



Identification of volatile compounds in the hydrosol of *Nepeta crispa* Willd. from the three natural habitats of Iran

Mohammad Karami¹, Bita Bakhshi², Mohammad-Taghi Ebadi¹ and Mahdi Ayyari^{3*}

1- Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

2- Department of Bacteriology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

3*- Corresponding author, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran,
E-mail: m.ayyari@modares.ac.ir

Received: August 2023

Revised: June 2024

Accepted: July 2024

Abstract

Background and Objectives: *Nepeta crispa* Willd., commonly known as Mofarrah, is an endemic plant of Iran belonging to the Lamiaceae family. Its distribution in Iran is limited to the western region, specifically Hamadan province. In this study, the plant was collected from three habitats in Hamadan province, Arzanfood (Hamedan city), Gashani (Tuyserkhan city), and Piste Eski (Hamedan city) at elevations of 3021, 2783, and 2686 meters above sea level, respectively, during the flowering stage. The research aimed to investigate the essential oil content and water-soluble volatile compounds (hydrosol) of *N. crispa* and to compare these compounds across different habitats. The study also sought to identify variations in essential oil main components and hydrosol to evaluate the influence of ecological characteristics on the plant's chemical composition.

Methodology: The plant samples were shade-dried, and essential oil was extracted using a Clevenger apparatus for 3 hours. Water-soluble volatile compounds (hydrosol) were collected by leaving the exit part of the Clevenger open to condense vapor into liquid. The hydrosol was then separated using ethyl acetate solvent in a separatory funnel. The essential oil and hydrosol were analyzed using GC-FID and GC/MS.

Results: The essential oil yields from the Arzanfood, Gashani, and Piste Eski samples were 2.01%, 1.97%, and 1.82% (w/w), respectively. The concentration of water-soluble volatile compounds in the hydrosol were 0.15, 0.11, and 0.12 grams per 100 ml, respectively. The primary compounds identified in the essential oil were 1,8-cineole (49.4%, 48.5%, and 60%), 4 α ,7 β ,7 α -nepetalactone (27%, 3.7%, and 8.3%), 4 α ,7 α ,7 α -nepetalactone (0.1%, 23.5%, and 7.2%), and β -pinene (4.3%, 5.4%, and 6.1%) for Arzanfood, Gashani, and Piste Eski, respectively. In the hydrosol, the main components were 4 α ,7 β ,7 α -nepetalactone (74.1%, 40.3%, and 57.1%) and α -pinene oxide (4.6%, 7.1%, and 5.2%).

Conclusion: The variation in essential oil yield across different habitats highlights the impact of ecological factors on the quantity of essential oil. The highest essential oil yield (2.01%) was observed in the Arzanfood sample, which also has the highest elevation among the studied regions. A total of 22 compounds were identified in the essential oil, with 18, 20, and 17 compounds detected in the Arzanfood, Gashani, and Piste Eski samples, respectively. The dominant compound in the essential oil was 1,8-cineole, while 4 α ,7 β ,7 α -nepetalactone was



the most abundant compound in the hydrosol. This study marks the first report on the hydrosol analysis of *N. crispa* from different habitats.

Keywords: 1,8-Cineole, essential oil, endemic plant species, GC-MS, *Nepeta crispa* Willd.

شناسایی ترکیب‌های فرار موجود در عرق گیاه *Nepeta crispa* Willd. از سه رویشگاه طبیعی ایران

محمد کرمی^۱، بی‌تابخشی^۲، محمدتقی عبادی^۲ و مهدی عیاری^{۴*}

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

۲- دانشیار، گروه باکتری‌شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

۳- دانشیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

۴* - نویسنده مسئول، استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران، پست الکترونیک: m.ayyari@modares.ac.ir

تاریخ پذیرش: تیر ۱۴۰۳

تاریخ اصلاح نهایی: خرداد ۱۴۰۳

تاریخ دریافت: مرداد ۱۴۰۲

چکیده

سابقه و هدف: گیاه مُفَرَّاح با نام علمی *Nepeta crispa* Willd. از خانواده نعنائیان، از جمله گیاهان انحصاری ایران محسوب می‌شود. پراکندگی این گیاه در ایران محدود به غرب کشور (استان همدان) است. در این تحقیق، این گیاه از سه رویشگاه آرزان فود (شهرستان همدان)، گشانی (شهرستان تویسرکان) و پیست اسکی (شهرستان همدان) به ترتیب با ارتفاع ۳۰۲۱، ۲۷۸۳ و ۲۶۸۶ متر از سطح دریا در مرحله گل‌دهی جمع‌آوری و محتوای ترکیب‌های اسانس و ترکیب‌های فرار محلول در آب (عرق) آن ارزیابی شد. هدف از این مطالعه، مقایسه ترکیب‌های اسانس و عرق این گیاه در رویشگاه‌های مختلف به منظور شناسایی تفاوت‌های اجزای اصلی اسانس و عرق و تأثیر برخی ویژگی‌های اکولوژیکی بر ترکیب‌های فرار اصلی این گیاه است.

مواد و روش‌ها: نمونه‌های گیاهی خشک شده در سایه، به روش تقطیر با آب، توسط دستگاه کلونجر به مدت ۳ ساعت اسانس‌گیری شد. بعد از اتمام اسانس‌گیری و جمع‌آوری نمونه‌های اسانس، شیر قسمت خروجی کلونجر باز گذاشته شد تا مایع حاصل از میعان بخارات به عنوان نمونه عرق، جمع‌آوری شود. ترکیب‌های فرار محلول در آب این گیاه با استفاده از حلال اتیل استات جداسازی شد. اسانس و عرق حاصل با استفاده از دستگاه GC-FID و GC/MS تجزیه گردید.

