بررسی ترکیب‌های تشکیل دهنده، فعالیت ضد میکروبی، آنتی اکسیدانی و محتوای فنولی روغن اسانسی به دست آمده از اندام هوایی گیاه *Phlomis aucheri* Boiss رویشی در ایران

محبوبه طاهرخانی*+
تاکستان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تاکستان، دانشکده علوم پایه، گروه شیمی

شیوا مسعودی، مهدی کرمی‌نیا
تهران، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکز، دانشکده علوم پایه، گروه شیمی

عبدالحسین روستائیان
تهران، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشکده علوم پایه، گروه شیمی

چکیده: جنس Phlomis ، از خانواده نعنائیان Labiatae ، در ایران ۱۷ گونه گیاهی دارد. اندام هوایی گیاه Phlomis aucheri Boiss با شماره هرباریومی (Herbarium No: 91021, TARI) و با نام فارسی گوش بره ایرانی، گوش بره زرد، که بومی ایران می باشد از دامنه های کوه منطقه شهران، واقع در استان تهران جمع آوری شد. در این کار پژوهشی ترکیب‌های تشکیل دهنده اسانس اندام هوایی گیاه p. aucheri به روش تقطیر با آب استخراج شد و توسط دستگاه های GC و GC/MS مورد آنالیز و بررسی قرار گرفت. ۴۷ ترکیب با درصد ۹۲٫۸۸٪ شناسایی شد، که از این میان (۲۴٫۵۸٪) E-anethole و (۱۱٫۱۰٪) germacrene D عمده بودند. سایر ترکیب‌های شایان توجه عبارتند از: (۶٫۳٪)bicyclogermacrene، (۶٫۰۱٪)spathulenol، (۵٫۵۸٪) β-caryophyllene ، (۴٫۵۸٪) neryl acetate و (۴٫۵۳) germacrene B. بخش عمده روغن اسانسی این گیاه را سزکوئی ترپن ها با درصد (۵۱٫۸۲٪) تشکیل می دهند، در حالی که درصد مونو ترپن ها و ترکیب‌های غیر ترپنوئیدی در این روغن به ترتیب (۱۳٫۳۲٪ و ۲۷٫۷۴٪) بوده است. خواص ضد میکروبی اسانس گیاه p. aucheri، به دو روش سنجش قطر هاله مهار رشد بر روی محیط کشت مولر- هینتون آگار و روش غلظت بازدارندگی کمینه در برابر ۶ باکتری گرم مثبت و منفی اندازه گیری شد. خواص آنتی اکسیدانی با سه روش بتا کاروتین زدایی، تعیین قدرت رادیکال زدایی DPPH و سنجش قدرت احیای فریک (FRAP) با روش های استاندارد انجام شد. اسانس این گیاه خواص ضد میکروبی دلخواهی را در مقابل باکتری Bacillus anthracisاز خود نشان داد. بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی نشان داد که این گیاه می تواند به عنوان یک آنتی اکسیدان طبیعی عمل کند.

واژه‌های کلیدی: روغن اسانسی، Phlomis aucheri Boiss، فعالیت ضد میکروبی، E-anethole، Germacrene D.

KEY WORDS: *Essential oil, Phlomis aucheri Boiss, Antimicrobial activity, E-anethole, Germacrene D.*

*عهده دار مکاتبات
+E-mail: mah.taherkhani@tiau.ac.ir, mahtaherkhani@yahoo.com

مقدمه

جنس *Phlomis* ، از خانواده نعنائیان Labiatae، در ایران ۱۷ گونه گیاه علفی چند ساله، با گل های فراهم و بیشتر درشت و زیبا دارد، که از این میان ۱۰ گونه انحصاری و بومی ایران است. اندام هوایی گیاه *Phlomis aucheri* Boiss با شماره هرباریومی (Herbarium No: 91021, TARI) و با نام فارسی گوش بره ایرانی، گوش بره زرد، نامیده می‌شود که بومی ایران می باشد. تاکنون گزارشی از بررسی روغن اسانسی گونه *P. aucheri* در مراجع دیده نشده است.

ترکیب‌های عمده موجود در اسانس به دست آمده از برگ گیاه *P. fruticosa* رویشی در یونان، germacrene D(٪۱۷٫۸) و γ -bisabolene (٪۱۲٫۶) می‌باشد [۱].

