بررسی ترکیب‌های شیمیائی اسانس و فعالیت ضدمیکروبی عصاره گیاه دارویی *Acinos graveolense* (M. B.) Link در منطقه قمصر کاشان

حسین بتولی[1*]، عبدالرسول حقیر ابراهیم‌آبادی[2]، ناهیده سادات حقیقی[3]

[1]استادیار پژوهش، باغ گیاه‌شناسی کاشان، موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

[2]دانشیار، پژوهشکده اسانس‌های طبیعی، دانشگاه کاشان، کاشان، ایران

[3]دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد شیمی و فن‌آوری اسانس، پژوهشکده اسانس‌های طبیعی دانشگاه کاشان، کاشان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۵/۲۳ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۹/۱۱

چکیده

جنس "آویشنک" (*Acinos* Miller.) متعلق به خانواده نعنا (Lamiaceae)، دارای گونه‌های بوته‌ای-علفی متعددی است که تاکنون بالغ بر ۱۰ گونه از این جنس در جهان و تنها دو گونه از ایران گزارش شده است. در این تحقیق ترکیب‌های شیمیائی اسانس و فعالیت ضدمیکروبی عصاره گیاه "آویشنک" *Acinos graveolense* (M. B.) Link مورد بررسی قرار گرفته است. سرشاخه‌های گل‌دار گیاه در بهار ۱۳۹۳ از گُستره رویشگاه‌های طبیعی واقع در منطقه قمصر کاشان، جمع‌آوری و در شرایط آزمایشگاه خشک و به روش تقطیر و استخراج با بخار همزمان با حلال آلی (SDE) اسانس‌گیری شدند. برای شناسائی ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس، از دستگاه‌های گاز کروماتوگرافی (GC) و گاز کروماتوگرافی متصل شده به طیف‌سنج جرمی (GC/MS) استفاده شد. عصاره‌گیری به روش حرارت و با استفاده از حلال متانول انجام گرفت. اثر ضدمیکروبی عصاره متانولی گیاه به دو روش دیسک دیفیوژن و روش حداقل غلظت مهارکننده رشد علیه یازده میکروارگانیسم مورد بررسی قرار گرفت. راندمان اسانس ۰/۱ درصد وزنی/وزنی بدست آمد. ۲۷ ترکیب شیمیائی در اسانس گیاه آویشنک شناسائی شدند. اجزای اصلی اسانس به‌ترتیب شامل: ژرماکرن-دی (۵۶/۶ درصد)، بی‌سیکلوژرماکرن (۸/۷ درصد)، کاریوفیلن اکساید (۷/۵ درصد)، ترانس کاریوفیلن (۴/۵ درصد) و لیمونن (۳/۴ درصد) بودند. بخش عمده‌ای از ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس سرشاخه‌های گل‌دار گیاه، سسکوئی‌ترپن‌های هیدروکربنی بودند. عصاره گیاه آویشنک در سه مورد از میکروارگانیسم‌ها (*Klebsiella pneumounia*، *Staphylococcus epidermidis* و *Salmonella paratyphi- Aserotype*) فعالیت ضدمیکروبی مختصری نشان دادند. به‌دلیل بالا بودن مقادیر سسکوئی‌ترپن‌های موجود در اسانس این گونه و به‌واسطه فعالیت ضدمیکروبی این نوع سسکوئی‌ترپن، اندام‌های هوایی گیاه آویشنک پتانسیل مناسبی برای استفاده در تهیه داروهای ضدمیکروبی با منشاء طبیعی دارد.

واژه‌های کلیدی: آویشنک، آنتی باکتریال، اسانس، ژرماکرن- دی، قمصر کاشان

*نویسنده مسئول: ho_batooli@Yahoo.com

مقدمه

نام علمی جنس .*Acinos* Miller از نام یونانی آن (Akinos) به معنای «گیاه معطر کوچک» اقتباس شده است (Bonnier, 1927; Bown, 1995). نام قدیم این جنس، .*Calamintha* Miller می‌باشد که بیش از ۷ گونه از این جنس در غرب اروپا تا مرکز آسیا گزارش شده است (Usher, 1984). تاکنون بیش از ده گونه از جنس آویشنک در جهان شناسائی شده که عمدتا در نواحی مدیترانه به سمت آسیای مرکزی توزیع شده‌اند (Mabberley, 1990). سازمان بین‌المللی اطلاعات گیاهی (The International Organization for Plant Information)، ۱۱ گونه از این جنس را گزارش کرده است (Stojanovi et al., 2009). بیش از پنج گونه از این جنس در صربستان شناسائی شده است (Golubovic et al., 2010). جنس *Acinos* Miller در ایران دارای دو گونه گیاه علفی یک‌ساله و دو ساله معطر می‌باشد (Jamzad, 2012; Rechinger, 1982).

