ترپن هایی مثل Spathulenol(16.1%) , α-Copaene(16.5%) و β- Caryophyllene(14.3%) ترکیبات اصلی اسانس را تشکیل می دهند. [۷] مطالعات همین محقق و همکاران نشان داد که Methyllinoleate(27.7%) و Hexadecanoic acid(9.8%) اجزای اصلی اسانس گیاه *St. persica* می باشند. [۷]

به هر حال مطالعات محققین مختلف مثل Stahl-Biskup(۱۹۹۱)، (۱۹۹۲) Kokkini و Sanz وهمکاران (۲۰۰۰) وSkaltsa وهمکاران (۲۰۰۱) نشان داده است که بررسی شیمی ترکیبات اسانس می تواند در تعیین ارتباط تاکسونومیکی بین جنس های مختلف تیره نعناع موثر باشد. [۸-۱۰]

Archive of SID

www.SID.ir

مواد و روشها

گیاه *Stachys lavandulifolia* در خرداد ماه ۱۳۸۲ از ارتفاعات شهرستان خرم آباد واقع در استان لرستان جمع آوری وجهت اسانس گیری از روش تقطیر با آب *(Hydrodistillation)* و دستگاه کلونجر به مدت ۳ ساعت استفاده شد. برای به دست آوردن نسبت وزنی اسانس، هگزان استفاده شده برای شستشوی لوله کلونجر حامل اسانس بوسیله دستگاه تقطیر در خلاء تبخیر شد وسپس با وزن کردن ظرف حامل اسانس وکم کردن وزن ظرف خالی وزن اسانس را به دست آوردیم.

آنالیز GC با دستگاه کروماتوگراف گازی مدل Shimadzu 15A صورت گرفت. N_2 به عنوان گاز حامل با سرعت (1mL/min) و ستون DB 5(۰/۲mm × ۵۰ m و ۰/۳۲μm) استفاده شد. دمای ستون در ۶۰°C برای مدت ۳ دقیقه نگهداری و سپس 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 کروماتوپک C-R4A بدون استفاده از فاکتور تصحیح از سطح زیر منحنی (Peak area) برآورد شد.

آنالیزهای GC/MS با استفاده از Hewlett-pakard 5973 با ستون HP-5MS(۰/۲۵mm× ۳۰m× ۰/۲۵μm وضخامت) صورت گرفت. دمای ستون برای ۳دقیقه در۶۰ °C نگهداری و تا ۲۲۰°C با سرعت۵ °C در دقیقه افزایش یافت و برای ۵ دقیقه در۲۲۰ °C نگهداری شد. سرعت جریان گاز هلیم به عنوان گاز حامل با سرعت (1mL/min) در 70eVمورد استفاده قرار گرفت.

شناسایی مواد متشکله اسانس به وسیله مقایسه طیف جرمی و اندیس بازداریشان با آنچه که در منابع وجود دارد صورت گرفت.[۱۱]

آزمایشهای میکربی با استفاده از باکتریهای *Staphylococcus epidermidis PTCC1349*، *Staphylococcus saprophyticus PTCC1379Staphylococcus aureus PTCC1113*، *Escherchia coli* ،*Salmonella typhi PTCC1185*،*Pseudomonas aeroginosa1310 PTCC1330*، *Klebsiella pneumoiae PTCC1053* ،*Shigella flexneri PTCC1234*، *Bacillus subtilis* ،*Bacillus cereus PTCC1015* ،*Haemophilus influenzae PTCC 1628 PTCC 1365* انجام شد.

میکروارگانیسمها روی محیط کشت Mueller-Hinton آگار کشت شدند. بعد از حفر چاهکها روی محیط کشت ٤٠μL از اسانس در چاهکها ریخته شد. سپس نمونه ها به مدت ٢٤ ساعت در دمای ۳۷°C قرار داده شدند برای تعیین میزان بازدارندگی اسانس قطر هاله بازدارندگی رشد اندازه گیری شد.از هگزان نرمال به عنوان شاهد و برای مقایسه قدرت مهار کنندگی اسانس از آنتی بیوتیک جنتامایسین استفاده شد.[۱۲]

نتایج وبحث

کروماتوگرام گازی اسانس بخش هوایی گیاه *Stachys lavandulifolia* که‌در خرداد ماه ۱۳۸۲ از ارتفاعات شهرستان خرم آباد در مرحله گلدهی جمع آوری شده است در شکل (۱) آورده شده است. بررسیها نشان

Archive of SID

www.SID.ir

داد که درصد اسانس موجود در این گیاه ۰/۸٪وزنی- وزنی است. نتایج مربوطه به شناسایی مواد متشکله اسانس این گیاه جدول(۱) آمده است. نتایج بررسی حاضر منجر به شناسایی ١٤ ترکیب در اسانس مذکور گردید که ۹۲/۸٪از حجم اسانس را تشکیل می دهد. اصلی ترین ترکیبهای تشکیل دهنده اسانس این گیاه از گروه ترکیبات مونوترپنی است(۷۵/۸٪). در بین ترکیبات شناسایی شده α- Myrcene(20.9%), α-Pinene(16.3%), Bicyclogermacrene(8.7%), Terpinene(20%) و GermacreneD(6.2%) ترکیبات اصلی این اسانس را تشکیل می دهند.

