● مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی کرمان، دورهٔ شانزدهم، شمارهٔ ۱، ص ۸۶-۷۹، ۱۳۸۷

مقالهٔ پژوهشی

شناسایی مواد تشکیل‌دهنده و بررسی اثرات آنتی‌اکسیدانی اسانس و عصاره متانولی گیاه کاکوتی کوهی (*Ziziphora clinopodioides* Lam) در مرحله قبل از گلدهی

دکتر حمزه امیری[1]

خلاصه

مقدمه: کاکوتی کوهی *(Ziziphora clinopodioides)* گیاهی است متعلق به تیره نعناع که بخش‌های هوایی آن به عنوان ادویه و در طب سنتی در درمان سرماخوردگی و سرفه به کار می‌رود.

روش: اسانس به دست آمده از بخش‌های هوایی این گیاه توسط روش تقطیر با آب به وسیله دستگاه GC و GC/MS مورد آنالیز قرار گرفت. عصاره‌های متانولی بخش‌های هوایی گیاه نیز با روش Lin و همکاران تهیه شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی احتمالی اسانس و عصاره متانولی گیاه با استفاده از ۲ و ۲- دی فنیل-۱- پیکریل هیدرازیل (DPPH) و بتاکاروتن- لینولئیک اسید مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: در مجموع ۲۳ ترکیب که ۹۸/۶٪ از کل اسانس را شامل می‌شدند مورد شناسایی قرار گرفتند. ترکیبات اصلی آن به‌ترتیب شامل پولگون (۳۰/۱٪)، تیمول (۲۱/۳٪)، پارا-منتا- ۳-ان-۸-ال (۱۲/۹٪)، پیپریتنون (۹/۳٪)، و ۱ و ۸- سینئول (۴/۱٪) بود. در سیستم DPPH میزان IC_{50} برای فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های متانولی ۲۱/۴µg/ml بود در حالی که میزان IC_{50} برای اسانس ۵۵/۳µg/ml به دست آمد. در روش بتاکاروتن- لینولئیک اسید فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی و اسانس به ترتیب ۸۹/۳٪ و ۶۱/۶٪ می‌باشد.

نتیجه‌گیری: این مطالعه ضمن شناسایی مواد تشکیل‌دهنده گیاه فوق نشان داد که به‌طورکلی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی در مقایسه با اسانس بیشتر است.

واژه‌های کلیدی: *Ziziphora clinopodioides*، اسانس، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، عصاره متانولی

۱- استادیار گروه زیست‌شناسی، دانشگاه لرستان ● **آدرس پست الکترونیک:** amiri_h_lu@yahoo.com

دریافت مقاله: ۱۳۸۷/٤/۱۲ **دریافت مقاله اصلاح شده:** ۱۳۸۷/۷/۲۱ **پذیرش مقاله:** ۱۳۸۷/۸/۱

مقدمه

بی‌شک توسل به گیاهان دارویی، کهن‌ترین رهیافت بشر برای درمان بیماری‌ها بوده است و در خلال توسعه تمام تمدن‌های بشری همواره ارتباطی تنگاتنگ بین آدمی و گیاه وجود داشته است. با این حال هنوز بیشتر گونه‌های گیاهی بررسی نشده و ناشناخته مانده‌اند و هنوز زمان زیادی مانده است تا منابع جدید و با ارزش گیاهی کشف شوند. بنابراین گیاهان را می‌توان به عنوان منبعی از مواد شیمیایی بالقوه مفید دانست که تنها بخشی از آن مورد بهره‌برداری قرار گرفته است. این مواد شیمیایی بالقوه مفید را می‌توان نه تنها به عنوان دارو بلکه به عنوان الگویی بی‌نظیر به عنوان نقطه شروعی برای ساخت آنالوگ‌های دارویی به کار برده و همچنین به عنوان ابزاری جالب به منظور فهم و درک بیشتر و بهتر پدیده‌های زیست شناختی به کمک گرفت (۱).