گونه *A. arvensis* (Lam.) Dandy گیاهی دو ساله، برگ‌ها تخم مرغی تا مستطیلی، دارای کُرک‌های کاسه گل خار مانند و ایستاده است. در حالی‌که گونه *A. graveolense* (M. B.) Link گیاهی علفی یک‌ساله و دارای کُرک‌های کاسه متفاوت است. ساقه در این گونه به ارتفاع ۲ تا ۳۰ سانتی‌متر، ساده و یا از قاعده منشعب و پوشیده از کُرک‌های سفید، گُسترده و بلند می‌باشند. ولیکن کُرک‌های غده‌دار کوتاه‌تر است. برگ‌ها دُم‌برگ‌دار، ساده، با حاشیه صاف و در نیمه بالائی دارای یک تا سه جفت دندانه است. گُل‌آذین در چرخه‌های نزدیک به‌هم و به‌طول ۲ تا ۴ میلی‌متر تشکیل شده است. میوه فندقه مستطیلی- تخم‌مرغی می‌باشد (Jamzad, 2012). نام مترادف این گونه در منابع گیاه‌شناسی .*Calamintha graveolense* Benth، *Thymus graveolense* M.B.، *Calamintha rotundifolia*، *Saturrja rotundifolia* Fedtsch. & Fler ذکر شده است (Jamzad, 2012; Mozaffarian, 1996). آویشنک بر اساس سیستم رده‌بندی کانتینو و همکاران (Cantino et al.,1992) و هارلی و همکاران (Harley et al., 2004)، متعلق به طایفه Nepetoidae، زیرخانواده Lamioideae و خانواده Laminaceae می‌باشد.

جنس آویشنک یکی از جنس‌های کوچک تیره نعنا (Lamiaceae) محسوب شده که عمدتا بومی اروپا، مدیترانه، آسیای مرکزی، شمال آفریقا و شمال آمریکا می‌باشد (Bonnier, 1927; Bown, 1995). گونه *A. graveolens* علاوه بر ایران در ترکمنستان، عراق، افغانستان، روسیه، آناتولی و مناطق شرقی مدیترانه نیز انتشار یافته است (Mozaffarian, 1996). افزون براین، این گونه در جنوب غرب آسیا و قفقاز نیز توزیع شده است (Usher, 1984). عمده انتشار جغرافیائی گونه *A. graveolens* مربوط به غرب مدیترانه و شمال آفریقا است (Silic, 1979; Zlatkovic and Ranjelovic, 2004). همچنین در اروپا و آسیای مرکزی نیز انتشار یافته است (Jamzad, 2012).

این گیاه اغلب در دامنه‌های کوهستانی و سنگلاخی و یا به‌عنوان زیراشکوب جنگل‌های بلوط، بادام و اُرس در ناحیه رویشی ایرانی-تورانی رویش می‌یابد (Jamzad, 2012). پراکنش جغرافیائی آویشنک در استان‌های مازندران، تهران، خراسان، اصفهان، همدان، کرمان، چهار محال و بختیاری، لرستان، فارس، سمنان و قزوین می‌باشد (Jamzad, 2012; Rechinger, 1982). این گونه اغلب در حاشیه باغ‌ها و اراضی زراعی ارتفاعات قمصر و قزاآن کاشان می‌روید (Batooli, 2004).

تعدادی از گونه‌های جنس آویشنک در طب سُنتی به‌عنوان ضدعفونی‌کننده، محرک، مقوی و آنتی‌اسپاسمودیک کاربرد دارد. همچنین گونه‌های