مطالعات روستائیان و همکاران در مورد شناسایی ترکیبات موجود در اسانس *Stachys lavandulifolia* که از منطقه آبعلی واقع در استان تهران جمع آوری شده است نشان می دهد درصد ترکیبات مونوترپنی ۵۱/۸٪و سزکویی ترپنها ۳۷/۲٪ می باشد درحالیکه در پژوهش حاضردرصد مونوترپنها بیشتر و سزکوئی ترپنهاکمتر است به طوریکه درصد مونو ترپنها (۷۵/۸٪) و درصد سزکویی ترپنها است(۱۷/۱٪). از تفاوتهای شاخص دیگر حضور درصد بالای ماده(β-Pinene (12.1% در مطالعه مذکور وعدم وجود آن در بررسی حاضر است, همچنین درصد α-Terpinene(0.2%) در مطالعه مذکور بسیار کمتر از مقدار این ماده در مطالعه حاضر است. علاوه بر موارد ذکر شده تفاوتهای دیگری نیز مشاهده می شود[۱۳]. پژوهش های مرتضی سمنانی و همکاران نشان داده است که 4-hydroxy-4-methyl-2-pentanone (9.3%), α-pinene (7.9%) و hexadecanoic acid (5.2%). مهمترین اجزاء تشکیل دهنده اسانس گیاه *S. lavandulifolia* جمع آوری شده از استان مازندران می باشند [۱۴].

مطالعات صورت گرفته به وسیله E. Sezik و همکار در خصوص آنالیز اسانس *St. lavandulifolia* جمع آوری شده از ترکیه نیز تفاوتهایی را با بررسی ما نشان می دهد که از آن جمله می توان به بالا بودن درصد 1,8-Cineole و β-Caryophyllene اشاره کرد. [۱۵] تغییرات قابل توجه ترکیبات شیمیایی اسانس گیاهان رشد یافته در ترکیه, استان های تهران، لرستان و مازندارن نشان دهنده تاثیر عوامل محیطی و اکولوژیکی بر کیفیت مواد تشکیل اسانس گیاه مورد مطالعه است.

بررسی ترکیبات موجود اسانس *St. pilifera* نشان داده است که هیدروکربنهای مونو ترپنی ۳۰/۹٪، مو نوترپنهای اکسیژنه ٤٧/٦٪، سزکویی ترپنها ١٠/٤٪ و یک مشتق فنیل پروپانوئید ۰/۳٪ اجزای این اسانس را تشکیل می دهند.بعلاوه هیدرو کربنهای مونوترپنی ١/٤٪، مونوترپنهای اکسیژنه ۷۷/۹٪، سزکویی ترپنها ١١/٢٪ و یک مشتق فنیل پروپانوئید ١/٦٪ اجزاء اسانس در گیاه *St. acerosa* می باشند[۶].دراسانس گیاه *St. byzanthin* مقادیر بالایی از سزکویی ترپنها به ویژه انواع هیدرو کربنی آنها مشاهده می شود. [۷]

نتایج بررسی اثرات ضد میکربی اسانس گیاه *St. lavandulifolia* نشان داد که اسانس گیاه مذکور برعلیه باکتریهای گرم مثبت *Staphylococcus epidermidis* و باکتریهای گرم منفی *Salemonella typhi* و *E. coli* دارای اثر ضد میکربی بالایی است (قطر هاله بازدارندگی رشد به ترتیب ۲۹ ، ۳۱ و ۲۵ میلی متر). کمترین اثر ضد مکیربی اسانس مورد مطالعه بر علیه *Haemophilus influenzae* و *Bacillus cereus* مشاهده می شود.

