



مقایسه کمی ترکیب شیمیایی اسانس گونه *Ballota nigra* L. subsp. P.H. Davis *Anatolica* جمع آوری شده از منطقه پل سفید مازندران

علی مازوجی^{۱*}، افشین محمودزاده^۱، سمانه آخوندی درزیکلائی^۲

^۱ دانشگاه آزاد اسلامی واحد رودهن، گروه زیست شناسی، رودهن، ایران

^۲ دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، گروه زیست شناسی، تهران، ایران

محل انجام پژوهش: گروه زیست شناسی، واحد رودهن، دانشگاه آزاد اسلامی

تاریخ پذیرش:

تاریخ دریافت:

چکیده

جنس فراسیون آسا (*Ballota* L.) متعلق به تیره Lamiaceae، قبیله Stachydeae، زیرقبیله Ballotae است. هدف از این تحقیق بررسی ترکیب شیمیایی اسانس یک جمعیت گونه *Ballota nigra* subsp. *anatolica* جمع آوری شده از منطقه فیروزکوه به پل سفید در ایران و مقایسه با ترکیبات شیمیایی اسانس جمعیت مطالعه شده قبلی از روستای شاه ناچر واقع در استان مازندران (شمال ایران) می باشد. جمع آوری بخش های هوایی گیاه در تیر ماه ۱۳۸۸ از منطقه فیروزکوه به پل سفید انجام شده و پس از خشک کردن در سایه به روش تقطیر با آب اسانس گیری و توسط روش های GC و GC/MS اجزای آن شناسایی شد. بازده اسانس برای این جمعیت ۰/۳ درصد وزنی - وزنی به دست آمد و تعداد ۲۰ ترکیب (۹۹/۶۶ درصد) در اسانس جمعیت رویش یافته در منطقه فیروزکوه به پل سفید شناسایی شد که اجزای اصلی آن هستند. در این میان ترکیبات غیرترپنی (۱۷/۸۲٪)، سزکویی ترین های هیدروکربنی (۵۲/۰۵٪) و سزکویی ترین های اکسیژن دار (۲۹/۶۹٪) یافت شدند. تنها دو ترکیب شیمیایی α -Humulene و Germacrene D در این دو جمعیت مشترک می باشند. در اسانس جمعیت فیروزکوه به پل سفید، هیچ ترکیب مونوترپنی مشاهده نشده و در عوض دارای انواع غیرترپنی می باشند. تفاوت های کمی و کیفی در ترکیب اسانس دو جمعیت می تواند به عنوان فاکتورهای کموتاکسونومیک مد نظر قرار گرفته و ناشی از تفاوت ویژگی های اکولوژیک مناطق رویشی به ویژه بافت خاک می باشد.

واژه های کلیدی: Lamiaceae، فراسیون آسای سیاه، اکولوژی، ایران

مقدمه

ضدپروتوزوئری می باشند، وجود دارند (۲). گیاهان تیره نعنای (Lamiaceae)، گیاهانی یکساله، چندساله، یا خشبی، به ندرت درختچه ای، اغلب معطر و بدون تیغ، با ساقه ای غالباً چهارگوش می باشند (۳). از اسانس موجود در کرک های ترشح کننده گیاهان این تیره در موارد گوناگون استفاده می شود (۴). جنس فراسیون آسا (*Ballota* L.) متعلق به تیره Lamiaceae، قبیله

گیاهان دارویی به علت داشتن ترکیبات شیمیایی با ارزش درمانی، برای قرن ها جهت درمان بیماری های بشر مورد استفاده قرار گرفته اند (۱). ترکیبات گیاهی طبیعی متعددی که دارای خواص ضدقارچی، ضد میکروبی و

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری و شناسایی گونه: جمع‌آوری نمونه مورد

مطالعه در ۵ تیر ماه ۱۳۸۸ از منطقه فیروزکوه به پل سفید انجام شد و همه اندام‌های مختلف گیاه از جمله ریشه، ساقه، برگ، گل و میوه برداشت شد و حداقل ۴-۵ کیلوگرم ماده تازه جمع‌آوری گردید. آنگاه توسط فلور ایرانیکا (۹) شناسایی انجام گردید. در نهایت کد هرباریومی به شماره IRAN-56841، از هرباریوم وزارت جهاد کشاورزی (IRAN) در موسسه تحقیقات گیاه پزشکی کشور به نمونه شناسایی شده داده شد.