رادیکال‌های آزاد، واکنش گرهای بسیار قوی هستند که تمایل زیادی برای گرفتن الکترون وجفت کردن الکترون‌های خود دارند، لذا باعث می‌شوند تا دیگر مولکول‌ها آسیب ببینند یا عملکرد خود را از دست بدهند. خسارت‌های ناشی از واکنش‌های اکسیداتیو به DNA، پروتئین و سایر مولکول‌ها می‌تواند باعث پیشرفت و تشدید بیماری‌های قلبی عروقی، سرطان، پیری، کاتاراکت، خونریزی کبدی و ایدز گردد (۲،۳). همچنین رادیکال‌های آزاد در مکانیسم عمل برخی از آنزیم‌های هم دار سیتوکروم شرکت می‌کنند (۴). رادیکال‌های آزاد می‌توانند از منابع اگزوژن بر اثر استرس‌های اکسیداتیو تولید شوند (۵). از جمله حساس‌ترین هدف‌های پراکسیدانت‌ها می‌توان از اسیدهای چرب موجود در غشاهای بیولوژیک نام برد. اکسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع منجر به کاهش سیالیت غشاء و از بین رفتن ساختمان و عملکرد آن می‌شود که در پاتوژنز بسیاری از بیماری‌ها دخالت دارد. در نتیجه پراکسیداسیون لیپیدها، اسیدهای چرب غیر اشباع تغییر شکل می‌دهند و در نتیجه سیالیت و پتانسیل غشای لیپیدی کاهش می‌یابد که منجر به تغییر نفوذپذیری غشاهای سلولی می‌شود. از سوی دیگر پراکسیداسیون لیپیدها بر آنزیم‌های غشایی تاثیر گذاشته، در روند انتقال یون‌ها و نیز رهاسازی مواد داخل سلولی تغییراتی ایجاد می‌شود. همچنین متابولیت‌های سیتوتوکسیک حاصل از پراکسیدهای لیپیدی در اکسیداسیون پروتئین‌های موجود در LDL اهمیت به‌سزایی دارند (۶). این روند در پاتوژنز آرترواسکلروز اهمیت ویژه‌ای دارد. با توجه به عوارض سوء رادیکال‌های آزاد، استفاده از ترکیبات آنتی‌اکسیدان ضروری به نظر می‌رسد. آنتی‌اکسیدان‌ها قادرند در مقادیر کم، غشاهای سلولی و ترکیبات مختلف موجود زنده را در مقابل اکسیدان‌ها حفظ کنند (۷). نکته حائز اهمیت آن است که بین عوامل اکسید کننده و آنتی‌اکسیدان تعادل وجود داشته باشد تا شرایط بهینه فیزیولوژیکی در بدن حفظ گردد. تولید بیش از حد عوامل اکسیدکننده (مخصوصاً در عفونت‌های مزمن باکتریایی، ویروسی و انگلی) می‌تواند باعث عدم تعادل یا اصطلاحا تنش اکسایشی شود(۸).

جنس *Ziziphora* متعلق به تیره نعناع و دارای چهارگونه‌ی *Z. clinopodioides* Lam, *Z. capitata* L., *Z. persica Bunge.*, و *Z. tenuior* L. در ایران بوده که در اغلب نواحی ایران دیده می‌شوند (۹). *Z. clinopodioides* Lam در ایران با نام محلی کاکوتی کوهی شناخته می‌شود و دارای ۹ زیر گونه بومی در ایران است. در طب سنتی دم کرده گونه‌های مختلف آن را به عنوان مسکن، ضد نفخ و ضد دل درد بکار می‌برند. در ایران بخش‌های هوایی کاکوتی کوهی را به عنوان ادویه و همچنین برای درمان سرماخوردگی و سرفه مورد استفاده قرار می‌دهند (۱۰).

هدف از این پژوهش شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس گیاه *Z. clinopodioides* Lam در مرحله قبل از گلدهی و مقایسه آن با مرحله گلدهی و همچنین بررسی ترکیبات این اسانس در استان لرستان بود که برای اولین بار انجام

می‌شود. در ضمن مطالعه اثرات آنتی‌اکسیدانی گیاه رشد یافته در استان لرستان و مقایسه نتایج آن با سایر بررسی‌های صورت گرفته در مناطق دیگر از اهداف دیگر این پژوهش به‌شمار می‌آید.

روش بررسی

روش استخراج اسانس

الف) تهیه نمونه گیاهی و استخراج اسانس: گیاه *Z. clinopodioides* Lam در اردیبهشت ماه ۱۳۸۶ از گردنه رازان در ۵۵ کیلومتری شهرستان خرم آباد در مرحله قبل از گلدهی جمع‌آوری گردید و در مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان لرستان با کد ۵۱۴۵ مورد شناسایی قرار گرفت. بخش‌های هوایی گیاه پس از خشک کردن در سایه جهت اسانس‌گیری با روش تقطیر با آب و توسط دستگاه کلونجر به مدت ۲ ساعت مورد استفاده قرار گرفت.