نتایج: نمونه‌های جمع‌آوری شده از آرزان فود، گشانی و پیست اسکی، به ترتیب دارای ۲/۰۱، ۱/۹۷ و ۱/۸۲ درصد (وزنی/وزنی) اسانس بوده و ترکیب‌های فرار محلول در عرق آنها نیز به ترتیب ۰/۱۵، ۰/۱۱ و ۰/۱۲ گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر عرق بود. با اینکه ترکیب‌های اصلی اسانس مفرح ۸،۱-سینئول (۴۹/۴٪، ۴۸/۵٪ و ۶۰٪)، 4α,7β,7α-پیتالاکتون (۲۷٪، ۳/۷٪ و ۸/۳٪)، 4α,7α-پیتالاکتون (۰/۱٪، ۲۳/۵٪ و ۷/۲٪) و بتا-پینن (۴/۳٪، ۵/۴٪ و ۶/۱٪) به ترتیب در نمونه‌های آرزان فود، گشانی و پیست اسکی بدست آمد، اما ترکیب‌های عمده عرق این گیاه 4α,7β,7α-پیتالاکتون (۷۴/۱٪، ۴۰/۳٪ و ۵۷/۱٪)، آلفا-پینن اکسید (۴/۶٪، ۷/۱٪ و ۵/۲٪) و ترانس-پارا-منت-۶-ان-۸،۲-دی اول (۱/۵٪، ۳۲/۷٪ و ۸/۲٪) شناسایی شد.

نتیجه‌گیری: اختلاف بازده اسانس گیاه مفرح در رویشگاه‌های مختلف، نشان‌دهنده تأثیر ویژگی‌های اکولوژیکی بر کمیت اسانس می‌باشد. در این تحقیق بالاترین بازده اسانس مربوط به نمونه آرزان فود با مقدار ۲/۱٪ بود، در حالی که این منطقه دارای بالاترین ارتفاع از سطح دریا نسبت به سایر مناطق می‌باشد. به‌طورکلی ۲۲ ترکیب در اسانس این گیاه شناسایی شد. از این تعداد ترکیب‌ها در نمونه آرزان فود، گشانی و پیست اسکی به ترتیب تعداد ۱۸، ۲۰ و ۱۷ ترکیب شناسایی گردید. در حقیقت، ترکیب اصلی اسانس گیاه مفرح ۸،۱-سینئول و فراوان‌ترین ترکیب عرق آن 4α,7β,7α-پیتالاکتون می‌باشد. آنالیز عرق گیاه *N. crispa* برای اولین بار منتشر می‌شود.

واژه‌های کلیدی: ۸،۱-سینئول، اسانس، گونه گیاهی انحصاری، GC-MS، *Nepeta crispa* Willd.

مقدمه

خانواده نعناعیان یکی از خانواده‌های گیاهی بزرگ و دارای ۲۲۰ جنس و ۴۰۰۰ گونه در دنیا می‌باشد. گونه‌های این خانواده در سراسر جهان پراکنده‌اند ولی تجمع اصلی آنها در مناطق مدیترانه‌ای است. گیاهان این خانواده دارای صفات و ویژگی‌های بسیار بااهمیتی هستند (Jamzad, 2013). مصارف دارویی بیش از ۸۰ گونه از این خانواده در ایران به ثبت رسیده‌اند که ۱۲ گونه آنها متعلق به جنس *Nepeta* می‌باشد (Naghbi et al, 2005). در ایران ۶۹ گونه (۳۸ گونه انحصاری و ۳۱ گونه بومی) از این جنس وجود دارد. این جنس به صورت گسترده‌ای در آسیا و اروپا دیده می‌شود و تاکنون ۲۸۰ گونه از آن در دنیا شناسایی شده است. جنوب اروپا، منطقه مدیترانه، مرکز و جنوب آسیا مهم‌ترین زیستگاه‌های این جنس می‌باشند (Hussain et al, 2009; Sefidkon et al, 2006). گیاه مُفْرَاح با نام علمی *Nepeta crispa* Willd. گیاهی چند ساله، علفی با قاعده چوبی، گل‌ها بنفش رنگ و پوشیده از کرک از جمله گونه‌های این جنس می‌باشد. این گونه خودرو و انحصاری ایران بوده و در مناطق کوهستانی در منطقه ایرانی تورانی است. پراکندگی این گیاه در ایران محدود به غرب کشور (استان همدان) می‌باشد (Jamzad, 2013). گونه *N. crispa* به عنوان آرام‌بخش، مقوی معده، ضد نفخ و ضد عفونی‌کننده در رفع اختلالات تنفسی و گوارشی استفاده می‌شود. بدلیل خواص دارویی و بوی معطر در استفاده‌های سنتی به عنوان طعم‌دهنده در غذاها و نوشیدنی‌ها نیز استفاده می‌شود (Sonboli et al, 2004). تاکنون بررسی‌های متعددی در مورد اجزای اسانس گونه‌های مختلف نپتا موجود در ایران و سایر کشورها به عمل آمده است. هرچند که بر پایه این مطالعات ایزومرهای نپتالاکتون ترکیب عمده اسانس را در بیشتر گونه‌های این جنس تشکیل می‌دهد، با این حال در برخی از گونه‌ها ترکیب‌های دیگری مانند ۱،۸-سینئول، آلفا-پینن، گاما-ترپینن و بتا-کاریوفیلین به عنوان ترکیب‌های شاخص مطرح می‌باشند (Baiazandeh, 2006).

ترکیب‌های اسانس گیاه *N. crispa* شامل ۸،۱-سینئول و ایزومرهای نپتالاکتون می‌باشد (Sefidkon et al, 2006; Sonboli et al, 2004; Mojab et al, 2009). گزارشی از آنالیز اسانس این گیاه از میان ۲۳ ترکیب شناسایی شده، ۸،۱-سینئول (۴۷/۹٪) و 4αα,7β,7αα - نپتالاکتون (۲۰/۳٪) را فراوان‌ترین ترکیب‌ها معرفی کردند (Sonboli et al, 2004). در مطالعات Sefidkon و همکاران (۲۰۰۶) بر روی ترکیب‌های اسانس گیاه دارویی مفراح، ۲۸ ترکیب از اسانس این گیاه شناسایی و ۸،۱-سینئول (۶۲/۸٪)، 4αα,7α,7αα - نپتالاکتون (۱۰/۳٪)، 4αβ,7α,7αβ - نپتالاکتون (۹/۲٪)، بتا-پینن (۳/۶٪) و گاما-ترپینئول (۳/۳٪) به عنوان ترکیب‌های اصلی معرفی گردید (Sefidkon et al, 2006). در گزارش دیگر، گیاه دارویی مفراح، از کوهستان الوند در استان همدان جمع‌آوری و اسانس آن بررسی شد، دوازده ترکیب شناسایی شد که ترکیب‌های عمده آن ۸،۱-سینئول (۷۱٪)، آلفا-پینن (۵٪) و گاما-ترپینئول (۴/۱٪) می‌باشد. همچنین بازده اسانس ۰/۹ درصد گزارش شد (Mojab et al, 2009).