در حالی که در روغن اسانسی گیاه *P. lanata* رویشی در یونان، α-Pinene(٪۲۵٫۴) و limonene(۱۵٫۷) عمده هستند [۲] .

در سال ۲۰۰۵ میلادی، اسانس به دست آمده از کل اندام هوایی گیاهان *P. persica* و *P. olivieri* که بومی ایران می‌باشند، توسط *روستائیان* و *همکاران* مورد بررسی و شناسایی قرار گرفت [۳]. به طوری که از آنالیز روغن اسانسی به دست آمده از اندام هوایی گیاه *P. persica* ، ترکیب‌های germacrene D (٪۳۸٫۲)، bicyclogermacrene (٪۱۶٫۳) و α-Pinene (۱۳٫۳) به عنوان ترکیب‌های عمده شناسایی شدند. همچنین از آنالیز روغن اسانسی و شناسایی مواد تشکیل دهنده به دست آمده از گیاه *P. olivieri*، ترکیب‌های germacrene D(٪۲۶٫۴) ، bicyclogermacrene(٪۱۲٫۷) به عنوان ترکیب‌های عمده شناسایی شد.

در این کار پژوهشی اندام هوایی گیاه *P. aucheri* در تیر ماه ۱۳۸۸، از دامنه‌های کوهپایه‌ای منطقه شهران واقع در استان تهران جمع آوری شد. سپس ترکیب‌های تشکیل دهنده اسانس اندام هوایی گیاه *P. aucheri* به روش تقطیر با آب استخراج شد و توسط دستگاه های GC و GC/MS مورد آنالیز و بررسی قرار گرفت. در بخش بعدی از این کار پژوهشی، خاصیت‌های ضد میکروبی اسانس گیاه *P. aucheri* ، به دو روش سنجش قطر هاله مهار رشد بر روی محیط کشت مولر- هینتون آگار و همچنین به روش غلظت بازدارندگی کمینه در برابر ۶ باکتری گرم مثبت و منفی اندازه‌گیری شد.

بخش تجربی

الف ــ جمع آوری گیاه و استخراج

اندام های هوایی گیاه *P. aucheri* ، در تیر ماه سال ۱۳۸۸ از شمال ایران، از دامنه های کوهپایه ای منطقه شهران واقع در استان تهران جمع آوری شد و در هوای آزاد و سایه خشک شد. نمونه هرباریومی آن توسط هرباریوم مؤسسه جنگل ها و مراتع مورد شناسایی قرار گرفت. سپس حدود ۵۰ گرم از کل اندام هوایی آن به روش تقطیر با آب و به مدت ۳ ساعت در دستگاه کلونجر اسانس گیری شد.

ب ــ جداسازی و شناسایی ترکیب‌های تشکیل دهنده

برای شناسایی ترکیب‌های اسانس از دستگاه های کروماتوگرافی گازی (GC) و کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی (GC/MS) استفاده شد. پس از تزریق اسانس به این دستگاه‌ها، اندیس بازداری کواتس (KI) برای تمام ترکیب‌های محاسبه شد و با مقایسه این اندیس ها با شاخص های بازداری استاندارد به شناسایی ترکیب‌های تشکیل دهنده روغن اسانسی پرداخته شد [۴].

ج ــ ویژگی‌های دستگاه کروماتوگرافی گازی

دستگاه کروماتوگرافی گازی مورد استفاده در این پژوهش، از نوع Agilent ۶۸۹۰، با ستونی به طول۳۰ متر، قطر داخلی ۰٫۲۵ میلیمتر و با ضخامت لایه ۰٫۲۵ میکرومتر و از نوع HP-5MS بود. برنامه دمایی ستون به این صورت تنظیم شد که دمای ابتدای آون ۵۰ درجه سلسیوس و توقف در این دما به مدت ۵ دقیقه، گرادیان دمایی ۳ درجه سلسیوس در هر دقیقه، افزایش دما تا۲۴۰ درجه سلسیوس با سرعت ۱۵ درجه در هر دقیقه، افزایش دما تا ۳۰۰ درجه سلسیوس و سه دقیقه توقف در این دما. دمای اتاقک تزریق۲۹۰ درجه سلسیوس بود و از گاز هلیم به عنوان گاز حامل با شدت جریان ۰٫۸ میلی لیتر در دقیقه استفاده شد. طیف نگار جرمی مورد استفاده مدل ۵۹۷۳ Agilent با ولتاژ یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت، روش یونیزاسیون EI و دمای منبع یونیزاسیون ۲۲۰ درجه سلسیوس بود.