ب) تهیه عصاره متانولی:۱۰۰گرم بخش هوایی گیاه در ۱ لیتر متانول خیسانده شد و به وسیله سوکسله در دمای زیر نقطه جوش به مدت ۷۲ ساعت مورد عصاره‌گیری قرار گرفت. عصاره حاصل به وسیله کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صاف شد و سپس توسط دستگاه روتاری در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد تغلیظ گردید (۱۱).

ج) تفکیک و شناسایی مواد متشکله اسانس: آنالیز GC با دستگاه کروماتوگراف گازی مدل Shimadzu 15A صورت گرفت. از N_2 به عنوان گاز حامل با سرعت (یک میلی‌لیتر در دقیقه) و ستون DB-5 (۵۰m×۰/۲mm 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 نرم‌افزار کروماتوپک C-R4A بدون استفاده از فاکتور تصحیح از سطح زیر منحنی برآورد شد.

آنالیزهای GC/MS با استفاده از دستگاه Hewlett-pakard 5973 مجهز به ستون HP-5MS (۰/۲۵mm×۳۰m و ضخامت ۰/۲۵µm) صورت گرفت. دمای ستون برای ۳ دقیقه در دمای ۶۰°C نگهداری و تا ۲۲۰°C با سرعت ۵°C در دقیقه افزایش یافت و برای ۵ دقیقه در ۲۲۰°C نگهداری شد. گاز هلیم با سرعت جریان یک میلی‌لیتر در دقیقه به عنوان گاز حامل ۷۰eV مورد استفاده قرار گرفت.

شناسایی مواد متشکله اسانس به وسیله مقایسه طیف جرمی و اندیس بازداریشان با آنچه که در منابع وجود دارد صورت گرفت (۱۲).

د) اندازه‌گیری ترکیبات فنلی: اندازه‌گیری ترکیبات فنلی به وسیله روش‌هایی که از Folin-Ciocalteu به عنوان معرف و اسیدگالیک به عنوان استاندارد استفاده می‌نمایند صورت گرفت. ۰/۱ میلی‌لیتر محلول عصاره با ۴۶ میلی‌لیتر آب مقطر و ۱ میلی‌لیتر معرف Folin-Ciocalteu با هم مخلوط و کاملا تکان داده شد. پس از ۳ دقیقه، ۳ میلی‌لیتر محلول ۲٪ کربنات سدیم اضافه و مخلوط حاصل طی ۲ ساعت به‌طور متناوب تکان داده شد. جذب نمونه‌ها نیز در طول موج ۷۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. همین روش برای کلیه محلول‌های استاندارد اسید گالیک وتهیه منحنی استاندارد به‌کار برده شد (۱۱).

ه) فعالیت آنتی‌اکسیدانی: بررسی فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی با دو روش زیر صورت گرفت:

۱) روش DPPH: فعالیت اتم‌های هیدروژن و الکترون عصاره‌ها و بعضی از ترکیبات خالص از طریق بی‌رنگ شدن عصاره‌های متانولی ارغوانی رنگ DPPH اندازه‌گیری می‌شود. در این روش اسپکتروفوتومتری از رادیکال‌های آزاد دی فنیل پیکریل هیدرازیل (DPPH) به عنوان معرف استفاده می‌شود. ۵۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف اسانس مورد استفاده به ۵ میلی‌لیتر محلول متانولی ۰/۰۰۴٪ DPPH اضافه می‌گردد. بعد از ۳۰ دقیقه جذب نمونه‌ها در طول موج

۵۱۷ نانومتر خوانده می‌شود. بازدارندگی رادیکال‌های آزاد از طریق رابطه زیر محاسبه گردید:

$$I\% = (A_{blank} - A_{sample}/A_{blank})$$

که در این رابطه A_{blank}، جذب واکنش کنترل (دارای تمام معرف‌ها به‌جز غلظت مشخص از اسانس مورد نظر) می‌باشد. مقادیر IC_{50} بیانگر غلظتی از اسانس است که باعث ۵۰٪ بازدارندگی فرآیندهای اکسیداتیو می‌گردد (۱۱).

