

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

الهام مدیری^{۱*}، فاطمه سفیدکن^۲، زیبا جمزاد^۲ و اختر توسلی^۳

*- نویسنده مسئول، دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه الزهراء، تهران

پست الکترونیک: e_modiri@yahoo.com

۲- استاد، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور

۳- استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه الزهراء، تهران

تاریخ پذیرش: دی ۱۳۹۰

تاریخ اصلاح نهایی: دی ۱۳۹۰

تاریخ دریافت: ۷ شهریور ۱۳۹۰

چکیده

جنس *Ziziphora* متعلق به خانواده نعنا، شامل ۴ گونه (*Z. tenuior* L.، *Z. capitata* L.، *Z. persica* Bunge.) 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 کمی 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 به ترتیب با ۴۶/۸٪ و ۳۶/۱٪ بود. در اسانس زیرگونه‌های *filicaulis* از ارسباران، *bungeana* از تبریز و *ronnigeri* از ارومیه به ترتیب ۱۵، ۱۸ و ۱۹ ترکیب شناسایی شد که پولگون، به ترتیب با ۴۶٪، ۲۳٪ و ۵۲٪ ترکیب شاخص بود. در اسانس زیرگونه *pseudodasyantha* جمع‌آوری شده از قزوین نرسیده به زشک و قزوین به ترتیب ۱۴ و ۱۶ ترکیب شناسایی شد. در گیاه اول پولگون (۴۹/۸٪) و در گیاه دوم لیمونن (۲۹٪) ترکیب‌های شاخص هستند. در اسانس زیرگونه مذکور از دو منطقه گرمابدره و شهرستانک به ترتیب ۱۸ و ۱۶ ترکیب شناسایی شد. ترکیب‌های شاخص گاما-تریپنین (۱۶/۱٪) در زیرگونه مربوط به گرمابدره و ۸،۱-سینئول (۳۲/۴٪) در زیرگونه مربوط به شهرستانک می‌باشند.

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

مقدمه

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

استفاده از ادویه‌ها، چاشنی‌ها، افزودنی‌ها و دیگر مواد معطر سابقه طولانی در تاریخ زندگی بشر دارد. تحقیقات

گردیده است. ۲۲ ترکیب که در کل ۹۸٪ از کل اسانس را شامل می‌شود جداسازی و شناسایی شده است. در این میان پولگون (۷۶/۱۴٪) بیشترین ترکیب تشکیل‌دهنده اسانس گزارش شده است (Nezhadali & Zarrabi, 2010).

Gozde و همکاران (۲۰۰۶) ترکیب شیمیایی اسانس موجود در *Z. taurica* subsp. *cleoniodies* بومی ترکیه را از نظر فعالیت ضد میکروبی بررسی کردند. آنها گزارش کردند که اسانس گونه مذکور به‌طور قابل ملاحظه‌ای از رشد میکروارگانیسم‌های آزمایش شده که ۸ نژاد باکتری و قارچ *Candida albicans* می‌باشد، جلوگیری می‌کند. همچنین پولگون بالاترین مقدار را در این اسانس دارد که دارای اثر ضد میکروبی و ضد قارچی است.

ترکیب‌های شیمیایی اسانس موجود در گونه *Z. tenuior* L. جمع‌آوری شده از ۳ منطقه در ایران، قزوین، مشهد و کرمان توسط GC و GC/MS شناسایی شده است. ترکیب اصلی موجود در اسانس این گونه در ۳ منطقه، پولگون است که به ترتیب به میزان ۸۷/۸۰٪، ۵۳/۲۵٪ و ۵۸/۱۰٪ در اسانس این گیاه گزارش شده است (Javidnia et al., 1996).

در یک گزارش از اسانس گونه *Z. capitata* L. ۱۹ ترکیب که ۹۸/۸٪ کل ترکیب‌های شناسایی شده اسانس را به خود اختصاص دادند، بالاترین مقدار مربوط به جرم‌اکرن D (۳۱/۱٪) می‌باشد که در اسانس این گونه خواص آنتی‌باکتریایی نیز مشاهده شده است. در اسانس *Z. capitata* L. ۶ هیدروکربن منوترین (۳۵/۱٪)، ۹ هیدروکربن سسکوئی‌ترین (۴۹/۴٪)، ۳ سسکوئی‌ترین اکسیژنه (۸/۴٪) و یک آلفاتیک‌اسید (۵/۹٪) شناسایی شده است (Aghajani et al., 2008).