اسانس‌گیری: به مقدار ۲۰۰ گرم از ماده گیاهی پودر

شده از داخل بالن ۵۰۰۰ میلی‌لیتر ریخته و به میزان حداقل ۱/۳ حجم بالن آب مقطر بر روی آن ریخته و کاملاً به هم زده تا ماده گیاهی خیسانده شود سپس بالن مذکور به دستگاه کلونجر متصل و توسط دستگاه هیتر منتل گرم تا جوشانده شود. عمل تقطیر به مدت حداقل ۴ ساعت انجام گردید. قسمت‌های هوایی گیاه به منظور تقطیر با آب به مدت چهار ساعت در دستگاه کلونجر قرار گرفت. روغن فرار حاصله در دمای چهار درجه سانتی‌گراد در ویال‌های قهوه‌ای رنگ نگهداری شد. اسانس به دست آمده در یخچال (حداکثر دمای ۴°C) نگهداری گردید.

کروماتوگرافی گازی - طیف‌سنجی جرمی: گاز

موجود در دستگاه کروماتوگراف توسط Thermoquest 2000 و ستون موئین DB-5 (به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر، ضخامت ۰/۲۵ میکرومتر) که متصل به دتکتور FID بود مورد استفاده قرار گرفت. نوع گاز حامل هلیوم و نسبت جداسازی ۱:۲۵ بود. دمای ابتدایی ستون ۵۰ درجه سانتی‌گراد، توقف این دما به مدت یک دقیقه و افزایش دما تا دمای ۲۶۵ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۲/۵ درجه در دقیقه برنامه ریزی شد و این حالت برای ۲۰ دقیقه ثابت نگه داشته شد. آشکارساز در انرژی یونش ۷۰ الکترون ولت (eV) عمل کرد. اندیس بازداری کوآتس با استفاده از زمان‌های ماند سری آلکان‌های نرمال تزریق شده تحت شرایط فوق محاسبه و شناسایی ترکیبات به کمک طیف‌های جرمی استاندارد، مقایسه شاخص بازداری کوآتس (KI) ترکیبات

Stachydae، زیرقبیله Ballotae می‌باشد. بیشتر گونه‌های آن در مناطق مدیترانه‌ای، اروپا و آسیای صغیر می‌رویند. تنها چهار گونه از شرق و جنوب آفریقا منشأ می‌گیرند (۷-۵). این جنس در ایران سه گونه گیاهی علفی چندساله دارد که دو گونه *B. aucheri* Boiss. و *B. platyloma* Rech. F. انحصاری ایران می‌باشند. *B. nigra* L. (فراسیون آسای سیاه) گونه دیگری از این جنس می‌باشد (۸). این گونه دارای سه زیرگونه در ایران بوده (۹) و دارای فعالیت‌های ضدپیری، ضدتهوع، آنتی‌اکسیدانی، ضد انقباض عضلات، ضدسرفه، قابض، پاک‌کننده، کندکننده ضربان قلب و نبض، افزایشنده فعالیت صفرا، تصفیه‌کننده، مدر، ازدیاد قاعدگی، خلط‌آور، کاهنده فشار خون، مسکن، محرک، اشتهاآور، افزایشنده تونسیته عضله رحم و کرم‌زدایی است (۱۰).

اولین بار در سال ۱۹۷۶، اسانس گونه *B. nigra* مورد مطالعه قرار گرفت که *Ballotinone* (۱۱)، *Ballonigrine* (۱۲)، *7-α-acetoxymarrubiin*، و *Ballotinol* (۱۴) را در آن شناسایی کردند. فعالیت‌های زیستی این ترکیبات جداسازی شده از برگ‌های چندین گونه از جنس *Ballota* مورد بررسی قرار گرفته‌اند (۱۵). کاظمی‌زاده و همکاران اولین بار در سال ۲۰۰۹، اسانس *B. nigra* L. P.H. Davis subsp. *anatolica* از محل رویش خود در روستای شاه ناجر، کجور مازندران مطالعه انجام دادند (۱۶).