۲) روش β- کاروتن-لینولئیک اسید: در این روش فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس‌ها به وسیله آزمایش بی‌رنگ شدن β- کاروتن صورت می‌گیرد. برای تهیه محلول استوک بتا کاروتن-لینولئیک اسید، ۰/۵ میلی‌گرم بتا کاروتن در ۱ میلی‌لیتر کلروفرم حل شد و ۲۵ میکرولیتر لینولئیک اسید و ۲۰۰ میلی‌گرم توین ۴۰ اضافه گردید. با استفاده از دستگاه تبخیر در خلا کلروفرم به‌طور کامل تبخیر گردید. سپس ۱۰۰میلی‌لیتر آب مقطر اشباع از اکسیژن اضافه و ظرف حامل به شدت تکان داده شد. سپس ۲۵۰۰میکرولیتر از مخلوط واکنشی به لوله‌های آزمایش اضافه و ۳۵۰ میکرولیتر از اسانس به دست آمده به لوله‌ها اضافه گردید و پس از ۴۸ ساعت جذب لوله‌ها در طول موج ۴۹۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. همین روش برای BHT به عنوان کنترل مثبت و شاهد که فاقد آنتی‌اکسیدان یا اسانس می‌باشد به کار برده شد. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی اسانس با شاهد و کنترل مثبت مقایسه گردید و به صورت درصد بیان شد (۱۱).

نتایج

نتایج این بررسی نشان داد که بازده اسانس حاصل از بخش‌های هوایی گیاه *Z. clinopodioides* در مرحله قبل از گلدهی با روش Hydrodistillation معادل ۱/۴w/w٪ می‌باشد. مواد شناسایی شده در اسانس گیاه در مرحله قبل از گلدهی در جدول ۱ آورده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود ۲۳ ترکیب در این اسانس شناسایی شده است که معادل ۹۸/۶٪ از مجموع ترکیبات راشامل می‌شود و شاخص‌ترین ترکیبات آن شامل پولگون (۳۰/۱٪)، تیمول (۲۱/۳٪)، پارامنتا-۳-ان-۸-ال (۱۲/۹٪)، پیپریتنون (۹/۳٪) و ۱و۸-سینئول (۴/۱٪) می‌باشند.

بررسی حاضر نشان داد که میزان ترکیبات فنلی در عصاره متانولی گیاه معادل ۲۱µg/mg یا ۲۱٪ وزنی- وزنی می‌باشد. توانایی جمع آوری رادیکال‌های DPPH، اسانس، عصاره متانولی و BHT در جدول شماره ۲ آورده شده است.

بررسی حاضر نشان داد که میزان ترکیبات فنلی در عصاره متانولی گیاه معادل ۲۱µg/mg یا ۲۱٪ وزنی- وزنی می‌باشد. توانایی جمع آوری رادیکال‌های DPPH، اسانس، عصاره متانولی و BHT در جدول شماره ۲ آورده شده است.

جدول ۱: *مواد تشکیل دهنده اسانس گیاه Ziziphora clinopodioides در مرحله قبل از گلدهی*

شماره	ترکیبات	RI	درصد	شماره	ترکیبات	RI	درصد
۱	α-thujene	۹۳۱	۰/۱	۱۳	isomenthone	۱۱۶۵	۱/۶
۲	α-pinene	۹۳۹	۰/۶	۱۴	Terpinene-4-ol	۱۱۷۷	۰/۲
۳	Camphene	۹۴۶	۰/۲	۱۵	α-terpineol	۱۱۸۹	۰/۸
۴	Sabinene	۹۷۰	۰/۳	۱۶	Pulegone	۱۲۳۸	۳۲/۱
۵	β-pinene	۹۸۰	۰/۶	۱۷	Bornyl acetate	۱۲۸۵	۴/۷
۶	α-phellenderene	۱۰۰۵	۰/۳	۱۸	Thymol	۱۲۹۰	۲۱/۳
۷	1,8-cineole	۱۰۳۳	۴/۱	۱۹	Piperitenone	۱۳۲۰	۹/۳
۸	p-mentha-3-en-8-ol	۱۱۴۰	۱۲/۹	۲۰	β-caryophyllene	۱۴۱۸	۰/۵
۹	γ-terpinene	۱۰۶۲	۰/۳	۲۱	Germacrene-D	۱۴۴۸	۱/۱
۱۰	P-Mentha-3,8-diene	۱۰۷۲	۳/۷	۲۲	β-bisabolene	۱۵۰۹	۰/۱
۱۱	Menthone	۱۱۵۲	۲/۴	۲۳	Caryophyllene oxide	۱۵۸۱	۰/۹
۱۲	Neomenthl	۱۱۶۰	۲/۵				