تمدن هند، چین، مصر، یونان، بابل و رم باستان معمول بوده است. 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 Menthae می‌باشد که شامل گیاهانی یکساله و چندساله است. این جنس دارای ۴۰ گونه در مدیترانه، منطقه ایران و توران و به‌ویژه مرکز آسیاست و ۴ 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، ۱۳۶۹).

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 رفته است (زرگری، ۱۳۶۹). به‌دلیل خواص متعدد دارویی اسانس گیاه *Ziziphora* نیز از نظر ترکیب‌های تشکیل‌دهنده و همچنین اثر ضد میکروبی مورد مطالعه قرار گرفته است. تاکنون گزارش‌هایی در زمینه ترکیب شیمیایی اسانس گونه‌های *Ziziphora* ارائه شده است، از جمله 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

گردیده است (Sonboli et al., 2006). در نهایت معلوم شد که اسانس *Z. clinopodioides* دارای فعالیت ضدباکتریایی بر روی باکتری گرم مثبت و منفی به ویژه *Salmunella typhimurium* است (چیت ساز و همکاران، ۱۳۸۶).

Dehghan و همکاران (۲۰۱۰) تأثیر برخی از شرایط رویشگاهی روی کمیّت 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 به عنوان 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 گرفته است.

مواد و روشها

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

شناسایی ترکیب‌های شیمیایی و فعالیت ضد میکروبی *Z. clinopodioides* توسط محققان مختلف مورد بررسی قرار گرفته است. 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 ضد میکروبی بر روی باکتری گرم مثبت و منفی بررسی شده است.

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 به عنوان 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 شده است. پولگون (۴۵/۸٪) جزء اصلی اسانس این زیرگونه را تشکیل داده است؛ همچنین فعالیت آنتی‌باکتریایی آن نیز بر روی باکتریهای گرم مثبت و منفی مشاهده شده است (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 شده است؛ همچنین فعالیت ضد میکروبی این اسانس نیز بر روی ۷ نژاد باکتری بررسی

(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 هلیوم و دتکتور Ion Trap می‌باشد. سرعت جریان گاز حامل ۵۰ ml/min و انرژی یونیزاسیون در طیف‌سنج جرمی معادل ۷۰ الکترون ولت بود. دمای ستون از ۴۰ درجه سانتی‌گراد تا ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۴ درجه در دقیقه افزایش یافت. دمای اتاق تزریق ۲۳۰ درجه سانتی‌گراد بود. شناسایی مواد تشکیل‌دهنده اسانس به وسیله مقایسه طیف‌سنجی جرمی و اندیس بازدارگی کوارتر با آنچه در منابع وجود دارد انجام گردید (Adams, 2001).

به صورت 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. هلیوم به عنوان 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 ۰/۴ میکرومتر بود. دمای ستون از ۶۰ 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

جدول ۱- لیست نمونه‌های جمع‌آوری شده و شماره هر بار یومی آنها

کد	نام زیرگونه	محل جمع‌آوری	شماره هر بار یومی
Z1	<i>Z. clinopodioides</i> subsp. <i>rigida</i>	آذربایجان غربی، نغده، ایرانشهر، کیلومتر ۵ سه‌راهی گلوان قرقی - وارناسا	۹۵۷۴۵ (TARI)
Z2	<i>Z. clinopodioides</i> subsp. <i>rigida</i>	فارس - اقلید	۹۵۷۴۶ (TARI)
Z3	<i>Z. clinopodioides</i> subsp. <i>filicaulis</i>	منطقه ارسباران، سه‌راهی اقداش به توپخانه	۹۶۱۳۶ (TARI)
Z4	<i>Z. clinopodioides</i> subsp. <i>bungeana</i>	آذربایجان شرقی، مرند، کوه میشو	۹۵۷۴۸ (TARI)
Z5	<i>Z. clinopodioides</i> subsp. <i>ronnigeri</i>	آذربایجان غربی، ارومیه، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی	۹۵۷۴۴ (TARI)
Z6	<i>Z. clinopodioides</i> subsp. <i>pseudodasyantha</i>	قزوین نرسیده به زشک	۹۶۱۳۵ (TARI)
Z7	<i>Z. clinopodioides</i> subsp. <i>pseudodasyantha</i>	قزوین	۹۶۱۳۷ (TARI)
Z8	<i>Z. clinopodioides</i> subsp. <i>pseudodasyantha</i>	گرمابدره	۹۶۱۳۳ (TARI)
Z9	<i>Z. clinopodioides</i> subsp. <i>pseudodasyantha</i>	شهرستانک جاده چالوس	۹۶۱۳۴ (TARI)