Archive of SID

www.SID.ir

Skaltsa و همکاران (۲۰۰۳) اثرات ضد میکربی اسانس حاصل از ۸ گونه *Stachys* که بصورت وحشی در یونان می رویند، را بر میکروارگانیسمهای *Pseudomonas aeruginosa*، *Bacillus cereus*، *E. coli*، *Staphylococcs epidermidis*، *B. subtilis*، *Micrococcus flavus*، *Aspergillus niger*، *Epidermophyton floccosum*، *Penicillium ochrochloron*، *Candida albicans* مورد آزمایش قرار دادند. اسانس های مورد آزمایش بر روی باکتری ها نسبت به قارچ ها اثرات بهتری را نشان دادند.در این بررسی *Pseudomonas aeruginosa* مقاوم ترین گونه بوده و هیچکدام از اسانس ها بر علیه آن فعالیتی نشان ندادند همچنین اسانس *St. scardica* بیشترین فعالیت را علیه قارچها و باکتریهای مورد آزمایش نشان می دهد.[۱۶]

بررسیهای Dulger و همکارانش (۲۰۰۵) نشان داد که عصاره های متانولی حاصل از *St. Aleuritis* و *St. pinardeibois* بر روی باکتری های *Pseudomonas aeruginosa*، *Bacillus cereus*، *E. coli*، *Klebsiella pneumoia*، *Staphylococcs aureus* و *Proteus vulgaris* موثر می باشند.[۱۷]

در مطالعه ای که در سال ۱۹۹۹ در یونان بر روی اثرات ضد باکتری اسانس گیاهان *St. candica* و *St. chrysantha* صورت پذیرفت، نشان داده شد که این اسانس ها اثرات ضد باکتری مناسبی بر روی باکتری های گرم مثبت *Staphylococcs aureus*، *Staphylococcs epidermidis* و گرم منفی *E. coli*، *Pseudomonas aeruginosa* و *Klebsiella pneumoia* از خود نشان می دهند.[۱۸]

فرآیند مقاومت دارویی نسبت به آنتی بیوتیکهای شیمیایی توانایی پزشکان در درمان بعضی از بیماری های عفونی که اغلب مرگبار هستند را محدود نموده است. مرگ و میر ناشی از عفونت های بیمارستانی که سالانه در آمریکا باعث چهل هزار مرگ می شود ناشی از همین مقاومت نسبت به آنتی بیوتیکها است.[۱۹] با توجه به رواج مقاومت دارویی ناشی از استفاده از مواد شیمیایی ضد میکربی، به نظر می رسد که کشف قابلیتهای روغنهای فرار به عنوان جایگزین سازی آنها با مواد شیمیایی امید بخش باشد.

NO	Compound	RI	Percentage
1	α-Thujene	931	3.5
2	α-Pinene	939	16.3
3	Sabinene	976	5.2
4	β-Pinene	980	5.5
5	Myrcene	991	20.9
6	α-Phellendrene	1005	1

Archive of SID

www.SID.ir

ادامه جدول ۱ ...

7	α-Terpinene	1018	20
8	ρ-Cymene	1026	0.3
9	(Z)-β- Ocimene	1037	3.1
10	β - Caryophyllene	1418	1
11	(Z) – β - Farnesene	1423	1
12	Germacrene D	1480	6.2
13	Bicyclogermacrene	1494	8.7
14	δ - Cadinene	1524	0.2

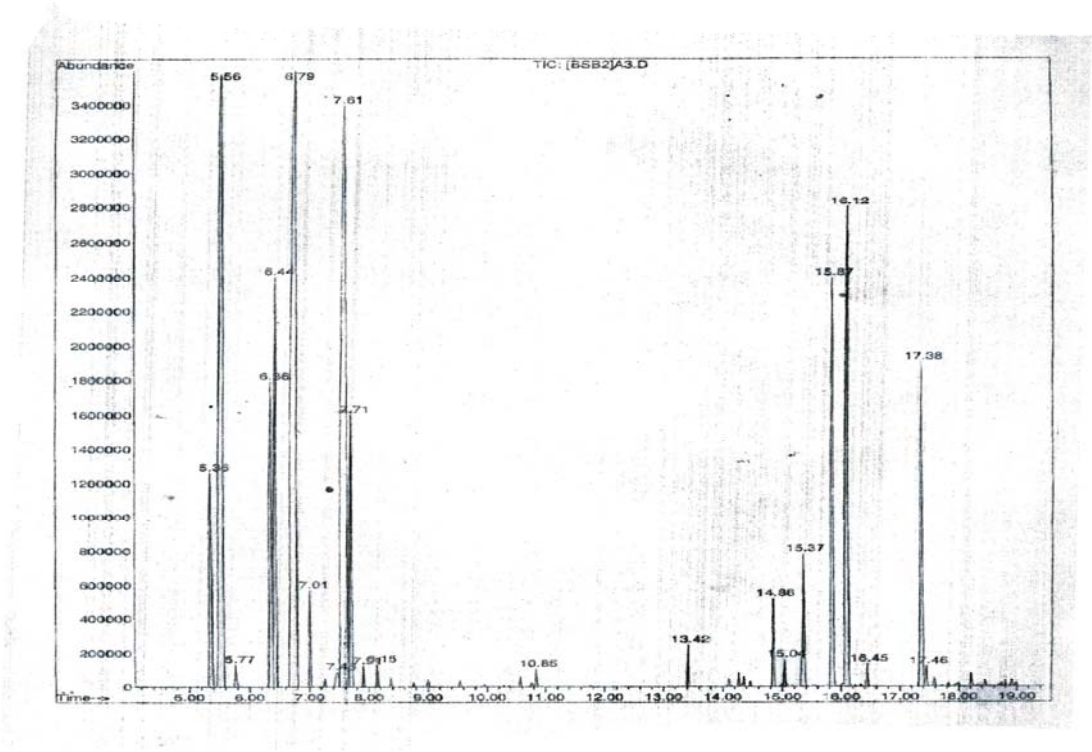
جدول (۱): درصد مواد سازنده اسانس گیاه ***Stachys lavandulifolia Vahl.***