RI: Retention Indices

جدول ۲: *نتایج بررسی اثرات آنتی‌اکسیدانی اسانس و عصاره متانولی گیاه* ***Ziziphora clinopodioides*** *در مرحله قبل از گلدهی*

روش / نمونه	DPPH (µg/ml)[a]	β-Carotene/linoleic acid (% inhibition rate)[b]
اسانس	۵۵/۳±۰/۸۵	۶۱/۶±۹۰
عصاره متانولی	۲۱/۴±۵۰	۸۹/۳±۱/۹
BHT	۱۸/۰±۰/۴۰	۹۶/۶±۱/۲۹

a: مقادیر IC۵۰ بر حسب µg/ml b: درصد بازدارندگی لینولئیک اسید

بحث

بررسی‌های چیت‌ساز و همکاران منجر به شناسایی ۲۲ ترکیب متفاوت در اسانس کاکوتی کوهی شده است که ۵ ترکیب بیش از ۷۳ درصد اسانس را تشکیل می‌دادند و به ترتیب، شامل پولگون (۲۹/۳٪)، پارامنتا-۳-ان-۸-اول (۱۹/۱٪)، نئو-منتول (۱۱/۶٪)، پیپری تنون (۹/۴٪) و ۱ و ۸ سینئول (۴/۵٪) بودند (۱۳). بهروان و همکاران نیز ۲۷ ترکیب را در اسانس *Z. clinopodioides* شناسایی نمودند که عمده‌ترین این ترکیبات شامل پولگون (۴۴/۵٪)، ترپینئول (۱۴/۵٪)، متیل استات (۱۰/۹٪)، ایزونئومنتول (۷/۱٪) و ۱و۸-سینئول (۴/۱٪) می‌باشند (۱۴). در بررسی اسانس گیاه *Z. clinopodioides* که از اطراف شهرکرد جمع‌آوری شده است مشخص گردید که پولگون (۵۳/۲٪)، پارامنتا-۲-ان-۱-ال (۲۱/۴٪)، ۱و۸- سینئول (۱۰/۳٪)، پارا منتا ۳و۸- دی ان (۳/۷٪) و بتا- پینن (۱/۶٪) ترکیبات اصلی آن می‌باشند (۴). در تحقیقات صورت گرفته در روسیه و غرب ترکیه مشخص شده است که پولگون (۲۱/۹٪- ۱۳/۲٪)، ایزومنتون (۱۰/۸٪- ۲٪)، منتون (۵/۴٪- ۴/۶٪)، لیمونن (۸/۱٪- ۱/۸٪) و ۱و۸- سینئول (۱۴/۵٪- ۲/۳٪) ترکیبات شاخص گیاه *Z. clinopodioides* می‌باشند (۱۵،۱۶). پولگون (۳۱/۸٪)، ۱ و ۸- سینئول (۱۲/۲٪)، لیمونن (۱۰/۵٪)، منتول (۹/۱٪)، بتاپینن (۶/۸٪)، منتون (۶/۷٪)، پیپری تنون (۵/۳٪) و پیپریتون (۴/۲٪) به عنوان ترکیبات اصلی اسانس *Z. clinopodioides* جمع‌آوری شده از شرق ترکیه گزارش شده‌اند (۱۷). همان‌طور که بررسی حاضر نشان می‌دهد درصد تیمول در این بررسی نسبت به سایر بررسی‌های مشابه بیشتر است که احتمالاً به دلیل زمان جمع‌آوری گیاه (قبل از گلدهی) می‌باشد. بنابراین اگر در بهره‌برداری از اسانس این گیاه هدف تهیه تیمول باشد زمان قبل از گلدهی گیاه بهترین زمان برای جمع‌آوری می‌باشد. البته شرایط اقلیمی محل رویش گیاه نیز می‌تواند از موارد مهم در تغییر مواد مؤثره گیاه باشد ولی مقایسه ترکیبات اصلی تشکیل اسانس گیاه Lam *Z. clinopodioides* رشد یافته در مناطق غرب ایران تغییرات اندکی را نشان می‌دهد.