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 ۹۴/۵٪ 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 (۴۶/۸٪) بیشترین ترکیب و بعد از آن به‌ترتیب پارا-منت-۳-ان-۸-اول (۱۴٪)، پیپریتون (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 ۹۶/۷٪ از کل اسانس را تشکیل می‌دهند شناسایی شده؛ پولگون با ۳۶/۱٪ بالاترین درصد ترکیب، ۸،۱-سینئول (۱۴/۳٪)، پارا-منت-۳-ان-۸-اول (۱۳/۴٪)، لیمونن (۶/۹٪) و پیپریتون (۶/۷٪) اجزاء اصلی اسانس می‌باشند که در کل ۷۷/۴٪ از حجم اسانس را به خود اختصاص می‌دهند. در زیرگونه *filicaulis* جمع‌آوری شده از ارسباران (Z3)، ۱۵ ترکیب که ۹۶/۵٪ از کل اسانس را شامل می‌شود شناسایی شده؛ پولگون (۴۶٪)، نئومتون (۱۳/۱٪)، ۸،۱-سینئول (۹/۵٪) و پارا-منت-۳-ان-۸-اول (۷/۴٪)، در کل ۷۶٪ اجزاء اصلی اسانس محسوب می‌شوند.

در زیرگونه *bungeana* جمع‌آوری شده از تبریز (Z4)، ۱۸ ترکیب که ۸۴/۱٪ از کل ترکیب‌ها می‌باشند شناسایی

شده‌اند؛ پولگون (۲۳٪)، پارا-منت-۳-ان-۸-اول (۱۹٪) و ۸،۱-سینئول (۱۲٪)، در کل ۵۴٪ 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 (۲۴/۳٪)، ۷۶/۳٪ از حجم کلی اسانس را تشکیل می‌دهند.

در زیرگونه *pseudodasyantha* جمع‌آوری شده از قزوین (Z6)؛ تعداد ۱۴ ترکیب که ۹۵٪ از کل اسانس می‌باشد، شناسایی شد. پولگون (۴۹/۸٪)، پیپریتون (۱۶/۸٪) و ایزومتون (۷/۳٪)، ۷۳/۹٪ از حجم کل اسانس را تشکیل می‌دهند. در زیرگونه *pseudodasyantha* جمع‌آوری شده از قزوین (Z7)، تعداد ۱۶ ترکیب که ۸۹/۳۳٪ از کل اسانس می‌باشد، شناسایی شد. لیمونن (۲۹٪)، نئومتون (۲۶٪)، ۸،۱-سینئول (۱۰/۸٪) و جرماکون D (۶٪)، 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 (۱۶/۱٪)، ۸،۱-سینئول (۱۵/۸٪)، آلفا-ترپینئول (۱۴/۸٪) 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)، ۱۶ ترکیب که ۹۸/۳٪ از کل اسانس می‌باشد، شناسایی شد. ۸،۱-سینئول (۳۲/۴٪)، پولگون (۲۵٪) و پارا-منت-۳-ان-۸-اول (۱۸/۹٪) در مجموع ۷۶/۳٪ از حجم کل اسانس را تشکیل می‌دهند.