د ــ بررسی خواص ضدمیکروبی

خواص ضد میکروبی اسانس به دست آمده از اندام هوایی گیاه *P. aucheri* ، به دو روش سنجش قطر هاله مهار رشد و روش غلظت بازدارندگی کمینه در مقابل ۳ باکتری گرم مثبت استروپتوکوکوس پایوژنز (RITCC1949)، باسیلوس آنتراسیس (RITCC1036)، استافیلو کوکوس اورئوس (RITCC1885)، و سه باکتری گرم منفی کلبسیلا پنومونیه (RITCC1249)، اشریشیا کلی (RITCC1330)، پزودوموناس آئروژینوزا (RITCC1547)، اندازه گیری شد.

در روش سنجش قطر هاله مهار رشد، باکتری‌های مورد بررسی در آب مقطر سترون حل شده و کدورت آب با شاهد ۰/۵ مک فارلند (۱۰ میکروارگانیسم در هر میلی لیتر محلول) مقایسه شد. سپس با سواپ سترون از باکتری ها برداشته شد و بر روی محیط‌های کشت سترون مولر هینتون آگار کشت داده شد، در مورد باکتری استرپتوکوک پایوژنز از محیط کشت بلاد آگار استفاده شد. سپس گودال هایی بر روی محیط ایجاد شد. در ابتدا ته چاهک ها با ۱۰ میکرولیتر محیط پر شد تا از نفوذ احتمالی اسانس ها به کف محیط جلوگیری شود و از بروز هر گونه خطا پیشگیری شود.۵۰ میکرولیتر از اسانس مورد نظر به طور جداگانه در چاهک ها ریخته شد و در هر ظرف کشت یک چاهک به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. ظرف های کشت شده مربوط به باکتری‌ها در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۲۴-۲۰ ساعت گرماگذاری شد و بعد از رشد، قطر هاله های مهار رشد مورد سنجش قرار گرفت. آزمایش ها سه بار تکرار شد.

در روش غلظت بازدارندگی کمینه (MIC)، محیط کشت مولر هینتون براث تهیه شد و در ۱۰ لوله به مقدار مساوی ۱ میلی لیتر ریخته شد. پس از اتوکلاو و خنک شدن محیط ها، اسانس مورد بررسی با باکتری‌های یاد شده مورد آزمایش قرار گرفت. بدین روش ۱ میلی لیتر از اسانس در لوله شماره ۱ ریخته شد و بعد به طور پشت‌سر هم از لوله شماره ۱ الی ۱۱ با پیپت های جداگانه رقت تهیه شد، سپس ۰/۱ میلی لیتر از سوسپانسیون باکتری مورد نظر که با شاهد مک فارلند مقایسه شده بود، به هر لوله افزوده شد. بدین ترتیب که لوله شماره ۱ با بیشترین غلظت اسانس و اثر بازدارندگی و لوله شماره ۱۱ با کمترین غلظت اسانس و اثر بازدارندگی بود. لوله های دارای اسانس و باکتری در انکوباتور ۳۷ سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت گرماگذاری شده و نتیجه‌ها پس از ۲۴ ساعت بررسی و مقایسه شد [۵].

ه ـ تعیین خواص آنتی اکسیدانی اسانس

خواص آنتی اکسیدانی با سه روش بتا کاروتین زدایی، تعیین قدرت رادیکال زدایی DPPH و سنجش قدرت احیای فریک (FRAP) با روش‌های استاندارد انجام شد.