شرح زیرگونه مورد مطالعه: گیاهی است پایا، *Ballota nigra* ssp. *anatolica* گونه کرک‌دار، در قاعده کمی چوبی شده، ساقه منشعب، برگ دار، گل‌ها دارای دمگل کوتاه و مجتمع، کاسه گل دارای ده رگه و کیفی شکل، پرچم‌های بالایی بزرگتر از پرچم‌های پایینی ولی همه در جام گل باقی می‌مانند و از آن خارج نمی‌شوند. فندقه‌ها پهن و تخم مرغی و دارای رأس مدور و بدون کرک می‌باشند (۹).

هدف از این تحقیق بررسی ترکیب شیمیایی اسانس یک جمعیت گونه *Ballota nigra* subsp. *anatolica* جمع‌آوری شده از منطقه فیروزکوه به پل سفید در ایران و مقایسه با ترکیبات شیمیایی اسانس جمعیت مطالعه شده قبلی می‌باشد.

با نمونه‌های استاندارد و نرم‌افزار کامپیوتری Willey7.1 صورت گرفت (۱۷).

نتایج

اسانس به دست آمده، به رنگ زرد روشن بوده و بازده وزنی - وزنی اسانس‌های بدست آمده به روش تقطیر با آب در جمعیت فیروزکوه به ۰/۳ درصد سفید - وزنی است. تعداد ۲۰ ترکیب (۹۹/۶۶ درصد) در اسانس جمعیت رویش یافته در منطقه فیروزکوه به پل سفید شناسایی شد که *trans-β-Farensene* (۱۹/۹۹٪)، *β-Bisabolene* (۱۴/۹۱٪) و *Caryophyllene oxide* (۱۳/۱۴٪) به عنوان اجزای اصلی اسانس شناسایی شدند (جدول ۱). در این میان ترکیبات غیرترپنی (۱۷/۸۲٪)، سزکویی‌ترپن‌های هیدروکرینی (۵۲/۰۵٪) و سزکویی‌ترپن‌های اکسیژن‌دار (۲۹/۶۹٪) یافت شدند. ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس و درصد کمی هر یک از آنها را در دو جمعیت مطالعه شده در این تحقیق و در پژوهش پیشین (جمعیت روستای شاه ناچر، ۱۶) در جدول ۲ ارائه شده است. تنها دو ترکیب شیمیایی *α-Humulene* و *Germacrene D* در این دو جمعیت مشترک می‌باشند.

بحث

در تحقیق پیشین، بازده وزنی - وزنی اسانس‌های بدست آمده به روش تقطیر با آب در جمعیت روستایی شاه ناچر ۰/۷ درصد وزنی - وزنی می‌باشد. در اسانس مورد مطالعه از این جمعیت، تعداد ۱۲ ترکیب (۹۱/۸ درصد) شناسایی شد که در این میان *Germacrene D* (۱۸/۱٪)، *Nerolidol epoxyacetate* (۱۵/۴٪)، *Sclareoloxide* (۱۲/۱٪)، *Linalyl acetate* (۱۱/۵٪) و *β-Caryophyllen* (۱۰/۵٪) فراوان‌ترین اجزای اسانس بودند. در این میان مونوترپن‌های اکسیژن‌دار (۱۸/۱٪) و سزکویی‌ترپن‌های هیدروکرینی (۳۲/۵٪) و سزکویی‌ترپن‌های اکسیژن‌دار (۴۱/۲٪) یافت شدند (۱۶). در حالی که در اسانس جمعیت فیروزکوه به پل سفید، هیچ ترکیب مونوترپنی مشاهده نشده و در عوض دارای ترکیبات غیرترپنی می‌باشند. تفاوت‌های کمی و کیفی در ترکیب اسانس دو جمعیت می‌تواند به عنوان فاکتورهای کموتاکسونومیک مد نظر قرار گرفته شده و ناشی از تفاوت ویژگی‌های اکولوژیک مناطق رویشی به ویژه بافت خاک می‌باشد.