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

Z9 (%)	Z8 (%)	Z7 (%)	Z6 (%)	Z5 (%)	Z4 (%)	Z3 (%)	Z2 (%)	Z1 (%)	شاخص بازداری	ترکیب	ردیف
										monoterpene hydrocarbons	
۱	۰/۸	۱	۱/۵	۰/۶	۱/۵	۰/۵	۱/۲	۱/۵	۹۲۶	α -thujene	۱
۰/۴	۰/۸	۰/۵	-	-	۰/۵	-	۰/۶	۰/۵	۹۳۵	alpha-Pinene	۲
۱/۶	۲/۲	۴/۹	۰/۴	۰/۵	۱/۴	۰/۷	۱/۳	۰/۶	۹۵۰	camphene	۳
۲/۷	-	۱/۶	۲/۹	۱/۶	۳/۳	۱/۸	۲/۷	۲/۶	۹۷۱	Sabinene	۴
۰/۴	۴/۱	-	-	-	-	-	-	-	۱۰۲۴	p-cymene	۵
۱	۲/۹	۲۹	۰/۶	۰/۳	۳/۸	-	۶/۹	۰/۴	۱۰۲۷	limonene	۶
۳۲/۴	۱۵/۸	۱۰/۸	۳/۵	۴/۱	۱۲	۹/۵	۱۴/۳	۵/۵	۱۰۳۱	1,8-cineol	۷
-	۰/۷	-	-	-	۱/۴	-	۰/۴	-	۱۰۴۸	(E)- β -ocimene	۸
۲/۲	۱۶/۱	۰/۹	-	۱/۲	۱/۱	۰/۴	۱/۵	۰/۷	۱۰۶۰	γ -terpinene	۹
										Oxygenated monoterpenes	
۱۸/۹	۱۱/۳	-	۵/۷	۲۴/۳	۱۹	۷/۴	۱۳/۴	۱۴	۱۱۴۶	p-menth-3-en-8-ol	۱۰
۳/۱	۸/۵	۰/۹	۷/۳	۴/۶	۰/۹	۳/۹	۴/۵	۲/۳	۱۱۶۰	isomenthone	۱۱
۵/۵	۲/۹	۲۶	۰/۸	-	۰/۸	۱۳/۱	۱/۲	۰/۷	۱۱۶۳	neomenthone	۱۲
۲	-	-	-	-	-	-	-	-	۱۱۶۸	p-menth-1,5-dien-8-ol	۱۳
-	۱۴/۸	۰/۶	-	۲/۱	-	۳/۵	۱/۴	۵/۷	۱۱۸۵	alpha-terpineol	۱۴
-	-	-	-	-	-	-	۰/۵	۰/۴	۱۲۰۸	trans-piperitol	۱۵
۲۵	۳/۶	۱/۷	۴۹/۸	۵۲	۲۳	۴۶	۳۶/۱	۴۶/۸	۱۲۳۳	pulegone	۱۶
-	۱/۹	-	۴	۰/۹	۱	۳/۱	۱/۵	۴	۱۲۴۹	piperitone	۱۷
۱	۴/۹	۲/۶	۰/۷	۰/۱	۳/۶	۰/۹	۱/۶	۲/۴	۱۲۸۵	bornylacetate	۱۸
۰/۶	۰/۵	۰/۴۳	۱۶/۸	۲/۷	۱/۷	۳/۱	۶/۷	۹/۵	۱۳۳۹	piperitenone	۱۹
										Sesquiterpenes	
۰/۵	۰/۸	۰/۴	۰/۳	۰/۳	۳/۲	۰/۶	۰/۳	۰/۵	۱۳۸۴	β -bourbonene	۲۰
-	-	-	-	-	-	-	-	۰/۲	۱۴۱۵	E-caryophyllene	۲۱
-	۱/۱	۶	-	۱/۹	۵/۲	۲	۰/۶	۱/۴	۱۴۸۱	germacrene D	۲۲
-	-	۱/۷	۰/۷	-	۰/۷	-	-	-	۱۵۷۶	spathulenol	۲۳
-	-	۲	-	-	-	-	-	-	۱۵۸۱	caryophyllen oxide	۲۴

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	<i>Z. clinopodioides</i> subsp. <i>rigida</i>	ارومیه	۱/۲	۹۷/۲	۱۵
Z2	<i>Z. clinopodioides</i> subsp. <i>rigida</i>	فارس	۱/۴۴	۹۶/۷	۱۹
Z3	<i>Z. clinopodioides</i> subsp. <i>filicaulis</i>	ارسباران	۰/۸۴	۹۶/۵	۱۵
Z4	<i>Z. clinopodioides</i> subsp. <i>bungeana</i>	تبریز	۰/۶۳	۸۴/۱	۱۸
Z5	<i>Z. clinopodioides</i> subsp. <i>ronnigeri</i>	ارومیه	۰/۴۴	۹۹/۷	۱۹
Z6	<i>Z. clinopodioides</i> subsp. <i>pseudodasyantha</i>	قزوین	۰/۶۶	۹۵	۱۴
Z7	<i>Z. clinopodioides</i> subsp. <i>pseudodasyantha</i>	قزوین	۰/۱۸	۸۹/۳۳	۱۶
Z8	<i>Z. clinopodioides</i> subsp. <i>pseudodasyantha</i>	گرمابدره	۰/۱۳	۹۳/۷	۱۸
Z9	<i>Z. clinopodioides</i> subsp. <i>pseudodasyantha</i>	شهرستانک	۰/۲۵	۹۸/۳	۱۶