مختلف این جنس اثرات مطلوبی روی رفع ناراحتی‌های معده-روده‌ای، دردهای سیاتیک، دندان-درد، ضدافسردگی و دردهای با منشاء عصبی نیز به اثبات رسیده است (Soules and Katsiotis, 1988; Kaya et al., 1999; Velasco-Negueruela et al., 1993). سرشاخه‌های گل‌دار گونه *A. arvensis* به‌عنوان یک طعم‌دهنده (Grieve, 1984; Kunkel, 1984; Facciola, 1990) و در انواع سالاد استفاده می‌شود (Bown, 1995). آویشنک بوئی مشابه عطر و بوی گونه‌های مختلف آویشن دارد، اما ملایم‌تر و لذت بخش‌تر از آویشن می‌باشد (Facciola, 1990). اگرچه امروزه از اثرات درمانی گیاه *A. arvensis* استفاده‌های گسترده نمی‌شود، لیکن به‌عنوان یکی از گیاهان طعم‌دهنده شاخص، مورد علاقه هربالیست‌های عهد باستان بوده است (Grieve, 1984). سرشاخه‌های این گونه یک جایگزین بسیار خوبی را برای گیاه آویشن است (Bown, 1995). اندام‌های هوائی گیاه *A. arvensis* طب سنتی به‌عنوان مُدر و رفع ناراحتی‌های شکمی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Grieve, 1984; Usher, 1974; Bown, 1995). در حالی که یک قطره از اسانس گیاه آویشنک روی دندان فاسد قرار گیرد، باعث کاهش درد می‌شود (Grieve, 1984). در صورتی‌که این گیاه به آب حمام اضافه شود، به‌عنوان استحکام‌دهنده و تسکین‌دهنده دردهای عصبی کودکان، بسیار مفید است (Grieve, 1984). سرشاخه‌های گل‌دار تازه گیاه در فصل تابستان جمع‌آوری و معمولا در انواع دم‌نوش‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد (Bown, 1995). پژوهش‌های محققان دانشگاه زاگرب نشان داد، برگ‌های دو گونه جنس آویشنک (*A. rotundifolius* و *A. graveolense*) دارای اثرات ضدمیکروبی گزارش شده است (Carović-Stanko et al., 2016).

دانه‌های آویشنک به‌عنوان محرک، مقوی و محرک جنسی کاربرد دارد (Usher, 1984). مطالعات نشان داده اسانس گونه *A. graveolens* صربستان، تاثیری بسیار قابل توجهی در مهار رشد قارچ *Candida albicans* نشان داده است (Golubovic et al., 2010). در عصاره الکلی و آبی این جنس تعدادی از فلاونوئیدها نیز استحصال شده است (Stojanovi et al., 2009).

ترکیب‌های شیمیائی اسانس گونه‌های مختلف این جنس نظیر گونه *A. hungaricus* (Jovanovic et al., 2002; Chalchat et al., 2004)، گونه *A. arvensis* (Hanlidou et al., 1991; Kaya et al., 1999; Jovanovic et al., 2005)، گونه *A. suaveolens* (Hanlidou et al., 1991; Kaya et al., 1999)، گونه *A. alpinus* (Kaya et al., 1999; Skaltsa et al., 1999)، گونه *A. majoranifolius* (Pavlovic et al., 1983)، گونه *A. rotundifolius* (Kaya et al., 1999) و گونه *A. troodi* (Kaya et al., 1999)، گزارش شده است. میزان و نوع اسیدهای چرب دو گونه *A. alpinus* و *A. hungaricus* نیز مطالعه شده است (Jovanovic et al., 2008). ۳۷ ترکیب شیمیائی در اسانس گونه *A. hungaricus* به روش تقطیر با آب بدست آمد. عمده ترکیب‌های شیمیائی تشکیل‌دهنده اسانس این گونه شامل: کاریوفیلن اکساید (۱۶/۸ درصد)، ژرانیول (۹/۷ درصد)، بتا-بوربونن (۵/۷ درصد) و گلوبولول (۵/۶ درصد) گزارش شد (Jovanovic et al., 2002). راندمان اسانس اندام‌های هوائی گونه *A. graveolens* صربستان، ۰/۰۶ درصد حجمی/وزنی بدست آمد. ۴۵ ترکیب در اسانس گیاه شناسائی شد (Golubovic et al., 2010). راندمان اسانس گونه *A. graveolens* دشت ارژن استان فارس به روش تقطیر با آب، ۰/۰۱

درصد وزنی/وزنی بدست آمد (Javidnia et al., 2010).

نتایج حاصل از بررسی اثر غلظت‌های مختلف ساکارز بر رشد و نمو قطعات جدا کشت و تولید متابولیت‌های ثانویه گیاه آویشنک نشان داد، میان میزان رشد و تولید متابولیت‌های ثانویه رابطه عکس وجود دارد. غلظت بالای ساکارز هر چند باعث کاهش رشد بافت‌ها می‌گردد، اما میزان متابولیت‌های ثانویه را افزایش می‌دهد (Akbari, 2015).