مطالعات صورت گرفته نشان داده است که پولگون (۶۵/۲٪)، ایزومنتون (۱۱/۹٪)، ۱ و ۸-سینئول (۷/۸٪) و پیپریتنون (۶/۵٪) ترکیبات اصلی *Z. clinopodioides subsp. bungeana* می‌باشد (۱۸).

نتایج این تحقیق با یافته‌های مطالعات قبلی که بر روی سایر گونه‌های *Ziziphora* صورت گرفته است و نشان داده‌اند که اسانس آن‌ها دارای مقادیر قابل توجهی پولگون است مطابقت دارد. در مقایسه با سایر گونه‌های *Ziziphora* مقدار پولگون در اسانس *Z. clinopodioides* کمتر می‌باشد به‌طوری که مقدار این ترکیب در اسانس *Z. taurica subsp. cleonioides* ۸۱/۹٪ در *Z. persica* ۶۶٪، در *Z. vychodceviana* ۵۷/۵٪ و در *Z. tenuior* ۸۷/۱٪ می‌باشد (۲۱-۱۹).

پولگون به عنوان ترکیب شاخص اسانس گونه‌های *Ziziphora* یک مونوترپن اکسیژن‌دار حلقوی با چگالی ۰/۹۳ می‌باشد که دارای بوی مطبوعی بوده و در تعدادی از

گیاهان تیره، جزء اصلی تشکیل دهنده اسانس محسوب می‌شود. پولگون ترکیبی سمی بوده که باعث صدمات حاد کبدی می‌شود. این ماده همچنین می‌تواند موجب نکروز شدید کبدی، سقط جنین و کواگولاسیون داخل رگی منتشر گردد. پولگون دارای خاصیت ضد گیاهخواری است و در طبیعت گیاه را از آسیب‌های حشرات و گیاهخواران حفظ می‌نماید و در صنعت از آن در ساخت حشره‌کش‌ها، صابون‌های عطری و دئودورانت‌ها و همچنین به عنوان طعم‌دهنده در خمیر دندان‌ها استفاده می‌شود. این ترکیب دارای خاصیت بارز ضدباکتری و ضد قارچ بوده و به‌ویژه بر روی سوش‌های مختلف سالمونلا موثر است. پولگون ماده‌ای ضدالتهاب بوده که فعالیت آنتی‌هیستامینی آن بر روی خوکچه هندی بررسی شده و مشخص شده که آنتاگونیست گیرنده‌های H_1 بوده ودارای اثرات مشابه دکس کلرفنیرآمین است (۴).

بررسی حاضر نشان داد که میزان ترکیبات فنلی در عصاره متانولی گیاه معادل ۲۱µg/mg یا ۲۱٪ وزنی- وزنی می‌باشد. توانایی جمع آوری رادیکال‌های DPPH، اسانس، عصاره متانولی و BHT در جدول شماره ۲ آورده شده است.

در روش DPPH غلظتی از عصاره و اسانس که باعث ۵۰٪ بازدارندگی فعالیت‌های اکسیداتیو شد (IC_{50}) به‌ترتیب ۲۱/۴ و ۵۵/۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود در حالی که IC_{50} برای BHT ۱۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. این نتایج نشان می‌دهند که اسانس و عصاره متانولی گیاه *Z. clinopodioides* به‌طور قابل توجهی میزان رادیکال‌های آزاد DPPH را کاهش می‌دهند. این بررسی همچنین نشان داد که کارایی عصاره متانولی در جمع‌آوری رادیکال‌های DPPH بیشتر از اسانس بوده اما فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن از آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT اندکی کمتر است. در روش *β-carotene-linoleic acid* نیز میزان بازدارندگی عصاره متانولی و اسانس به ترتیب ۸۹/۳٪ و ۶۱/۶٪ بود در حالی که این مقدار در مورد BHT برابر با ۹۶/۶٪ بود. بالا بودن اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های متانولی نشان می‌دهد که احتمالاً پلی‌فنل‌ها یا فلاون‌ها و فلاونوئیدها نقش مهمی در این فعالیت‌ها بازی می‌کنند (۲۲). بررسی صالحی وهمکاران در مورد اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های *Z. clinopodioides* نشان داده است که در سیستم DPPH، عصاره‌های متانولی این گیاه نسبت به عصاره‌های دیگر بیشترین اثرات را با IC_{50} برابر با ۳۰/۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر دارا است. در این مطالعه بیشتر بودن فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های متانولی را به بالا بودن میزان ترکیبات فنلی در این عصاره‌ها نسبت داده‌اند (۱۰). بررسی‌های دیگر اثرات آنتی‌اکسیدانی اسانس و عصاره‌های متانولی *Z. clinopodioides* و بعضی از گونه‌های *Ziziphora* را نشان داده‌اند (۱۰،۲۰). فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس *Z. clinopodioides* را می‌توان به وجود ترکیباتی مثل تیمول، ۱ و ۸- سینئول و بتا کاریوفیلن نسبت داد زیرا گزارشات متعددی در مورد اثرات آنتی‌اکسیدانی قابل توجه ترکیبات مذکور وجود دارد (۲۲).