گیاهان دارویی منبع غنی از مواد مؤثره اصلی برای ساخت بسیاری از داروها می‌باشند. این مواد اگرچه اساساً با هدایت فرایندهای ژنتیکی ساخته می‌شوند، ولی ساخت آنها به‌طور بارزی تحت تأثیر عوامل محیطی قرار می‌گیرد. کیفیت و میزان متابولیت‌های یک گیاه در رویشگاه‌ها و مناطق مختلف تغییر می‌کند که دلیل این موضوع، نوسان فعالیت‌های متابولیکی گیاه در اثر عوامل مختلف محیطی است (Mehran et al, 2016; Nejadhabibvash et al, 2018). این تحقیق به منظور شناسایی و مقایسه ترکیب‌های اسانس و ترکیب‌های فرار محلول در آب گیاه *N. crispa*، جمع‌آوری شده از سه رویشگاه انجام شد. با توجه به اینکه عرقیات گیاهی در بازار گیاهان دارویی ایران یکی از اقلام پرمصرف هستند و استفاده سنتی از گیاه دارویی مفراح به شکل عرق بسیار مرسوم است، آنالیز ترکیب‌های موجود در عرق که

شهید بهشتی با کد MPH-2672 ثبت و نگهداری شد. گیاهان جمع‌آوری شده توسط آسیاب برقی خرد شده و بعد مقدار ۵۰ گرم از آنها برای استخراج اسانس توزین گردید. اسانس‌گیری به روش تقطیر با آب با استفاده از دستگاه کلونجر به مدت ۳ ساعت انجام شد. اسانس‌های بدست آمده پس از آب‌گیری با سدیم سولفات، در شیشه‌های مخصوص درون یخچال نگهداری شدند. جداسازی و شناسایی کیفی ترکیب‌ها با استفاده از کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC/MS) و اندازه‌گیری‌های کمی با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC) انجام شد.

ترکیب‌های فرار محلول در آب این گیاه را شامل می‌شود، بررسی گردید.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری گیاه و استخراج اسانس

اندام هوایی گیاه *N. crispa* در مرحله گلدهی در خرداد ۱۳۹۷ از رویشگاه‌های طبیعی مورد مطالعه که شامل سه منطقه در استان همدان بود جمع‌آوری گردید. مشخصات مناطق در جدول ۱ آمده است. گیاه پس از جمع‌آوری در شرایط سایه و دمای اتاق خشک شد. نمونه این گیاه نیز در هر بار یوم پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی دانشگاه

جدول ۱- ویژگی‌های جغرافیایی مناطق مورد مطالعه

Table 1. Geographical characteristics of the study areas

Habitat	Altitude(m(a.s.l))	Latitude	Longitude
Arzanfood (Hamedan)	3021	34° 35' 59.857"	48° 34' 38.988"
Gashani (Tuyserkhan)	2783	34° 39' 26.740"	48° 25' 52.724"
Piste Eski (Hamedan)	2686	34° 43' 7.115"	48° 26' 13.784"

دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC)

دستگاه گاز کروماتوگراف از نوع Agilent مدل 7890B، ستون HP-5 به طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۰/۳۲ میلی‌متر و ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر بود. برنامه‌ریزی حرارتی آن با ۶۰ درجه سانتی‌گراد شروع و بعد با افزایش دمای ۵ درجه در دقیقه ادامه یافت و در نهایت، به مدت ۲ دقیقه در دمای ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد حفظ شد. دمای تزریق ۲۵۰ درجه و دمای دتکتور FID، ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد بود. مقدار نمونه تزریق شده ۱ میکرولیتر با اتوسمپلر مدل Agilent G4513A، تزریق به صورت اسپیلیت با نسبت ۵۰ و گاز حامل هلیوم، با سرعت ۱/۱ میلی‌لیتر بر دقیقه بود (Salehi et al., 2015).

کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC/MS) و شناسایی ترکیب‌های اسانس

دستگاه کروماتوگراف گازی Termoquest- Finnigan متصل شده به دستگاه طیف‌سنج جرمی TRACE MS و

جزء‌گیری (fractionation)

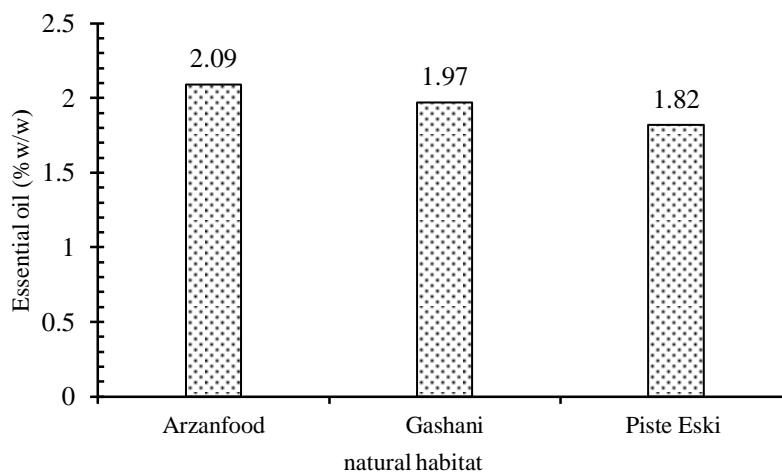
بعد از اتمام اسانس‌گیری و جمع‌آوری نمونه‌های اسانس، شیر قسمت خروجی کلونجر باز گذاشته شد تا مایع حاصل از میعان بخارات به عنوان نمونه عرق، جمع‌آوری شود. بعد از جمع‌آوری ۱۰۰ میلی‌لیتر از عرق، تمامی عرق بدست آمده داخل دکانتور ریخته شد و توسط ۱۰۰ میلی‌لیتر حلال اتیل استات جزء‌گیری انجام شد. جزء‌گیری در سه مرحله و هر بار با استفاده از ۳۳ میلی‌لیتر حلال اتیل استات انجام گردید. فاز اتیل استاتی حاوی ترکیب‌های آلی، در قسمت بالایی دکانتور قرار گرفته و جداسازی گردید. جزء‌های اتیل استاتی در سه مرحله روی هم ریخته شد و توسط سدیم سولفات آب‌گیری و بعد با استفاده از دستگاه روتاری تبخیر گردید. نمونه نهایی برای بدست آوردن بازدهی توزین و جهت تزریق به دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC/MS) و کروماتوگرافی گازی (GC) آماده‌سازی شد.