Microorganism	Essential Oil	Genta	*n- hexane*
Staphylococcs aureus PTCC1113	20	12	-
Staphylococcs epidermidis PTCC 1349	29	20	-
Staphylococcus saprophyticus PTCC 1379	21	15	-
Salmonella typhi PTCC1185	31	14	-
Shigella flexneriPTCC 1234	16	12	-
Escherichia coliPTCC 1330	25	15	-
Pseudomonas aeruginosa PTCC 1310	15	15	-
Klebsiella pneumoiae PTCC1053	22	11	-
Haemophilus influenzae PTCC 1628	7	16	-
Bacillus subtilis PTCC 1365	14	13	-
Bacillus cereus PTCC 1015	9	12	-

جدول(۲): تاثیر ضد باکتریایی اسانس گیاه مورد مطالعه و کنترل های مثبت و منفی برمیکروارگانیسم‌ها (قطر هاله بازدارندگی رشد بر حسب میلی متر)

Archive of SID

www.SID.ir



شکل شمارهٔ ۱: کروماتوگرام گازی اسانس گیاه *Stachys lavandulifolia Vahl*

Archive of SID

References:

1. Ghahraman, A., *Cormophytes of Iran*, Iran University Press, Tehran (1994).
2. Shafizadeh, F., *Medicinal Plants of Lorestan Province*, Hayian Publisher, Tehran (2002).
3. Skaltsa, H. D., Costas, D., Diamanto, L. and Sokovic, M., *Phytochemistry*, **64**, 743 (2003).
4. Chalchat, J. C., Petrovoic, S. D., Maksimovic, Z. A. and Gorunovic, M. S., *Journal of Essential Oil Research*, **12**, 445 (2000) .
5. Skaltsa, H. D., Lazari, D. M., Chinou, I. B and Loukis, A. E., *Planta Med*, **65**, 255 (1999).
6. Masoudi, S., Jamzad, M., Attari, L. and Rustaiyan, A., *Journal of Essential Oil Research*, **15**, 189 (2003).
7. Khavavi, M., Hadjiakhoondi, A., Amin, G., Amanzadeh, Y., Rustaiyan, A. and Shafiee, A., *Z.Naturforsch*, **59C**, 463 (2004).
8. Sanz, J., mus, M. and Rossello, *J., Botanical Journal of Linnean Society*, **132**, 253 (2000).
9. Skaltsa, H. D., Mavrommati, A. and Costantidis, *T., Phytochemistry*, **57**, 235 (2001).
10. Stahl-Biskup, E., *Journal of Essential Oil Research*, **3**, 61 (1991).
11. Adams, R. P., *Identification of essential oil components by Gas chromatography/mass spectroscopy, Allured Publ.crop*., Carol Stream, IL,USA (1995).
12. Chalabian, F., Norozi, H. and Mousavi, S., *Journal of Medicinal Plants*, **7**, 37 (2003).
13. Khavavi, M., Hadjiakhoondi, A., Amin, G., Shafiee, A., Masoudi, S. and Rustaiyan, A., *Journal of Essential Oil Research*, **15**, 77 (2003).

www.SID.ir

14. Morteza-Semnnani, K., Saidee, M., Mahdavi, M. R. and Rahimi, F., *Journal of Mazendaran University of Medical Sciences*, **17 (57**), 57 (2007).
15. Morteza-Semnani, K., Akbarzadeh, M., Changizi, S., *Flavour Fragrance Journal***,** **21**(2), 300 (2006).
16. Skaltsa, H. D., Demetzos, C., Lazari, D. and Sokovic, *M*., *Phytochemistry*, **64** (3), 743 (2003).
17. Dulger, B., Ugurlu, E., Aki, C., Suerdem, T. B. and Camdevrin, A., *Pharmaceutical Biology*, **43**(3), 270 (2005).
18. Skaltsa, H. D., Lazari, D. M. and Chinou, I. B., Loukis, A. E., *Planta Medica*, **65**(3), 255 (1999).
19. Wright, G. D., *Chemistry Biology*, **7**, 127(2000).

Archive of SID

www.SID.ir