بحث

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 (۴۵/۸٪)، پیپریتون (۱۷/۴٪)، پارامنت-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 نشده است. در زیرگونه *bungeana* نتایج مطالعه حاضر با نتایج بدست‌آمده توسط Sonboli و همکاران (۲۰۰۶) بر روی اسانس زیرگونه *bungeana* تا حدودی متفاوت است؛ ترکیب‌های عمده در مطالعه آنها پولگون (۶۵/۲٪)، ایزومتون (۱۱/۹٪)، ۸،۱-سینئول (۷/۸٪) و پیپریتون (۶/۵٪) گزارش شده است، در صورتی که در این مطالعه ایزومتون (۰/۹٪) و پیپریتون (۱/۷٪) می‌باشد. در دو زیرگونه *ronnigeri* و *filicaulis* نیز عمده‌ترین ترکیب پولگون می‌باشد.

در زیرگونه‌های *pseudodasyantha* که از سه شهر مختلف جمع‌آوری شده است تفاوت‌هایی در اسانس آنها از نظر کمی و کیفی دیده می‌شود، در زیرگونه‌های *pseudodasyantha* جمع‌آوری شده از شهر قزوین (Z7)، پولگون کمترین میزان را دارد. در صورتی که در زیرگونه قزوین (Z6) پولگون (۴۹/۸٪) درصد عمده‌ای را تشکیل می‌دهد. در نمونه جمع‌آوری شده از منطقه حفاظت‌شده گرمابدره (Z8)، پولگون به میزان (۳/۶٪) می‌باشد که در مقایسه با سایر نمونه‌ها مقدار کمی است.

در نمونه *pseudodasyantha* متعلق به گرمابدره (Z8)، پولگون درصد بسیار کمی دارد و گاما-ترینین (۱۶/۱٪)، ۸،۱-سینئول (۱۵/۸٪) و آلفا-ترینول (۱۴/۸٪) بیشترین ترکیب تشکیل‌دهنده می‌باشند. در *pseudodasyantha* شهرستانک (Z9)، ۸،۱-سینئول (۳۲/۴٪) 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

جدول ۴- تغییرات کمی و کیفی اسانس گیاه *Z. clinopodioides* Lam. در مناطق مختلف ایران

زیرگونه	اجزای اصلی اسانس
subsp. <i>rigida</i> (Z1)	پولگون (۰/۴۶/۸)، پارا-منت-۳-ان-۸-اول (۰/۱۴)، پیریتنون (۰/۹/۵)
subsp. <i>rigida</i> (Z2)	پولگون (۰/۳۶/۱)، ۸،۱-سینئول (۰/۱۴/۳)، پارا-منت-۳-ان-۸-او (۰/۱۳/۴)، پیریتنون (۰/۶/۷)
subsp. <i>filicaulis</i> (Z3)	پولگون (۰/۴۶)، نئومنتون (۰/۱۳/۱)، ۸،۱-سینئول (۰/۹/۵)
subsp. <i>bungeana</i> (Z4)	پولگون (۰/۲۳)، پارا-منت-۳-ان-۸-اول (۰/۱۹)، ۸،۱-سینئول (۰/۱۲)
subsp. <i>runnigeri</i> (Z5)	پولگون (۰/۵۲)، پارا-منت-۳-ان-۸-اول (۰/۲۴/۳)
subsp. <i>pseudodasyantha</i> (Z6)	پولگون (۰/۴۹/۸)، پیریتنون (۰/۱۶/۸)، ایزومنتون (۰/۷/۳)
subsp. <i>pseudodasyantha</i> (Z7)	لیمونین (۰/۲۹)، نئومنتون (۰/۲۶)، ۸،۱-سینئول (۰/۱۰/۸)، جرماکران D (۰/۶)
subsp. <i>pseudodasyantha</i> (Z8)	گاما-تریپنین (۰/۱۶/۱)، ۸،۱-سینئول (۰/۱۵/۸)، آلفا-تریپینول (۰/۱۴/۸)، پارا-منت-۳-ان-۸-اول (۰/۱۱/۳)
subsp. <i>pseudodasyantha</i> (Z9)	۸،۱-سینئول (۰/۳۲/۴)، پولگون (۰/۲۵)، پارا-منت-۳-ان-۸-اول (۰/۱۸/۹)