به رنگ زرد کم رنگ مشاهده شد. بازده اسانس (درصد وزنی/وزنی) نمونه‌های جمع‌آوری شده از مناطق مختلف محاسبه شده و در شکل ۱ نشان داده شده است. بالاترین بازده اسانس در این مطالعه مربوط به نمونه‌های جمع‌آوری شده از منطقه ارزان فود با مقدار ۲/۱٪ بود. در حالی که نمونه‌های جمع‌آوری شده از مناطق گشانی و پیست اسکی با مقادیر محتوای اسانس، به ترتیب ۲٪ و ۱/۸٪ نسبت به نمونه ارزان فود کمتر بودند. یادآوری می‌شود که این تفاوت در بازده اسانس نمونه‌های مناطق مختلف جمع‌آوری از نظر آماری اختلاف معنی‌داری نداشت. بازده جزء آلی عرق گیاه (ترکیب‌های فرار محلول در آب) به ازای ۱۰۰ میلی‌لیتر عرق نشان داده شده است (شکل ۲). بالاترین بازده جزء آلی عرق مربوط به نمونه ارزان فود با مقدار ۰/۱۵ گرم بر ۱۰۰ میلی‌لیتر عرق بود.

برنامه دمایی و دمای محفظه تزریق مشابه با کروماتوگراف گازی می‌باشد. انرژی یونیزاسیون برابر ۷۰ الکترون ولت بوده است. طول ستون مورد استفاده ۳۰ متر و قطر داخلی ستون ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر بود. نوع گاز حامل هلیوم با جریان ۱/۱ میلی‌لیتر بر دقیقه بوده است. شناسایی طیف‌ها به کمک محاسبه شاخص بازداری و مطابقت هر ترکیب با منابع از طریق تزریق هیدروکربن‌های نرمال (C8-C24) در شرایط یکسان با تزریق اسانس‌ها به دست آمد. همچنین مقایسه طیف‌های جرمی هر پیک با استاندارد موجود در کتابخانه دستگاه که شامل Adams و Wiley بود، انجام شد (Adams, 2007).

نتایج

اسانس بدست آمده از روش تقطیر با آب در تمامی نمونه‌ها

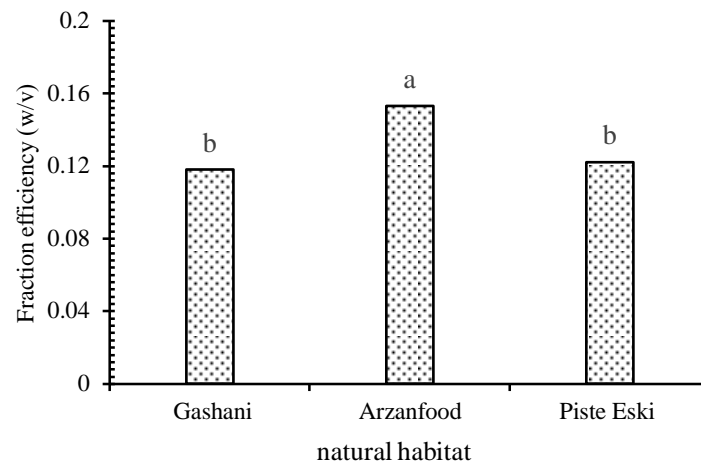


شکل ۱- مقایسه درصد اسانس (بازده) گیاه مفرح از سه منطقه مختلف

Figure 1. Comparison of the essential oil percentage (yield) of Mofarrah from three natural habitat

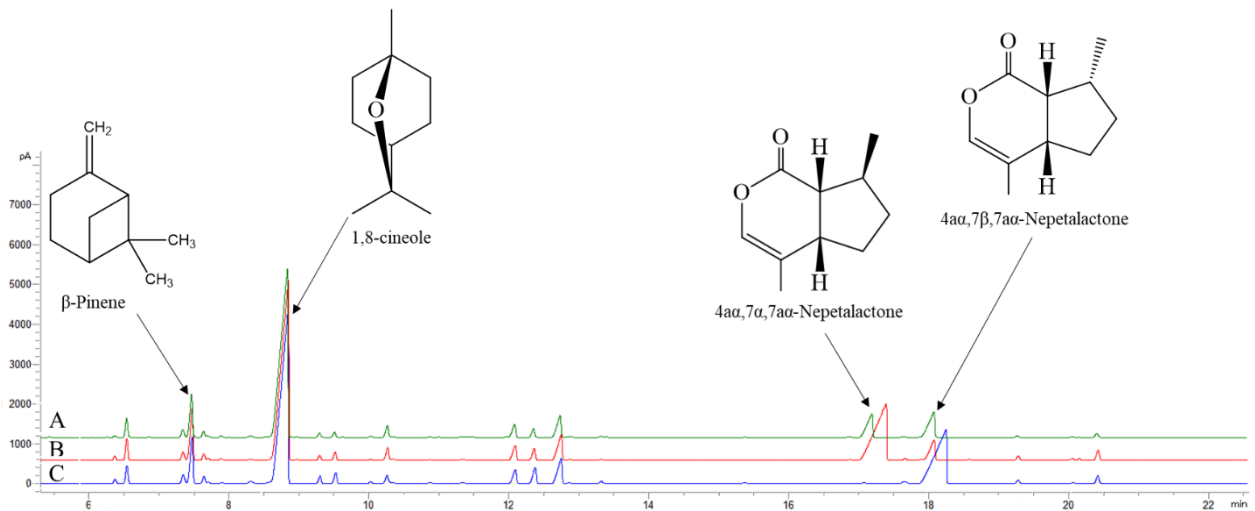
کروماتوگرام آنالیز ترکیب‌های فرار محلول در آب به همراه ساختار ترکیب‌های اصلی آن را نمایش می‌دهد.