به‌واسطه شباهت مورفولوژیکی این گونه با سایر گونه‌های یک‌ساله جنس آویشن (*Ziziphora* L.)، به ویژه گونه‌های *Z. tenuior* و *Z. capitata*، معمولاً در زمان جمع‌آوری آویشن، این گونه نیز توسط بومیان محلی همراه با آویشن از عرصه رویشگاه‌های طبیعی جمع‌آوری می‌گردد (Batooli, 2000). از آنجائی‌که گیاه آویشنک به‌عنوان گیاه داروئی یک‌ساله فصل بهار منطقه کوهستانی کاشان محسوب شده و با توجه به انعطاف بوم‌شناسی این گونه و پراکنش نسبتاً محدود آن در نواحی خشک و نیمه‌خشک ناحیه رویشی ایرانی-تورانی، حفاظت از این گونه و بررسی پیرامون شناسائی ترکیب‌های تشکیل‌دهنده آن و بررسی اثرات ضدمیکروبی عصاره، جزء اولویت‌های اجتناب‌ناپذیر محسوب می‌گردد. از طرفی به دلیل اهمیت مواد موثره این گیاه در طب سنتی و کاربردهای متعدد سرشاخه‌های خشک آن در درمان بیماری‌ها، می‌طلبد مواد تشکیل‌دهنده آن مورد مداقه قرار گیرد. بنابراین پژوهش حاضر به‌منظور شناسائی ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس اندام‌های هوائی این گیاه می‌باشد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری، خشک کردن گیاه و استخراج اسانس: اندام‌های هوائی این گیاه در بهار سال ۱۳۹۳ از گُستره رویشگاه‌های طبیعی (واقع در ارتفاعات ۲۶۵۰ متر از سطح دریا- منطقه قمصر کاشان)، جمع‌آوری و در شرایط آزمایشگاه خشک شدند. نمونه‌های گیاهی به روش استخراج و تقطیر با بخار همزمان با حلال آلی (SDE) اسانس‌گیری شدند. بازده اسانس بر حسب درصد وزنی/ وزنی برآورد شد. پس از مرحله آب‌گیری توسط سدیم سولفات، تا زمان تزریق به دستگاه در شیشه تیره و در یخچال نگهداری شد. مدت زمان اسانس‌گیری برای گیاه، بین ۲ تا ۲/۵ ساعت انتخاب شد.

شناسائی ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس: برای شناسائی ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس، از دستگاه‌های گاز کروماتوگرافی (GC) و گاز کروماتوگرافی متصل شده به طیف‌سنج جرمی (GC/MS) استفاده شد. شناسایی طیف‌ها به کمک محاسبه شاخص‌های بازداری کواتس (RI) و با تزریق هیدروکربن‌های نرمال (C8-C24) تحت شرایط یکسان با تزریق اسانس‌ها انجام شد و با مقادیری که در منابع مختلف منتشر گردیده بود، مقایسه شد. بررسی طیف‌های جرمی نیز جهت شناسایی ترکیب‌ها انجام شد و شناسایی‌های صورت گرفته، با استفاده از طیف‌های جرمی ترکیب‌های استاندارد و استفاده از اطلاعات موجود در کتابخانه‌های مختلف تأیید گردید. درصد نسبی هر کدام از ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس‌ها با توجه به سطح زیر منحنی آن در طیف کروماتوگرام بدست آمد و با مقادیری که در منابع مختلف با در نظر گرفتن اندیس بازداری منتشر شده، مقایسه گردید (Shibamoto, 1987؛ Davies, 1990).

مشخصات دستگاه‌های مورد استفاده

گاز کروماتوگرافی (GC): برای کروماتوگرافی گازی، از دستگاه GC مدل HP-6890 مجهز به شناساگر FID و ستون کاپیلاری HP-5MS به طول

ستون ۳۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر که ضخامت لایه فاز ساکن در آن ۰/۲۵ میکرومتر، استفاده شد. برنامه‌ریزی حرارتی ستون از ۶۰ درجه سانتی‌گراد شروع شد و پس از سه دقیقه توقف در همان دما، به‌تدریج با سرعت ۶ درجه در دقیقه افزایش یافته تا به دمای ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد رسید. دمای شناساگر و محفظه تزریق ۲۹۰ درجه سانتی‌گراد بوده است. گاز حامل نیتروژن با درجه خلوص ۹۹/۹۹۹ درصد مورد استفاده قرار گرفت. سرعت جریان گاز حامل ۱ میلی‌متر بر دقیقه بود.