روش بتا کاروتین زدایی

در روش بتا کاروتن زدایی فعالیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از مهار ترکیب‌های آلی فرار و Conjugated diene hydroperoxides روش توصیف شده به وسیله‌ی *میرعلی اکبری* و *شهیدی* با اصلاح جزئی استفاده شد [۶]. محلول استوک بتاکاروتن و لینولئک اسید با ۰/۵ میلی‌گرم بتاکاروتن در یک میلی‌لیتر کلروفرم، ۲۵ میکرولیتر لینولئیک اسید و ۲۰۰ میلی‌گرم توئین ۴۰ آماده شد و کلروفرم در خلا تبخیر شده و به آن ۱۰۰ میلی‌لیتر از آب هوادهی شده افزوده شد. نمونه‌ها (۲ گرم/ لیتر) حل شده و ۳۵۰ میکرولیتر از آن به ۵/۲ میلی‌لیتر از مخلوط بالا، موجود درلوله‌ها افزوده شد. لوله‌های آزمایش به مدت ۲ ساعت در حمام آب گرم با دمای ۵۰ درجه سلسیوس همراه با دو تا نمونه شاهد گذاشته شدند. که یکی از آنها دارای آنتی‌اکسیدان BHT به عنوان کنترل مثبت و دیگری دارای DMSO به جای اسانس به عنوان کنترل منفی بود. لوله‌ی دارای BHT در طول انکوبه کردن رنگ خودشان را حفظ کردند. جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شد فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه‌ها (درصد ممانعت‌کنندگی) با استفاده از رابطه زیر به‌دست آمد [۸، ۷].

I% = (Aβ-carotene after 2h assay/ Ainitial β-carotene) × 100

A-βcarotene after 2h assay جذب بتاکاروتن بعد از ۲ ساعت باقی ماندن در نمونه‌ها و Ainitial β-carotene و جذب بتاکاروتن در شروع آزمایش‌ها می‌باشد. تمام آزمایش‌ها سه بار تکرار شد و درصد ممانعت کنندگی با انحراف معیار سه تایی گزارش شد.

تعیین فعالیت رادیکال زدایی با آزمون DPPH

۱۰ میکرولیتر اسانس با ۹۰۰ میکرولیتر محلول ۱۰۰ میلی مولار Tris-HClبا pH برابر با ۷/۴ ، ۴۰ میکرولیتر اتانول و همچنین ۵۰ میکرولیتر TWEEN ۲۰ (۰/۵ درصد وزنی- وزنی) مخلوط شد. این مخلوط به یک میکرولیتر (۰/۵ mM برابر با ۰/۲ mg/mL) DPPH در اتانول افزوده شد. مخلوط به شدت هم‌زده شد و جذب با طول موج ۵۱۷ نانومتر ثبت شد. ثبت تا ۷۰ دقیقه ادامه یافت و نوسان‌ها یادداشت شد تا جایی که دیگر نوسانی دیده نشد. به جای اسانس آب مقطر به عنوان شاهد استفاده شد و (Trolox۱Mm) به عنوان آنتی اکسیدان پایدار استفاده شد [۱۰ ، ۹]. فعالیت رادیکال زدایی اسانس با رابطه زیر و بر اساس درصد ممانعت DPPH محاسبه شد:

Inhibition percentage (IP) = [(AB – AA)/AB] × 100

AB = Absorbance value of blank checked after 70 minutes

AA = Absorbance value of sample checked after 70 minutes

سنجش قدرت احیای فریک[1]

یک میلی لیتر از رقت‌های گوناگون اسانس به ۲/۵ میلی لیتر بافر ۰/۲M پتاسیم فسفات با pH ۶/۶ و ۲/۵ میلی لیتر پتاسیم فری سیانید ۱٪ افزوده شد و در دمای ۵۰ درجه سلسیوس به مدت ۲۰ دقیقه انکوبه شد. سپس ۲/۵ میلی لیتر تری کلرو استیک اسید ۱۰٪ به آن افزوده شد. این ترکیب به چند بخش ۲/۵ میلی لیتری تقسیم شده و با ۲/۵ میلی لیتر آب دی یونیزه مخلوط شد. ۰/۵ میلی لیتر $FeCl_3$ ۰/۱٪ (وزن/حجم) به هر کدام افزوده شد و پس از ۳۰ دقیقه جذب در ۷۰۰ نانومتر سنجیده شد. آزمون FRAP به صورت معادل گالیک اسید (GAE) در mg/g نمونه محاسبه شد [۱۱].