شکل ۳ کروماتوگرام آنالیز اسانس و ساختار ترکیب‌های عمده گیاه دارویی مفرح را نشان می‌دهد. شکل ۴ نیز



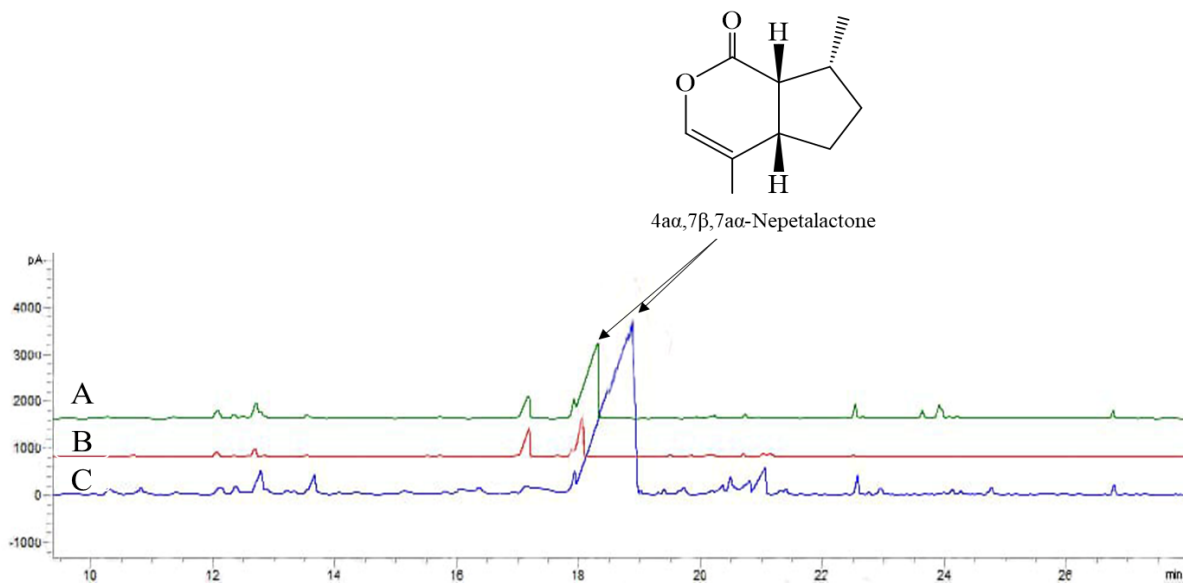
شکل ۲- مقایسه درصد محتوای جزء آلی حاصل از عرق گیاه مفراخ از سه منطقه مختلف

Figure 2. Comparison of the percentage organic component content from hydrosol of Mofarrah from three natural habitat



شکل ۳- کروماتوگرام GC مربوط به اسانس (A): پیستاسکی، (B): گشانی و (C): ارزانفود

Figure 3. GC chromatogram of Essential oil (A): Piste Eski (B): Gashani (C): Arzanfood



شکل ۴- کروماتوگرام GC مربوط به جزء آلی حاصل از عرق (A): پیست اسکی، (B): گشانی و (C): ارزانفود
Figure 4. GC chromatogram of hydrosol (A): Piste Eski (B): Gashani (C): Arzanfood

مونوترپنی در این گیاه به فراوانی یافت می‌شود، به طوری که عمده ترکیب‌های موجود در اسانس این گیاه در هر سه نمونه مربوط به دسته مونوترپن‌های اکسیژن‌دار می‌باشد، در حالی که سزکوئی‌ترین‌ها از درصد بسیار پایین‌تری برخوردار بودند. نتایج شناسایی ترکیب‌های فرار محلول در آب در نمونه‌های مختلف در جدول شماره ۳ آمده است. با توجه به نتایج بدست آمده، مشاهده شد که همانند اسانس این گیاه عمده ترکیب‌های مربوط به مونوترپن‌های اکسیژن‌دار می‌باشد، با این تفاوت که ترکیب اصلی در اسانس ۸،۱-سینئول بوده است، در حالی که این ترکیب در جزء آلی عرق دارای مقدار کم و در برخی نمونه‌ها یافت نشده است و عمده ترکیب جزء آلی عرق مربوط به 4α,7β,7α-نپتالاکتون بوده است.

در جدول ۲ ترکیب‌های شناسایی شده اسانس گیاه مفراح از سه رویشگاه طبیعی درج شده است. به طور کلی ۲۰ ترکیب در اسانس این گیاه شناسایی شد. از این تعداد ترکیب‌ها در نمونه ارزانفود، گشانی و پیست اسکی به ترتیب تعداد ۱۸، ۲۰ و ۱۷ ترکیب شناسایی گردید که این تعداد ترکیب‌ها شامل ۹۳/۹٪، ۹۵/۲٪ و ۹۶/۹٪ از اسانس این نمونه‌ها را شامل می‌شد. ترکیب‌های عمده در این نمونه، شامل ۸،۱-سینئول با مقدار (۴۹/۹٪، ۴۸/۵٪ و ۶۰٪)، 4α,7β,7α-نپتالاکتون با مقدار (۲۴/۷٪، ۳/۷٪ و ۸/۳٪)، 4α,7α,7α-نپتالاکتون با مقدار (۰/۱٪، ۲۳/۵٪ و ۷/۲٪) و ترکیب بتا-پینن با مقدار (۵/۴٪، ۵/۴٪ و ۶/۱٪) به ترتیب در نمونه‌های ارزانفود، گشانی و پیست اسکی مشاهده شد. همان طور که در جدول ۳ نشان داده شده است، ترکیب‌های