گاز کروماتوگرافی متصل شده به طیف‌سنج جرمی (GC/MS): برای طیف GC/MS از دستگاه گاز کروماتوگراف متصل‌شده به طیف‌سنج جرمی مدل HP-6890 مجهز به شناساگر طیف‌سنج جرمی و ستون کاپیلاری HP-5MS به طول ستون ۳۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر که ضخامت لایه فاز ساکن در آن ۰/۲۵ میکرومتر بود، استفاده شد. برنامه‌ریزی حرارتی ستون از ۶۰ درجه سانتی‌گراد شروع شد و پس از سه دقیقه توقف در همان دما، به‌تدریج با سرعت ۶ درجه در دقیقه افزایش یافت تا به دمای ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد رسید. دمای شناساگر و محفظه تزریق ۲۹۰ درجه سانتی‌گراد بود. گاز حامل نیتروژن با درجه خلوص ۹۹/۹۹۹ درصد مورد استفاده قرار گرفت. سرعت جریان گاز حامل ۱ میلی‌متر بر دقیقه بود. ضمن این‌که دمای خط انتقال ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد، ولتاژ یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت و جریان یونیزاسیون برابر ۱۵۰ میکروآمپر تنظیم گردید.

عصاره‌گیری از نمونه‌های گیاهی: مقادیر ۱۰ گرم از سرشاخه‌های هوایی گیاه خشک شده آویشنک، جداگانه توزین و به‌صورت پودر تهیه شد. عصاره‌گیری با استفاده از دستگاه سوکسله و حلال متانول به مدت ۸ ساعت انجام شد. سپس عصاره حاصله توسط تبخیرکننده دوار در فشار کاهش یافته و دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد تغلیظ شده و برای تبخیر کامل حلال، به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. از عصاره آماده شده، جهت انجام آزمایش‌های میکروبی استفاده شد (Sokmen et al., 1999).

بررسی اثرات ضدمیکروبی عصاره

بررسی فعالیت ضدمیکروبی با روش دیسک دیفیوژن: سویه‌های مختلف استاندار از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه گردید و بعد از کشت روی محیط نوترینت آگار، از آنها سوسپانسیون‌هائی با رقت ۰/۵ مک‌فارلند CFU/ml $۱/۵ \times ۱۰^{۸}$ تهیه گردید. محلول ۰/۵ مک‌فارلند با افزودن ۰/۵ میلی‌لیتر از ۱/۱۷۵ درصد از محلول باریم کلراید دهیدرات ($BaCl_2, 2H_2O$) به ۹۹/۵ میلی‌لیتر سولفوریک اسید یک درصد بدست می‌آید (National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1997).

سویه‌های میکروبی مورد استفاده: میکروارگانیسم‌های مورد مطالعه در این پژوهش شامل یک سویه مخمر به نام *Candida albicans* ATCC10231، دو گونه قارچ ATCC16404 *Aspergillus niger* و *Aspergillus brasiliensis* PTCC 5011، سه نوع باکتری گرم منفی به نام‌های *Escherichia coli* ATCC10536, *Bacillus subtilis* ATCC6633, *Proteus vulgaris* PTCC1182 و پنج نوع باکتری گرم مثبت به نام‌های *Staphylococcus aureus* ATCC29737, *Klebsiella pneumoniae* ATCC10036, *Shigella dysenteriae* ATCC1188, *Salmonella paratyphi-Aserotype* ATCC5702-9, *Staphylococcus epidermidis* ATCC12228 بودند.

تعیین اثرات ضدمیکروبی عصاره گیاه مورد مطالعه (در شرایط In vitro): این روش طبق استانداردهای NCCLS (National Committee Clinical Laboratory Standard) سال ۱۹۷۷ انجام گرفت. برای این منظور پلیت حاوی محیط کشت مولر هینتون

آگار تهیه شد. محیط کشت برای قارچ *Candida albicans* از محیط سابورو دکستروز آگار استفاده شد. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیوهای میکروبی با کدورت معادل ۰/۵ مک‌فارلند در شرایط یکنواخت در سطح محیط کشت، کشت داده شد. عصاره گونه مورد مطالعه با غلظت ۳۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر دی‌متیل سولفید اکساید (DMSO)، حل شده و با کمک میلی‌پور فیلتر سرنگی (۰/۴۵ میکرومتر) که DMSO آن را نمی سوزاند (مثل PTFE)، استریل گردید. از حلال DMSO ۲ درصد به‌عنوان کنترل منفی و از آنتی‌بیوتیک‌های تتراسایکلین و جنتامایسین به‌عنوان کنترل مثبت استفاده شد. سپس مقدار ۱۰ میکرولیتر از محلول عصاره ۳۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر (معادل ۳۰۰ گرم در دیسک عصاره)، روی دیسک‌های کاغذ صافی به قطر ۶ میلی‌متر گذاشته شد تا کاملا" جذب کاغذ صافی شوند. پلیت به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور با حرارت ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. فعالیت ضدمیکروبی عصاره گیاه برای هر میکروارگانیسم با اندازه‌گیری هاله عدم رشد، تعیین گردید. برای صحت نتایج اثر دارو روی نمونه های میکروب، باید نمونه ها در شرایط دما و محیط مناسب در مدت زمان یاد شده (شرایط In vitro) قرار گیرند تا بهترین پاسخ را به نمونه‌های گیاهی نشان دهند.