جدول ۱- درصد ترکیبات شیمیایی اسانس *Ballota nigra subsp. anatolica* در جمعیت فیروزکوه به پل سفید

Rt	KI	%	نام ترکیبات شیمیایی	ردیف
۱۱/۶۲	۱۱۰۶	۴/۱۳	1-Nonen-3-ol	۱
۱۲/۳۱	۱۱۲۴	۳/۶۳	3-Octenol	۲
۳۱/۲۱	۱۴۲۵	۷/۱۷	<i>trans</i> -Caryophyllene	۳
۳۲/۵۸	۱۴۵۸	۲/۰۲	<i>α</i> -Humulene	۴
۳۲/۹۱	۱۴۶۳	۱۹/۹۹	<i>trans-β</i> -Farensene	۵
۳۳/۶۶	۱۴۸۹	۵/۳۲	Germacrene D	۶
۳۴/۹۵	۱۵۱۱	۱۴/۹۱	<i>β</i> -Bisabolene	۷
۳۵/۳۷	۱۵۲۹	۲/۶۴	<i>δ</i> -Cadinene	۸
۳۶/۸۳	۱۵۶۶	۳/۳۹	Caryophyllene alcohol	۹
۳۷/۰۰	۱۵۸۷	۲/۵۸	<i>α-trans</i> -sesquisabinene hydrate	۱۰
۳۷/۳۱	۱۵۹۲	۱۳/۱۴	Caryophyllene oxide	۱۱
۴۰/۱۶	۱۶۰۵	۴/۴۰	Longiborneol	۱۲
۴۷/۱۶	۱۷۷۹	۵/۹۹	2-Pentadecanone	۱۳
۴۸/۲۶	۱۷۹۱	۲/۳۶	Benzyl benzoate	۱۴
۵۱/۴۳	۱۸۷۷	۱/۷۹	Hexadecanol	۱۵
۵۱/۴۹	۱۸۷۹	۱/۰۵	Palmitic acid	۱۶
۵۵/۷۷	۲۰۰۸	۲/۸۸	Eicosane	۱۷

۵۹/۸۲	۲۰۵۴	۰/۱۹	Farnesyl acetone	۱۸
۶۷/۷۷	۲۱۲۴	۱/۸۱	Henicosane	۱۹
۷۸/۷۹	۲۲۰۱	۰/۱۷	Docosane	۲۰
درصد کل ترکیبات شیمیایی			۹۹/۶۶	

Rt = Retention time; KI= Kovats Index

جدول ۲- ترکیب‌های تشکیل دهنده اسانس *Ballota nigra subsp. anatolica* در دو جمعیت

ردیف	نام ترکیب	جمعیت فیروزکوه به پل سفید	جمعیت روستای شاه ناچر
۱	1-Nonen-3-ol	۴/۱۳	---
۲	3-Octenol	۳/۶۳	---
۳	<i>trans</i> -Caryophyllene	۷/۱۷	---
۴	α -Humulene	۲/۰۲	۱/۵
۵	<i>trans</i> - β -Farensene	۱۹/۹۹	---
۶	Germacrene D	۵/۳۲	۱۸/۱
۷	β -Bisabolene	۱۴/۹۱	---
۸	δ -Cadinene	۲/۶۴	---
۹	Caryophyllene alcohol	۳/۳۹	---
۱۰	<i>alpha-trans</i> -sesquisabinene hydrate	۲/۵۸	---
۱۱	Caryophyllene oxide	۱۳/۱۴	---
۱۲	Longiborneol	۴/۴۰	---
۱۳	2-Pentadecanone	۵/۹۹	---
۱۴	Benzyl benzoate	۲/۳۶	---
۱۵	Hexadecanol	۱/۷۹	---
۱۶	Palmitic acid	۱/۰۵	---
۱۷	Eicosane	۲/۸۸	---
۱۸	Farnesyl acetone	۰/۱۹	---
۱۹	Henicosane	۱/۸۱	---
۲۰	Docosane	۰/۱۷	---
۲۱	Linalool	---	۵/۲
۲۲	α -Terpineol	---	۱/۰
۲۳	Linalyl acetate	---	۱۱/۵
۲۴	Geraniol	---	۰/۴
۲۵	α -Copaen	---	۲/۴
۲۶	β -Caryophyllene	---	۱۰/۵
۲۷	Spathulenol	---	۹/۰
۲۸	Longipinene epoxide	---	۴/۷
۲۹	Sclareoloxide	---	۱۲/۱
۳۰	Nerolidol epoxyacetate	---	۱۵/۴
درصد کل ترکیبات شیمیایی اسانس			۹۱/۸