جدول ۲- درصد ترکیب‌های اسانس گیاه *Nepeta crispa willd* جمع‌آوری شده از رویشگاه طبیعی

Table 2. Percentage of essential compounds of *Nepeta crispa* collected from natural habitat

No.	Compounds	RI	natural habitat		
			Arzanfood	Gashani	Piste Eski
1	α -thujene	926	0.4	0.4	0.2
2	α -pinene	933	1.8	1.9	2.4
3	sabinene	973	1.1	0.9	1.1
4	β -pinene	978	5.4	5.4	6.1
5	meta-mentha-1(7),8-diene	992	0.1	0.2	0.8
6	1,8-cineole	1034	49.9	48.5	60
7	γ -terpinene	1068	1.2	0.8	0.6
8	linalool	1102	1.1	1.4	1.8
9	isopentyl isovalerate	1106	0.1	0.2	0.2
10	(E)-epoxy ocimene	1143	0.2	0.2	0.2
11	ρ -mentha-1,5-dien-8-ol	1171	1.9	1.9	1.9
12	myrtenol	1197	4.4	4.1	4.6
13	myrtenal	1201	0.1	0.2	0.3
14	4 α ,7 α ,7 α -nepetalactone	1366	0.1	23.5	7.2
15	4 α ,7 β ,7 α -nepetalactone	1401	24.7	3.7	8.3
16	(E)-caryophyllene	1419	-	0.1	-
17	(E)- β -farnesene	1455	0.4	0.4	0.3
18	phenyl ethyl 2-methylbutanoate	1489	0.1	0.3	-
19	phenyl ethyl 3-methylbutanoate	1492	-	0.2	-
20	(Z)- α -bisabolene	1501	0.9	1.1	0.8
21	Monoterpene Hydrocarbon		9.9	9.6	10.6
22	Oxygenated Monoterpene		82.5	83.4	85
23	Sesquiterpene Hydrocarbon		1.3	1.5	1.1
24	Oxygenated Sesquiterpene		-	0.1	-
25	Others		0.2	0.7	0.2
	Total		93.9	95.2	96.9

بحث

عوامل محیطی از جمله ارتفاع از سطح دریا بر روی ترکیب‌های و درصد اسانس این گیاه تأثیر معنی‌داری داشته است، به طوری که در مقایسه بسیاری از مناطق با افزایش ارتفاع، درصد اسانس نیز افزایش یافته است (Hemmati & Hemmati, 2020). بررسی تأثیر شرایط محیطی بر میزان و ترکیب‌های شیمیایی روغن اسانسی گیاه پونه آبی *Mentha aquatica* L. از رویشگاه‌های مختلف استان مازندران نشان داد.

اختلاف بازده اسانس گیاه مفرح در رویشگاه‌های مختلف، نشان‌دهنده تأثیر ویژگی‌های اکولوژیک بر کمیت اسانس می‌باشد. در این تحقیق بالاترین میزان بازدهی اسانس مربوط به نمونه ارزان‌فود با مقدار ۲/۱٪ بود، در حالی که این منطقه دارای بالاترین ارتفاع از سطح دریا نسبت به سایر مناطق می‌باشد. در بررسی اثر رویشگاه‌های مختلف شهرستان آمل بر صفات مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی گیاه *Mentha longifolia* L. مشاهده شد که عوامل

جدول ۳- درصد ترکیب‌های فرار حاصل از عرق گیاه *Nepeta crispa* جمع‌آوری شده از رویشگاه طبیعی

Table 3. The percentage of volatile compounds from the hydrosol of *Nepeta crispa* collected from natural habitat

No.	Compounds	RI	natural habitat		
			Arzanfood	Gashani	Piste Eski
1	1,8-cineole	926	1.3	-	-
2	α -pinene oxide	933	4.6	7.1	5.2
3	ρ -mentha-1,5-dien-8-ol	973	0.6	3.1	2.1
4	myrtenol	978	1.8	6.3	4.9
5	(E)-ocimenone	992	0.5	-	-
6	(Z)-ocimenone	1034	1.4	-	0.8
7	iso-dihydro carveol acetate	1068	0.2	-	-
8	trans-p-menth-6-en-2,8-diol	1102	1.5	32.7	8.2
9	4 α ,7 β ,7 α -nepetalactone	1106	74.1	40.3	57.1
10	Oxygenated Monoterpene		84.6	89.5	77.5
11	Oxygenated Sesquiterpene		1.4	-	0.5
Total			86	83.6	92

تحقیق ۲۲ ترکیب شناسایی شد که عمده ترکیب‌های ۸،۱-سینئول، ایزومزهای نپتالاکتون، بتا-پینن و میرتنول بودند. ۸،۱-سینئول بیشترین مقدار را در بین ترکیب‌های اسانس این گیاه به خود اختصاص داده بود و در مقادیر متفاوتی در نمونه‌های جمع‌آوری شده از رویشگاه‌ها وجود داشت. بررسی ترکیب‌های اسانس گیاه مفرح جمع‌آوری شده از منطقه گنج‌نامه با ارتفاع ۲۶۰۰ متر از سطح دریا واقع در کوهستان الوند توسط Sefidkon و همکاران (۲۰۰۶) نشان داد از میان ۲۶ ترکیب شناسایی شده بالاترین مقدار مربوط به ترکیب ۸،۱-سینئول با مقدار ۶۲/۸٪ می‌باشد (Sefidkon *et al.*, 2006). همچنین مقدار این ترکیب در اسانس اندام هوایی گیاه مفرح جمع‌آوری شده توسط Sonboli و همکاران (۲۰۰۴)، ۴۷/۹٪ گزارش شد که از تمامی مناطق جمع‌آوری شده در این تحقیق کمتر بوده است (Sonboli *et al.*, 2004). در گزارش‌های دیگر از اسانس این گیاه نیز، ترکیب ۱،۸-سینئول به عنوان ترکیب اصلی گزارش شده است (Mojab *et al.*, 2009; Azar *et al.*, 2012). از جمله موارد تفاوت در آنالیز اسانس این گیاه در تحقیقات مختلف، می‌توان به تفاوت در محل جمع‌آوری، مرحله و