روش تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی رشد: در این روش حداقل غلظت مهارکنندگی رشد (MIC) برای میکروارگانیسم‌های حساس به عصاره‌های گیاهی به روش میکرودایلوشن (Micro-well dilution assay) محاسبه گردید (Gulluce et al., 2004).

نتایج

راندمان اسانس اندام‌های هوائی گیاه آویشنک، ۰/۱ درصد وزنی/وزنی بدست آمد. ۲۷ ترکیب شیمیائی در اسانس گیاه آویشنک شناسائی شدند. اجزای اصلی اسانس شامل: ژرماکرن-دی (۵۶/۶ درصد)، بی‌سیکلوژرماکرن (۸/۷ درصد)، کاریوفیلن اکساید (۷/۵ درصد)، ترانس کاریوفیلن (۴/۵ درصد) و لیمونن (۳/۴ درصد) بودند (جدول۲).

جدول ۱: مهمترین ترکیب‌های شیمیائی اسانس گیاه آویشنک (*Acinos graveolens*) در منطقه قمصر کاشان

ردیف	نام ترکیب	شاخص بازداری	میزان ترکیب (درصد وزنی/وزنی)
۱	sabinene	۹۸۱	۰/۲
۲	decane	۱۰۰۲	۰/۱۴
۳	α-phellandrene	۱۰۰۹	۰/۰۵
۴	dl-limonene	۱۰۳۳	۳/۳۸
۵	acetophenone	۱۰۷۳	۰/۱۱
۶	E-sabinene hydrate	۱۱۰۵	۰/۱۸
۷	E-verbenol	۱۱۵۲	۰/۳۹
۸	terpinen-4-ol	۱۱۸۵	۰/۲
۹	β-bourbonene	۱۳۹۴	۰/۶۳
۱۰	β-elemene	۱۴۰۱	۲/۴۷
۱۱	E-caryophyllene	۱۴۳۰	۴/۴۶
۱۲	β-gurjunene	۱۴۳۹	۰/۴۱
۱۳	(E)- β-farnesene	۱۴۶۵	۱/۰۳
۱۴	**germacrene-D**	**۱٤۹۸**	**٥٦/٦٥**

۱۵	**bicyclogermacrene**	**۱۵۰۹**	**۸/٦۹**
۱۶	α-farnesene	۱۵۱۷	۰/۷۸
۱۷	**caryophyllene oxide**	**۱۵۹۷**	**۷/٤٦**
۱۸	salvial-4(14) en-1- one	۱۶۰۷	۰/۳۷
۱۹	megastigmatrienone	۱۶۳۸	۰/۸۳
۲۰	α-cadinol	۱۶۵۷	۱/۹۳
۲۱	caryophyllen<14-hydroxy-9- epi- (E)->	۱۶۸۸	۰/۹۱
۲۲	germacera-4(15),5,10(14)-trien-1-α-ol	۱۷۰۳	۰/۸۴
۲۳	mint sulfide	۱۷۵۳	۰/۱۸
۲۴	n-nonadecane	۱۹۱۱	۰/۱۳
۲۵	n-eicosane	۲۰۰۳	۰/۱۷
۲۶	n-octadecanol	۲۰۶۸	۰/۱۲
۲۷	n-heneicosane	۲۰۹۳	۰/۳۸
	Monoterpen hydrocarbons		۳/۷۷
	Oxygenated monoterpens		۰/۷۷
	Sesquiterpen hydrocarbons		۷۵/۱۲
	Oxygenated sesquiterpens		۱۱/۵۱
	Other componentes		۱/۹۲
	مجموع		۹۳/۰۹

جدول ۲: نتایج اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد (میلی‌متر) و تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (میکروگرم/ میلی‌گرم) عصاره سرشاخه هوایی گیاه *A. graveolens*