تعیین کل فلاونوئید ها

برای تعیین کل فلاونوئیدهای موجود در اسانس گیاه، ۰/۲۵ میلی لیتر از نمونه رقیق شده به یک لوله دارای یک میلی لیتر آب دوبار تقطیر شده افزوده شد. سپس ۰/۷۵ میلی‌لیتر از ۵٪ $NaNO_2$ و ۰/۰۷۵ میلی لیتر از ۱۰٪ $AlCl_3$ و ۰/۵ میلی لیتر از محلول یک مولار NaOH، در زمان صفر و پنج و شش دقیقه پشت سر هم افزوده شدند. سرانجام حجم محلول واکنش به همراه آب دوبار تقطیر شده به میزان ۲/۵ میلی لیتر تنظیم شد. جذب محلول به وسیله اسپکتروفوتومتر در طول موج ۵۱۰ نانومتر اندازه گیری شد، محتوای فلاونوئیدی موجود در هر عصاره گیاه بر اساس میلی گرم کاتچین هم ارز (CE) بر گرم عصاره گیاه بیان شد [۱۲].

نتیجه ها و بحث

اسانس به دست آمده از اندام هوایی گیاه *P. aucheri* به‌صورت روغن زرد روشن بود و بازده نسبت به وزن خشک گیاه (W/W) ۰/۲۱٪ بود. پس از تزریق نمونه به دستگاه کروماتوگرافی GC و GC/MS، با محاسبه و بررسی مؤلفه‌های گوناگون مانند اندیس‌های بازداری کواتس و بررسی طیف های جرمی ترکیب‌های موجود در اسانس و مقایسه تمامی این مؤلفه ها با ویژگی‌های ترکیب‌های استاندارد به شناسایی اجزای موجود در اسانس‌ها اقدام شد. کلیه ترکیب های شناسایی شده در اسانس ها به همراه در صد نسبی و شاخص بازداری در جدول ۱ قابل دیدن است.

در اسانس گیاه، ۴۷ ترکیب شناسایی شد که در مجموع ۹۲/۸۸ درصد از اسانس را تشکیل می دهند. از میان ترکیب‌های شناسایی شده، ترکیب غیر ترپنوئیدی (۲۴/۵۸٪) E-anethole و همچنین سزکوئی ترپن هیدروکربنی (۱۱/۱۰٪) germacrene D عمده بودند. سایر ترکیب‌های شایان توجه عبارتند از سزکوئی ترپن‌های (۶/۳٪) bicyclogermacrene، (۶/۰۱٪) spathulenol، (۵/۵۸٪) β-caryophyllene، (۴/۵۳٪) germacrene B و همچنین مونوترپن (۴/۵۸٪) neryl acetate. بنابراین بخش عمده روغن اسانسی این گیاه را سزکوئی ترپن ها با درصد (۵۱/۸۲٪) تشکیل می‌دهند. در حالی که درصد مونو ترپن‌ها و ترکیب‌های غیر ترپنوئیدی در این روغن اسانسی به ترتیب برابر با (۱۳/۳۲٪ و ۲۷/۷۴٪) بود

نتیجه‌های به دست آمده از بررسی خواص ضد میکروبی اسانس گیاه *P. aucheri* در مقایسه با جنتامایسین به عنوان استاندارد و به دو روش سنجش قطر هاله مهار رشد بر روی محیط کشت مولر ـ هینتون آگار و روش غلظت بازدارندگی کمینه، در جدول ۲ آورده شده است.

اثر ضد میکروبی در مقابل ۶ باکتری گرم مثبت و منفی اندازه‌گیری شد. مطابق با نتیجه‌های به دست آمده ، اسانس این گیاه خواص آنتی میکروبی دلخواهی را در برابر باکتری‌های گرم مثبت *Bacillus anthracis* و *Staphylococcus aureus* نشان می‌دهد. در صورتی که این اسانس در برابر باکتری‌های گرم منفی مورد آزمایش به ویژه *Klebsiella pneumonia* و *Pseudomonas aeruginosa* بی‌اثر بوده است [۱۳].

مقدارهای غلظت بازدارندگی کمینه و قطر هاله مهار رشد برای هر باکتری در جدول ۲ آورده شده است.