عوامل محیطی و ویژگی‌های خاک منطقه بر روی بازدهی، تعداد ترکیب‌ها و مقدار هریک از اجزای اسانس مؤثر بوده، به طوری که تعداد ترکیب‌های اسانس این گیاه از تعداد ۲۶ تا ۳۴ ترکیب مشاهده شد و ترکیب‌هایی همانند اکالیپتول یا همان ۸،۱-سینئول مقدار متفاوتی را در مناطق مختلف داشته است (Mohsenpour *et al.*, 2017). Mazaraie و Fahmideh (۲۰۲۰) در ارزیابی و مقایسه فیتوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی ۳ گونه دارویی پرمصرف شامل آویشن شیرازی، بومادران و بابونه آلمانی بیان کردند که تفاوت در میزان ترکیب‌های ثانوی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی نشان‌دهنده اثر ارتفاع رویشگاه بر کمیت و کیفیت مواد مؤثره گونه‌ها می‌باشد (Mazaraie & Fahmideh., 2020). بررسی تأثیر ویژگی‌های اکولوژیک بر کمیت و کیفیت اسانس گل و برگ بومادران نیز نشان داد، اختلاف معنی‌داری بین طبقات ارتفاعی از نظر بازده اسانس گل وجود ندارد. در حالی که با افزایش ارتفاع در بازده اسانس برگ اختلاف معنی‌داری مشاهده شد و تعداد ترکیب‌های موجود در گل با افزایش ارتفاع افزایش یافت، اما ترکیب‌های برگ کاهش پیدا کرد (Azarnivand *et al.*, 2009). در این

Bellahsene و همکاران (۲۰۱۵) در بررسی ترکیب‌های اسانس و عرق گونه *Nepeta nepetella* subsp. amethystina گزارش کردند، دو ترکیب $4\alpha,7\alpha,7\beta$ -نپتالاکتون و $4\alpha,7\alpha,7\alpha$ -نپتالاکتون فراوان‌ترین ترکیب‌های موجود در اسانس و عرق این گیاه بوده است، این در حالی است که تعداد ترکیب‌های شناسایی شده در عرق این گیاه (۱۸ ترکیب)، همانند این تحقیق، کمتر از تعداد ترکیب‌های شناسایی شده در اسانس (۳۴ ترکیب) بوده است (Bellahsene et al., 2015). مونوترپن‌های اکسیژن‌دار فراوان‌ترین دسته ترکیب‌ها در بین ترکیب‌های اسانس و در میان ترکیب‌های فرار محلول در آب این گیاه می‌باشند. در بررسی ترکیب‌های اسانس ۸ گونه از گیاهان جنس نپتا مشخص شد که مونوترپن‌های اکسیژن‌دار فراوان‌ترین دسته ترکیب‌های فرار در این گونه‌های مورد بررسی بوده است (Talebi et al., 2020). با توجه به نتایج بدست آمده می‌توان گفت با شناسایی ترکیب‌های موجود در اسانس گیاه *N. crispa* و مقایسه آن با ترکیب‌های عرق آن، در کنار شباهت بین نوع ترکیب‌ها، اختلاف قابل توجهی در درصد فراوانی آنها وجود دارد. با توجه به اینکه امروزه عرق گیاه مفرح به صورت محلی استفاده‌های زیادی دارد، با این حال شناخت خیلی محدودی در زمینه نوع ترکیب‌های آن وجود دارد. این تحقیق سعی داشت علاوه بر بیان اهمیت این گیاه دارویی که از جمله گیاهان انحصاری ایران محسوب می‌شود، روشی برای جداسازی و آنالیز ترکیب‌های فرار محلول در آب این گیاه را نیز نشان بدهد. هر چند عرق گیاهان که در بازار موجود می‌باشد و با استفاده از دستگاه‌های عرق‌گیری بدست می‌آیند می‌تواند متفاوت از این نوع جمع‌آوری عرق باشد. با این حال، در این گزارش، محلولیت ایزومرهای نپتالاکتون در عرق این گیاه نسبت به ترکیب $8,1$ -سینئول به وضوح قابل اثبات می‌باشد.

References

- Adams, R.P., 2007. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass

زمان برداشت و نحوه خشک کردن اشاره کرد. بررسی‌های انجام شده در گونه‌های دیگر این جنس نشان می‌دهد که عمده ترکیب‌های اسانس این گیاهان مربوط به ایزومرهای نپتالاکتون ترکیب عمده اسانس را در بیشتر گونه‌های این جنس تشکیل می‌دهد، با این حال در برخی از گونه‌ها ترکیب‌های دیگری مانند $1,8$ -سینئول، آلفا-پینن، گاما-ترپینن و بتا-کاریوفیلن به عنوان ترکیب‌های شاخص مطرح می‌باشند (Baiazandeh, 2006). در گزارشی از ترکیب‌های اسانس ۵ گونه از گیاهان جنس *Nepeta* مشخص شد در گونه‌های *N. melissifolia* و *N. sibirica* ترکیب $1,8$ -Cineole و در گونه‌های *N. cataria* L. var. *citriodora*، *N. nuda* و *N. transcaucasica* مشتقات نپتالاکتون دارای بالاترین مقدار در بین ترکیب‌های اسانس این گیاهان هستند (Baranauskiene et al., 2019). نتایج شناسایی ترکیب‌های اسانس و ترکیب‌های فرار محلول در آب گیاه مفرح نشان می‌دهد ایزومرهای نپتالاکتون از جمله ترکیب‌های عمده این گیاه می‌باشند. از جمله ایزومرهای نپتالاکتون ترکیب $4\alpha,7\alpha,7\alpha$ -نپتالاکتون می‌باشد که مقدار این ترکیب در نمونه جمع‌آوری شده از رویشگاه گشانی دارای بالاترین مقدار در مقایسه با نمونه‌های دیگر بود. این ترکیب در اسانس گیاه مفرح با مقدارهای $20/3\%$ و $10/3\%$ در مطالعات دیگر نیز گزارش شده است (Sonboli et al., 2004؛ Sefidkon et al., 2006). مقدار ترکیب $4\alpha,7\alpha,7\alpha$ -نپتالاکتون در نمونه‌های ارزان‌فود و پیست اسکی به $0/1\%$ و $7/2\%$ کاهش پیدا کرد. در مطالعه بررسی متابولیسم ایزومرهای نپتالاکتونی تحت استرس کم آبی مشاهده شد، با ایجاد تنش‌های آبی، تولید حجم توده گیاهی و بازده نپتالاکتون‌ها در دو گونه *Nepata rtanjensis* و *Nepata argolica* بررسی شد. افزایش تنش آبی باعث کاهش نپتالاکتون‌ها در دو گونه شده و بیان شد که ژن‌های مؤثر در بیوسنتز نپتالاکتون‌ها و فاکتورهای ترانسکریپشن کاهش فعالیت داشته‌اند (Aničić et al., 2020). با توجه به این نتایج می‌توان گفت کاهش میزان آب در گیاه و عوامل دیگر اکولوژیک می‌تواند بر میزان نپتالاکتون‌ها مؤثر باشد.