میکروارگانیسم	عصاره گیاه		آنتی بیوتیک					
			جنتامایسین		تتراسایکلین		ریفامپین	
	اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد (میلی‌متر)	تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (میکروگرم/ میلی‌گرم)	اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد (میلی‌متر)	تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (میکروگرم/ میلی‌گرم)	اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد (میلی‌متر)	تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (میکروگرم/ میلی‌گرم)	اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد (میلی‌متر)	تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (میکروگرم/ میلی‌گرم)
P. aeroginosa	–	–	۲۳	۵۰۰	–	–	–	–
E. coli	–	–	۲۰	۵۰۰	۲۰	۳۱/۲۵	۱۱	۵۰۰
B.subtilis	–	–	۱۸	۵۰۰	۲۱	۷/۸	۱۳	۱۵/۶۲
S.aureus	–	–	۲۴	۵۰۰	۲۱	۲۵۰	۱۰	۲۵۰
K.pneumounia	۸	بالای ۱۰۰۰	۲۲	–	۲۲	۲۵۰	۷	۲۵۰
S.epidermidis	۹	۱۰۰۰	۳۹	۵۰۰	۳۵	۲۵۰	۴۰	۲۵۰
S.paratyphi-Aserotype	۸	بالای ۱۰۰۰	۲۰	۵۰۰	۲۱	–	–	–
S.dysenteriae	–	–	۲۵	۵۰۰	۱۸	۲۵۰	۸	۲۵۰
P.vulgaris	–	–	۲۰	۵۰۰	۲۳	۱۲۵	۱۰	۱۲۵
C.albicans	–	–	NA	NA	NA	NA	NA	NA
A.niger	–	–	NA	NA	NA	NA	NA	NA
A.brazillienses	–	–	۲۳	۵۰۰	NA	NA	NA	NA

NA: (Not Applicable) – فاقد فعالیت میکروبی

نتایج حاصل از بازده عصاره سرشاخه‌های هوائی گیاه آویشنک ۲۰/۴ درصد بدست آمد. عصاره گیاه در سه مورد از میکروارگانیسم‌ها (*K.pneumounia*، *S.epidermidis* و *S.paratyphi- Aserotype*) فعالیت ضدمیکروبی نشان دادند (جدول ۳).

بحث

مقایسه راندمان اسانس گیاه آویشنک منطقه قمصر (۰/۱ درصد وزنی/وزنی) و رویشگاه دشت ارژن استان فارس (۰/۰۱ درصد وزنی/وزنی) نشان داد (Javidnia et al., 2010)، بازده اسانس بدست آمده از سرشاخه‌های هوایی گیاه آویشنک قمصر ده برابر بیشتر از استان فارس بود. احتمالاً دلیل چنین اختلافی در بازده اسانس، علاوه بر تفاوت در نوع رویشگاه، به روش اسانس‌گیری هم مربوط می‌شود. اسانس استحصالی استان فارس به شیوه تقطیر با آب و استفاده از دستگاه کلونجر بود، این در حالی است که اسانس قمصر، به شیوه تقطیر و استخراج با بخار همزمان با حلال آلی (SDE) استحصال شده است. در این روش تقطیر به‌دلیل اینکه از حلال آلی برای استخراج ترکیب‌های معطره کمک گرفته می‌شود، بدیهی است راندمان اسانس نسبت به روش سایر روش‌های تقطیر، بیشتر است. بتولی و همکاران (Batooli et al., 2012) بیشترین راندمان اسانس استحصالی از گیاه کاکوتی را در روش‌های مختلف اسانس‌گیری، مربوط به شیوه تقطیر و استخراج با بخار همزمان با حلال آلی، به میزان ۲/۳ درصد گزارش کردند که در مقایسه با سایر روش‌های اسانس‌گیری، نظیر روش کلونجر (۲ درصد)، تقطیر با بخار آب (۱/۹ درصد) و اولتراسونیک (۰/۸ درصد)، بیش از دو تا سه برابر بود.

نتایج حاصل از بررسی ترکیب‌های عمده اسانس آویشنک منطقه قمصر نشان داد، چهار سسکوئی‌ترپن ژرماکرن-دی، بی‌سیکلوژرماکرن، کاریوفیلن اُکساید و ترانس کاریوفیلن، بیش از ۷۷/۲۶ درصد از کل اجزاء اسانس را به خود اختصاص داده است. دو ترکیب ژرماکرن-دی و بی‌سیکلوژرماکرن که به‌عنوان اجزاء اصلی اسانس سرشاخه‌های گل‌دار گیاه آویشنک منطقه قمصر گزارش گردید، در اسانس آویشنک منطقه صربستان هم به‌عنوان ترکیب‌های عمده اسانس (به ترتیب به میزان ۵۸/۶۵ درصد و ۷/۱۴ درصد) نیز گزارش شده است (Golubovic et al., 2010).