خواص آنتی اکسیدانی با سه روش بتا کاروتین زدایی، تعیین قدرت رادیکال زدایی DPPH و سنجش قدرت احیای فریک (FRAP) با روش های استاندارد اندازه‌گیری شد. در روش بتا کاروتین زدایی به ازای (۰/۶۲۵ mg/mL) اسانس، مقدار ۲/۵ ± ۵۶/۶۵ ٪ به دست آمد. مقدار DPPH به ازای (۱۰ mg/mL) اسانس، برابر با ۱/۵ ± ۶۳/۶ ٪ و میزان IC_{50} برابر با مقدار ۴/۷۵ µg/mL به دست آمد. قدرت احیای فریک ۰/۵ ± ۷/۵۵ میلی گرم بر گرم معادل گالیک اسید به دست آمد. محتوای کل فنلی معادل با ۶/۵۰ ± ۱۴۶/۶۰ میکروگرم گالیک اسید بر میلی گرم نمونه به دست آمد. مقدارهای خواص آنتی اکسیدان و محتوای فنلی در جدول ۳ آورده شده است.

(۱) Ferric-reducing power assay (FRAP)

جدول ۱ـ ترکیب‌های شناسایی شده اسانس اندام هوایی گیاه *P. aucheri*.

ترکیب	KI	درصد	ترکیب	KI	درصد
α–Thujene	۹۳۱	۰/۱۲	α-Humulene	۱۴۵۴	۰/۸۵
α–Pinene	۹۳۹	۳/۱۲	E-β–Farnesene	۱۴۵۸	۰/۷۵
β–Pinene	۹۸۰	۰/۱۳	E-9-epi-Caryophyllene	۱۴۶۷	۰/۷۸
Myrcene	۹۹۱	۰/۱۵	Germacrene D	۱۴۸۰	۱۱/۱۰
α-Phellandrene	۱۰۰۵	۰/۱۸	Viridiflorene	۱۴۹۳	۹/۳۸
Limonene	۱۰۳۱	۰/۶۲	Bicyclogermacrene	۱۴۹۴	۶/۳۰
Fenchone	۱۰۸۷	۲/۶۵	Germacrene A	۱۵۰۳	۰/۶۳
Linalool	۱۰۹۸	۰/۱۳	7-epi-α-Selinene	۱۵۱۷	۰/۴۲
Nonanal	۱۰۹۸	۰/۱۲	δ-Cadinene	۱۵۲۴	۲/۵۸
Camphor	۱۱۴۳	۰/۴۷	Z-Nerolidol	۱۵۳۴	۰/۷۷
Terpinene-4-ol	۱۱۷۷	۰/۱۵	Germacrene B	۱۵۵۶	۴/۵۳
Methyl chavicol	۱۱۹۵	۰/۴۷	E-Nerolidol	۱۵۶۴	۰/۹۳
endo Fenchyl acetate	۱۲۲۰	۰/۲۳	Spathulenol	۱۵۷۶	۶/۰۱
exo Fenchyl acetate	۱۲۳۴	۰/۶۱	Viridiflorol	۱۵۹۰	۰/۵۲
p-anis aldehyde	۱۲۵۲	۰/۳۰	iso-Spathulenol	۱۶۳۸	۰/۳۰
E-Anethole	۱۲۸۳	۲۴/۵۸	α–Murrolol	۱۶۴۵	۰/۴۷
δ-Elemene	۱۳۳۹	۰/۳۲	β–Eudesmol	۱۶۴۹	۲/۶۸
Citronellyl acetate	۱۳۵۴	۰/۱۸	α–Cadinol	۱۶۵۳	۱/۰۱
Neryl acetate	۱۳۶۵	۴/۵۸	α–Bisabolol	۱۶۸۳	۰/۷۲
α-Copaene	۱۳۷۶	۰/۷۶	(E,E)-Farnesol	۱۷۲۲	۰/۷۰
β-Bourbonene	۱۳۸۴	۰/۵۵	6,10,14-trimethyl-2-Pentadecanone	۱۸۷۲	۱/۱۵
β-Caryophyllene	۱۴۱۸	۵/۵۸	Hexadecanoic acid	۱۹۷۳	۰/۳۵
β-Gurjuneneene	۱۴۳۲	۰/۱۵	Eicosane	۲۰۰۰	۰/۷۷
γ-Elemene	۱۴۳۳	۰/۳۶	total		۹۲/۸۸

**KI, Relative retention indices were calculated against n-alkanes*

جدول ۲ـ نتیجه‌های خواص آنتی میکروبی اسانس گیاه *P. aucheri*.