- phytochemical and antioxidant activity of three widely-used medicinal plant in natural habitats of Fars province. *Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants*, 8: 90-105.
- Mehran, M., Hoseini, H., Hatami, A. and Taghizade, M., 2016. Investigation of components of seven Species of Thyme Essential oils and comparison of their antioxidant properties. *Journal of Medicinal Plants*, 2: 134-140.
 - Mohsenpour, M., Vafadar, M., Vatankhah, E. and Meighani, H., 2017. The impact of the environmental factors on yield and chemical compositions of essential oil of water mint, *Mentha aquatica* L. from different habitats of Mazandaran province. *Journal of Plant Research*, 30: 440-451.
 - Mojab, F., Nickavar, B. and Hooshdr Tehrani, H., 2009. Essential Oil Analysis of *Nepeta crispa* and *N. menthoides* from Iran. *Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 5: 43-46.
 - Naghibi, F., Mosadegh, M., Mohammadi, M. S. and Ghorbani, A. B., 2005. Labiatae family in folk medicine in Iran: from ethnobotany to pharmacology (*IJPR*), 4: 63-79.
 - Nejadhabibvash, F., Rezaee, M. B., Mahmudi, A. and Jaimand, K., 2018. Effect of Harvesting Time on Content and Chemical Composition of Essential Oil from *Stachys lavandulifolia* Vahl (Lamiaceae). *Journal of Medicinal plants and By-product*, 7: 181-187.
 - Salehi, P., Abedini, N., Sonboli, A., Aliahmadi, A. and Ayyari, M., 2015. Chemical composition and antimicrobial activity of *Ajania semnanensis* essential oil in two growing stages. *Journal of Essential Oil Research*, 27: 96-100.
 - Sefidkon, F., Jamzad, Z. and Mirza, M., 2006. Chemical composition of the essential oil of five Iranian *Nepeta* species (*N. crispa*, *N. mahanensis*, *N. isphahanica*, *N. eremophila* and *N. rivularis*). *Flavour and Fragrance Journal*, 21: 764-767.
 - Sonboli, A., Salehi, P. and Yousefzadi, M., 2004. Antimicrobial activity and chemical composition of the essential oil of *Nepeta crispa* Willd. From Iran. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 59: 653-656.
 - Talebi, S.M., Nohooji, M.G., Yarmohammadi, M., Khani, M. and Matsyura, A., 2019. Effect of altitude on essential oil composition and on glandular trichome density in three *Nepeta* species (*N. sessilifolia*, *N. heliotropifolia* and *N. fissa*). *Mediterranean Botany*, 40: 81-93.
 - Spectrometry. Allured Publishing Corporation, Carol Stream, 456p.
 - Aničić, N., Matekalo, D., Skorić, M., Živković, J.N., Petrović, L., Dragičević, M. and Mišić, D., 2020. Alterations in nepetalactone metabolism during polyethylene glycol (PEG)-induced dehydration stress in two *Nepeta* species. *Phytochemistry*, 174: 112340.
 - Azar, P.A., Porgham-Daryasari, A., Saber-Tehrani, M., and Soleimani, M., 2012. Analysis of the volatile compounds in *Nepeta crispa* willd. Using improved HS-SPME-GC-MS and comparison with conventional methods. *Acta Chromatographica*, 24: 75-84.
 - Azarnivand, H., Ghavam Arvani, M., Sefidkon, F. and Tului, A., 2009. Investigating the effect of ecological characteristics (soil and altitude) on the quality and quantity of essential oils of *Achillea millefolium* L. subsp. *Millefolium*. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 25: 556-571.
 - Baiazandeh, M.M., 2006. Essential oil composition of *Nepeta menthoides* Boiss. Et Bushe from Iran. *Journal of Essential oil research*, 18: 144-145.
 - Baranauskienė, R., Bendžiuvienė, V., Ragažinskienė, O. and Venskutonis, P.R., 2019. Essential oil composition of five *Nepeta* species cultivated in Lithuania and evaluation of their bioactivities, toxicity and antioxidant potential of hydrodistillation residues. *Food and Chemical Toxicology*, 129: 269-280.
 - Bellahsene, C., Bendahou, M., Khadir, A., Zenati, F., Benbelaïd, F., Aissaoui, N. and Costa, J., 2015. Antimicrobial activity and chemical composition of essential oil and hydrosol extract of *Nepeta nepetella* subsp. *amethystina* (Poir.) Briq. from Algeria. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 5: 21-25.
 - Hemmati, K. and Hemmati, N., 2020. Study of the Effect of Habitat on Morphological and Phytochemical Traits of Horsemint (*Mentha longifolia* L.). *Journal of Horticultural Science*, 33: 698-710.
 - Hussain, J., Jamila, N., Gilani, S.A., Abbas, G. and Ahmed, S., 2009. Platelet aggregation, antiglycation, cytotoxic, phytotoxic and antimicrobial activities of extracts of *Nepeta juncea*. *African Journal of Biotechnology*, 8: 935-940.
 - Jamzad, Z., 2013. A survey of *Lamiaceae* in the flora of Iran. *Rostaniha*, 14: 59-67.
 - Mazaraie, A. and Fahmideh, L., 2020. Evaluation of