نتیجه‌گیری

با توجه به اهمیت گیاه *Z. clinopodioides* Lam که از نظر دارویی و غذایی در ایران و به ویژه مناطق غربی مورد توجه قرار دارد، مطالعه ترکیبات مؤثره آن به‌ویژه اسانس آن که از نظر پولگون و تیمول غنی است می‌تواند حائز اهمیت باشد. این بررسی نشان داد که اگر هدف از بهره‌برداری از *Z. clinopodioides* Lam استحصال پولگون باشد، بهترین زمان برای جمع‌آوری گیاه زمان گلدهی آن است در حالی که اگر هدف به‌دست آوردن تیمول باشد بهترین زمان برای جمع‌آوری گیاه قبل از گلدهی است. همچنین این بررسی نشان می‌دهد که اسانس و عصاره‌های متانولی این گیاه منابع خوبی از مواد آنتی‌اکسیدانی هستند که می‌توانند در پزشکی و بیماری‌های وابسته به ترکیبات اکسیدان و همچنین صنایع غذایی مورد استفاده قرار گیرند.

Composition and Antioxidant Activity of the Essential Oil and Methanolic Extract of *Ziziphora Clinopodioides* Lam in Preflowering Stage

Amiri H., Ph.D.[1]

1. Assistant Professor, Biology Department, Lorestan University, Khoramabad, Iran

* Corresponding author, e-mail: amiri_h_lu@yahoo.com

(Received 2 July 2008 Accepted 22 Oct. 2008)

Abstract

Background & Aims: *Ziziphora clinopodioides* Lam belongs to the Labiatae family and its dried aerial parts are used as flavors and also in the treatment of cold and cough.

Methods: The chemical composition of the essential oil obtained from aerial parts by hydro distillation method was analyzed by GC and GC/MS. The methanolic extract was also obtained from the aerial parts of the plant. Samples were subjected to a screening for their possible antioxidant activities by using 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) and β-carotene-linoleic acid.

Results: Twenty three constituents accounting to 96.6% of the total oil were identified. Major components of the oil were pulegon (30.1%), thymol (21.3%), p-mentha-3-en-8-ol (12.9%), piperitenone (9.3%) and 1, 8-cineol (4.1%), respectively. In the DPPH test system, the IC_{50} value for antioxidant activity of methanolic extract was determined to be 28.4µg/ml, whereas it was 55.3 µg/ml for the oil. In β-carotene-linoleic acid test system, antioxidant activities of the extract and oil were 89.3% and 61.6%, respectively.

Conclusion: In general, methanolic extract of *ziziphora clinopodioides* lam showed greater antioxidant activity than its essential oil.

Keywords: *Ziziphora clinopodioides*, Essential oil, Antioxidant activity, Methanolic Extract