میکروارگانیسم	Gram +/-	IZ (mm)	MIC (mg/mL)	Gentamicin (mm)
Bacillus anthracis RITCC 1036	+	۵۰	۳/۱۲۵	۳۲
Klebsiella pneumonia RITCC 1249	−	−	−	۲۰
Escherichia coli RITCC 1330	−	۲۰	۲۵	۱۳
Pseudomonas aeruginosa RITCC 1574	−	−	−	۱۶
Stereptococcus pyogenes RITCC 1949	+	۳۰	۱۲/۵	۱۳
Staphylococcus aureus RITCC 1885	+	۴۰	۶/۲۵	۱۳

IZ - Inhibition Zone; MIC- Minimum Inhibitory Concentration

جدول ۳ـ نتیجه‌های بررسی خواص آنتی اکسیدان و محتوای فنلی اسانس گیاه ***P. aucheri*** .

DPPH effect (%) (amount of essential oil)	۶۳٫۶ ± ۱٫۵ (۱۰mg/mL)
DPPH (IC_{50})	۴٫۷۵ µg/mL
β-carotene–linoleic acid assay (amount of essential oil)	۵۶٫۶۵ ± ۲٫۵ (۰٫۶۲۵ mg/mL)
Ferric-Reducing Antioxidant Power (FRAP) (Gallic acid equivalent)	۷٫۵۵ ± ۰٫۵ mg/g Gallic acid equivalent
Total phenolic content GAE (µg gallic acid/mg sample)	۱۴۶٫۶۰ ± ۶٫۵۰ µg gallic acid/mg of oil

نتیجه گیری

از آنالیز روغن اسانسی به دست آمده از اندام هوایی گیاه *p. aucheri* توسط دستگاه‌های GC و GC/MS، ۴۷ ترکیب با درصد ۹۲٫۸۸٪ شناسایی شد، که از این میان ترکیب غیرترپنوئیدی (۲۴٫۵۸٪) E-anethole و همچنین سزکوئی ترپن هیدروکربنی (۱۱٫۱۰٪) germacrene D عمده بوده است. سایر ترکیب‌های با غلظت بالا عبارتند از سزکوئی ترپن‌های (۶٫۳٪) bicyclogermacrene، (۶٫۰۱٪) spathulenol، (۵٫۵۸٪) β-caryophyllene، (۴٫۵۳٪) germacrene B و همچنین مونوترپن (۴٫۵۸٪) neryl acetate . به‌طور کلی روغن اسانسی این گیاه شامل سزکوئی ترپن‌ها با درصد (۵۱٫۸۲٪)، ترکیب‌های غیر ترپنوئیدی با غلظت (۲۷٫۷۴٪) و مونو ترپن ها با درصد (۱۳٫۳۲٪) بوده است. بررسی اثر ضد میکروبی این اسانس در برابر ۳ باکتری گرم مثبت و ۳ باکتری گرم منفی نشان داد که اسانس این گیاه خواص آنتی میکروبی دلخواهی را در برابر باکتری‌های گرم مثبت *Bacillus anthracis* و *Staphylococcus aureus* نشان می‌دهد. شایان گفتن است که این اسانس در برابر باکتری‌های گرم منفی مورد آزمایش به ویژه *Klebsiella pneumonia* و *Pseudomonas aeruginosa* بی اثر بوداسانس این گیاه خواص ضد میکروبی دلخواهی را در مقابل باکتری *Bacillus anthracis* از خود نشان داد. خواص آنتی اکسیدانی به سه روش بتا کاروتین زدایی، تعیین قدرت رادیکال‌زدایی DPPH و سنجش قدرت احیای فریک (FRAP) با روش های استاندارد انجام شد. در روش بتا کاروتین زدایی به ازای (۰٫۶۲۵mg/mL) اسانس، مقدار ٪ ۲٫۵ ± ۵۶٫۶۵ به دست آمد. در روش تعیین قدرت رادیکال زدایی، مقدار DPPH به ازای (۱۰ mg/mL) اسانس، برابر با ٪ ۱٫۵ ± ۶۳٫۶ و میزان IC_{50} برابر با ۴٫۷۵ µg/mL بدست آمد. مقدارهای سنجش قدرت احیای فریک ۰٫۵ ± ۷٫۵۵ میلی گرم بر گرم معادل گالیک اسید و محتوای کل فنلی معادل با ۶٫۵۰ ± ۱۴۶٫۶۰ میکروگرم گالیک اسید بر میلی گرم نمونه بدست آمد. ترکیب‌های فنولی نقش بسیار مهمی در ایجاد خواص آنتی اکسیدانی یک گیاه بر عهده دارند. بنابراین بررسی خواص آنتی اکسیدانی بر روی این اسانس نشان داد که این گیاه می تواند به عنوان یک آنتی اکسیدان طبیعی عمل کند.