نمونه متعلق به قزوین (Z7) می‌باشد. پارا-منت-۳-ان-۸-اول به‌عنوان دومین ترکیب عمده از ۲۴/۳ 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 ۳۲/۴٪ 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 مهریان سنگ‌آتش و همکاران (۱۳۸۶)، به دلیل وجود پولگون باشد. از این رو براساس میزان پولگون در اسانس نمونه‌های مورد مطالعه، زیرگونه‌های (Z5) *pseudodasyantha* (Z6) *ronnigeri* (Z3) و *rigida* (Z1) *pseudodasyantha* (Z6) *ronnigeri* *filicaulis* به ترتیب با (۰/۵۲)، (۰/۴۹/۸)، (۰/۴۶/۸) و (۰/۴۶) پولگون با کیفیت‌ترین و اسانس زیرگونه‌های (Z7) *pseudodasyantha* و (Z8) *pseudodasyantha* با ۱/۷٪ و ۳/۶٪ پولگون بی کیفیت‌ترین اسانس می‌باشند.

همانطور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود، بین بازده اسانس (از ۱/۴۴٪ مربوط به فارس تا ۰/۱۳٪ مربوط به گرمابدره) تفاوت معنی‌داری وجود دارد. یک تفاوت دیگر

در کل می‌توان گفت در شش نمونه از ۹ نمونه مورد مطالعه از زیرگونه‌های گونه *Ziziphora clinopodioides* مانند گونه‌های *Z. tenuior* و *Z. persica* براساس مطالعات انجام شده (Nezhadali & Zarrabi Shirvan, 2010؛ Javidnia et al., 1996)، پولگون بیشترین ترکیب تشکیل دهنده می‌باشد. از این رو این نتایج با نتایج Salehi و همکاران (۲۰۰۵)، Sonboli و همکاران (۲۰۰۶) و سایر مطالعات قبلی که بر روی دیگر گونه‌های *Ziziphora* انجام شده و نشان داده که اسانس آنها دارای مقادیر قابل توجهی پولگون است، مطابقت دارد. پولگون یک منوترین اکسیژن‌دار حلقوی با چگالی ۰/۹۳ و بوی مطبوع می‌باشد. در مقایسه با سایر گونه‌های *Ziziphora* مقدار پولگون در اسانس *Z. clinopodioides* کمتر می‌باشد. به طوری که مقدار این ترکیب در *Z. persica* ۷۹/۳۳٪ و ۷۸/۱۴٪ در گونه *Z. tenuior* مقدار این ترکیب ۸۷/۸۰٪ گزارش شده است (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

- 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 (۱۶/۱٪)، در حالی که این ترکیب در سایر نمونه‌ها بسیار کم است و در نمونه قزوین (Z6) بسیار ناچیز است. نئومنتون در نمونه قزوین (Z7)، (۲۶٪) و ارسباران (۱۳/۱٪) درصد نسبتاً بالایی نسبت به سایر گونه‌ها دارد و در نمونه مربوط به ارومیه (Z5) مقدار بسیار ناچیز دارد. پیریتنون در نمونه قزوین (Z6) با ۱۶/۸٪ و در ارومیه (Z1) با ۹/۵٪ در مقایسه با سایر نمونه‌ها میزان بالایی است. این تفاوت و سایر تفاوت‌های مشاهده شده در جدول ۴ می‌تواند به دلیل تأثیر شرایط رویشگاه باشد، زیرا عوامل اکولوژیکی محل رویش گیاه می‌تواند در تغییرات کمی و کیفی متابولیت‌های ثانویه گیاه نقش عمده‌ای را ایفا نماید.
- منابع مورد استفاده**
- چیت‌ساز، م.، پرگر، ا.، نصری، م.، کمالی‌نژاد، م.، بازرگان، م.، منصوری، ص. و انصاری، ف.، ۱۳۸۶. تأثیر اسانس و آثار آنتی‌باکتریال عصاره هیدروالکلی و اسانس گیاه آویش باریک (*Ziziphora clinopodioides* LAM.) بر باکتریهای منتخب. دانشور ۱۴(۶۸): ۲۲-۱۵.
- زرگری، ع.، ۱۳۶۹. گیاهان دارویی (جلد چهارم). انتشارات دانشگاه تهران، ۹۶۹ صفحه.
- مهربان، 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.، ۱۳۸۶. مطالعه اثر ضد میکروبی عصاره کاکوتی کوهی بر باکتریهای مولد فساد و بیماری‌زای مواد غذایی. گیاهان دارویی، ۶(۲۳): ۵۱-۴۶.
- 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., Esmaili, 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 Scientia, 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 tenuis*, 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.

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

E. Modiri^{1*}, F. Sefidkon², Z. Jamzad² and A. Tavasoli³

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.), widely 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.