Journal of Kerman University of Medical Sciences, 2009; 16(1): 79-86

References

1. Morteza Semnani K, Saeedi M, Mahdavi MR, Rahimi F. Study and comparison of the antimicrobial activity of methanolic extracts of several species of *Stachys* and *Phlomis*. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2007; 57: 57-66 [Persian].
2. Laster P, Midori H, Toshikazu Y. Antioxidant food supplements in human health. Sandiago Adademic Press, 1999; pp371-2.
3. Leake DS, Rankin SM. The oxidative modification of low-density lipoproteins by macrophages. *Biochem J* 1990; 270(3): 471-8.
4. Sajadi SE, Ghasemi dehkordi N, Balochi M. Chemical composition of the essential oil of aerial parts of *Ziziphora clinopodioides* Lam. *Pajouhesh Va Sazandegi* J 2003; 16 (1): 97-100 [Persian].
5. Delattre J, Bonne font-Rousselot D. Oxidative stress, free radical and aging. *Biotech Lab Inter*1998; 21-3.
6. Cross C, Halliwell B, Brish ET, Pryor WA, Ames BN, Saul RL, *et al.* Oxygen radicals and human disease. *Ann Intern Med* 1987; 107(4): 526-45.
7. Cross AR, Jones OT. Enzymatic mechanisms of superoxide production. *Biochim Biophys Acta* 1991; 1057(3): 281-98.

8. Leung FY. Trace elements that act as antioxidants in parenteral micronutrition. *Biochem* 1998; 9(6): 304-7.

9. Mozaffarian V. A Dictionary of Iranian Plant Names. Tehran, Farhang Moaser Publisher, 1996; p591 [Persian].

10. Salehi P, Sonboli A, Eftekhar F, Nejad-Ebrahimi S, Yousefzadi M. Essential oil composition, antibacterial and antioxidant activity of the oil and various extracts of *Ziziphora clinopodioides* subsp. *rigida* (Boiss.) RECH. F. from Iran. *Biol Pharm Bull* 2005; 28(10): 1892-6.

11. Şahin F, Güllüce M, Daferera D, Sökmen A, Sökmen M, Polissiou M, *et al.* Biological activities of the essential oils and methanol extract of *Origanum vulgare* ssp. *vulgare* in the Eastern Anatolia region of Turkey. *Food Control* 2004; 15(7): 549-57.

12. Adams RP. Identification of essential oil components by Gas chromatography/mass spectroscopy. Illinois, Allured Publishing Corporation, 2001.

13. Chitsaz M, Pergar A, Naseri M, Kamalinajad M, Bazargan M, Mansouri S, Ansari F. Composition of the essential oil and antibacterial activity of alcoholic extract and oil of *Ziziphora clinopodiodes.* LAM on selected bacteria. *Daneshvar J* 2007; 14 (68): 15-22 [Persian].

14. Behravan J, Ramezania M, Hassanzadeh MK, Eskandari M, Kasaian J and Sabeti Z. Composition, antimycotic and antibacterial activity of *Ziziphora clinopodioides* Lam. Essential oil from Iran. *J Essent Oil-Bearing plant* 2007; 10(4): 339-45.

15. Baser KHC, Sezik E, Tuemen G. Composition of the essential oil of *Ziziphora clinopodioides* Lam. *J of Essent Oil Res* 1991; 3: 237–9.

16. Goryaev MI, Gratsianskaya LP and Lishtnanova N L. Essential oil components. XVII Investigation of *Ziziphora clinopodioides*. *Serial Khimika Nauk* 1964; 14, 75–9.

17. Ozturk S, Ercisli S. Antibacterial activity and chemical constitutions of *Ziziphora clinopodioides*. *Food Control* 2007; 18(5): 535-40.

18. Sonboli A, Mirjalili MH, Hadian J, Ebrahimi SN, Yousefzadi M. Antibacterial activity and composition of the essential oil of *Ziziphora clinopodioides* subsp. *bungeana* (Juz.) Rech. f. from Iran. *Z. Naturforsch* 2006; 61(9-10): 677-80.

19. Dembitskii AD, Bergaliev ES, Kyazimov IM. Chemical composition of the essential oils of *Ziziphora* growing under various ecological conditions. *Chemistry of Natural Compounds* 1994; 30(6): 673-5.

20. Meral GE, Konyalioglu S, Ozturk B. Essential oil composition and antioxidant activity of endemic *Ziziphora taurica* subsp. Cleonioides. *Fitoterapia* 2002; 73(7-8): 716-8.

21. Ozturk S, Ercisli S. The chemical composition of essential oil and *in vitro* antibacterial activities of essential oil and methanol extract of *Ziziphora persica* Bunge. *J Ethnopharmacol* 2006; 106(3): 372-6.

22. Sokmen A, Gulluce M, Akpulat HA, Daferera D, Tepe B, Polissiou M, *et al.* The *in vitro* antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts of endemic *Thymus spathulifolius. Food Control* 2004; 15(8): 627-34.