قدردانی

از دکتر ولی ا... مظفریان به خاطر جمع آوری و نامگذاری گیاه تشکر می‌شود.

تاریخ دریافت : ۱۳۹۰/۳/۲۸ ؛ تاریخ پذیرش : ۱۳۹۳/۹/۳

مراجع

[1] Tsitsimi E., Loukis A., Verykokidou E., Composition of the Essential Oil of the Flowers of *Phlomis fruticosa* L. from Greece, *Journal of Essential Oil Research*, **12**(3): 355-356 (2000).

[2] Couladis M., Tanimanidis A., Tzakou O., Chinou I.B., Hervalia C., Essential Oil of *Phlomis lanata* Growing in Greece: Chemical Composition and Antimicrobial Activity, *Planta Medica*, **66**(7): 670-672 (2000).

[3] Khalilzadeh M.A., Rustaiyan A., Masoudi S., Tajbakhsh M., Essential Oils of *Phlomis persica* Boiss. and *Phlomis olivieri* Benth. from Iran, *Journal of Essential Oil Research*, **17**(6): 624-625 (2005).

[4] Adams R.P., "Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy", Allured Publishing Corp., Carol Stream, IL (1995).

[5] Taherkhani M., Masoudi S., Rustaiyan A., Chemical Composition and Antibacterial Activities of the Essential Oil of Iranian *Xanthogalum Purpurascens*, *Iranian Journal of Chemistry and Chemical Engineering (IJCCE)*, **31**(3-4): 59-64 (2013).

[6] Miraliakbari H., Shahidi F., Antioxidant Activity of Minor Components of Tree Nut Oils, *Food Chemistry*, **111**(2): 421-427 (2008).

[7] Taga M.S., Miller E.E., Pratt D.E., Chia Seeds as a Source of Natural Lipid Antioxidant, *Journal of the American Oil Chemists Society*, **61**(5): 928-931 (1984).

[8] Choi H.S., Song H.S., Ukeda H., Sawamura M., Radical Scavenging Activities of Citrus Essential Oils and their Components: Detection Using 1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **48**(9): 4156-4161 (2000).

[9] Burits M., Bucar F., Antioxidant Activity of Nigella Sativa Essential Oil, *Phytotherapy Research*, **14**(5): 323-328 (2000).

[10] Cuendet M., Hostettmann K., Potterat O., Iridoid Glucosides with Free Radical Scavenging Properties from *Fagraea blumei*, *Helvetica Chimica Acta*, **80**(4): 1144-1152 (1997).

[11] Lim T.Y., Lim Y.Y., Yule C.M., Evaluation of Antioxidant, Antibacterial and Anti- Tyrosinase Activities of four Macaranga Species, *Food Chemistr*, **114** (2): 594-599 (2009).

[12] Kahkonen M.P., Hopia A.I., Vuorela H.J., Rauha J.P., Pihlaja K., Kujala T.S., Heinonen M., Antioxidant Activity of Plant Extracts Containing Phenollic Compounds, *J Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **47**(10): 3954-3962 (1999).

[13] Mammadov R., Ili P., Ertem Vaizogullar H., Afacan Makascı A., Antioxidant Activity and Total Phenolic Content of *Gagea fibrosa* and *Romulea ramiflora*, *Iranian Journal of Chemistry and Chemical Engineering (IJCCE)*, **30** (3): 57-62 (2011).