9. Rechinger, K.H. 1963-2007. Flora Iranica, nos.1-177. Akademische Drucku. Verlagsanstalt, Graz.
10. Duke, J.A., Bogenschutz-Godwin, M.J., duCelleir, J., Duke, P.K. 2002, Handbook of medicinal herbs, 2nd Edition, CPR Press, 93.
11. Savona, G., Piozzi, F., Hanson, J.R., Siverns, M. 1976a, Structure of ballotinone, a diterpenoid from *Ballota nigra*. J Chem Soc Perkin Trans 1, 1607-9.
12. Savona, G., Piozzi, F., Hanson, J.R., Siverns, M. 1976b, New diterpenoids from species of genus *Ballota*. La Chimica el'Industria, Milan 58, 378.
13. Savona, G., Piozzi, F., Hanson, J.R., Siverns, M. 1976a, Structure of three new diterpenoids from *Ballota* species. J Chem Soc Perkin Trans 1, 322-324.
14. Savona, G., Piozzi, F., Hanson, J.R., Siverns, M. 1976b, Structure of ballotenol a new diterpenoid from *Ballota nigra*. J Chem Soc Perkin Trans 1, 497-9.
15. Citoglu, G., Tanker, M.; Sever, B., Englert, J., Anton, R., Altanlar, N. 1998, Antibacterial activities of diterpenoids isolated from *B. saxatilis* subsp. *saxatilis*. Planta Med 64: 484-5.
16. Kazemizadeh, Z., Amini, T., Nazari, F., Habibi, Z. 2009, Volatile constituents of *Ballota nigra* subsp. *anatolica* from Iran. Chem Natural Comp 45, 737-8.
17. Adams, R.P. 1995, Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/ Mass Spectroscopy. Allured Publishing Co. Carol Stream, Illinois, 94-353.
- منابع**
1. Ramoutsaki, I.A., Papadakis, C.E., Daradka, H.M. 2002, Therapeutic methods used for otolaryngological problems during the Byzantine period. Ann. Otol Rhinol Laringol 111: 553-7.
2. Lee, S.B., Cha, K.H., Kim, S., Altantsetseg, S., Shatar, S., Sarangerel, S., Who, C.W. 2007, The antimicrobial activity of essential oil from *Dracocephalum foetidum* against pathogenic microorganisms. J Microbiol 45: 53-7.
۳. مظفریان، و. ۱۳۸۳، رده‌بندی گیاهی، کتاب دوم: دولپه‌ای‌ها. موسسه انتشارات امیرکبیر، تهران، صفحه ۴۲۱.
۴. قهرمان، ا. ۱۳۸۷، کورموفیت‌های ایران (سیستماتیک گیاهی)، جلد سوم. چاپ دوم. مرکز نشر دانشگاهی، تهران، صفحه ۲۴۶.
5. Patzak, A. 1958, Revision der Gattung *Ballota* section *Ballota*. Annales der Naturhistorischen Museums in Wien 62, 57-86.
6. Patzak, A. 1959, Revision der Gattung *Ballota* section *Acanthoprasium* und section *Beringeria*. Annales der Naturhistorischen Museums in Wien 63, 33-81.
7. Patzak, A. 1961, Zwei neue *Ballota* Arten aus der Türkei nebst einem nachtrag zur Gattung *Ballota*. Annales der Naturhistorischen Museums in Wien 64, 42-56.
8. Mozaffarian, V. 2003, A Dictionary of Iranian Plant Names. Farhang Mo'aser Publishers, Iran, 70.