جاویدنیا و همکاران (Javidnia et al., 2010)، میزان سسکوئی‌ترپن ژرماکرن-دی موجود در اسانس گیاه آویشنک دشت ارژن استان فارس را ۱۶/۵ درصد، گزارش کردند. همچنین عطاری (Attari, 2000) میزان این ترکیب را از منطقه تبریز ۲۰/۶ درصد گزارش نمود. بنابراین این سسکوئی‌ترپن به‌عنوان ترکیب عمده در اسانس آویشنک رویشگاه‌های قمصر، دشت ارژن و تبریز وجود داشته است، اما میزان این ماده در اسانس قمصر بیش از دو تا سه برابر سایر رویشگاه‌ها بوده است. احتمالاً تفاوت در میزان این ترکیب شیمیائی، به‌واسطه اختلاف در نوع شرایط محیطی رویشگاه‌ها، زمان جمع‌آوری گیاه و روش تقطیر و استخراج اسانس باشد.

۳۲/۷ درصد از ترکیب فنلی اسانس گونه *A. graveolens* دشت ارژن استان فارس، مربوط به ترکیب دی‌آپیول بود. در حالی‌که سسکوئی‌ترپن کاریوفیلن ۷/۲ درصد و هگزادکانوئیک اسید به میزان ۰/۹ درصد اسانس را به خود اختصاص داده است (Javidnia et al., 2010). بنابراین علاوه بر ژرماکرن-دی، هگزادکانوئیک اسید و کاریوفیلن نیز به‌عنوان ترکیب‌های اصلی اسانس برخی از گونه‌های این جنس گزارش شده است. به‌عنوان مثال؛ ترکیب‌های اصلی اسانس گونه *A. arvensis* ترکیه، ژرماکرن-دی (۱۴/۳ درصد) و هگزادکانوئیک اسید (۱۴ درصد)

بودند. همچنین اجزای اصلی اسانس گونه *A. suaveolens* ترکیه نیز دو ترکیب ژرماکرن-دی (۱۴/۴ تا ۷۳/۱ درصد) و هگزادکانوئیک اسید (۱۷/۵ تا ۳۰/۲ درصد) گزارش گردید (Kaya et al., 1999).

کاریوفیلن اکساید به‌عنوان سومین ترکیب اصلی اسانس آویشنک منطقه قمصر گزارش شد. این ترکیب نیز در اسانس سایر گونه‌های این جنس نظیر گونه *A. hungaricus*، به‌عنوان جزء اصلی اسانس (به میزان ۱۶/۸ درصد) گزارش شده است (Jovanovic et al., 2002).

استوجانُوی و همکاران (Stojanovi et al., 2009) در بررسی ترکیب‌های اصلی اسانس گونه‌های مختلف جنس آویشنک نشان دادند که عمده ترکیب‌های اصلی اسانس گونه‌های مختلف، مونوترپن‌های پولگون و منتون و سسکوئی‌ترپن ژرماکرن- دی می‌باشند.

بر اساس پژوهش‌های انجام گرفته پیرامون کمیت و کیفیت اسانس گونه‌های مختلف جنس آویشنک، یک گروه شامل گونه‌هائی می‌شوند که دارای راندمان درصد اسانس بالا بوده و بین ۰/۶۴ تا ۲/۳ متغییر است. ترکیب‌های اصلی اسانس در این گروه شامل: مونوترپن‌های پولگون، منتون و ایزومنتون می‌باشند. به‌عنوان مثال، کایا و همکاران (Kaya et al., 1999)، عمده اجزاء تشکیل‌دهنده اسانس گونه *A. suaveolens* (Sm.) G. Don fil. ترکیه را دو مونوترپن پولگون (۲۳/۲ تا ۸۰/۷ درصد) و ایزومنتون (۱/۱ تا ۵۴/۱ درصد) گزارش کردند.

گروه دیگر از گونه‌ها، سسکوئی‌ترپن‌ها غالب‌اند و راندمان اسانس آنها نسبت به گروه اول بسیار کمتر بوده و معمولا بین ۰/۰۱ تا ۰/۰۸ درصد متغیر است. در این میان اگرچه گونه *A. arvensis* متعلق به گروه دوم بوده، ولیکن اجزاء اصلی تشکیل‌دهنده اسانس گونه *A. arvensis* منطقه یونان، شامل مونوترپن‌های پولگون، منتون و ایزومنتون می‌باشد (Souleles and Katsiotis, 1988). احتمالاً دلیل چنین اختلافی، اشتباه در شناسائی گونه بوده است (Stojanovi et al., 2009).

سسکوئی‌ترپن ژرماکرن-دی در اغلب گونه‌های جنس آویشنک، به‌عنوان جزء اصلی اسانس گزارش شده است. در این میان دو استثناء وجود دارد. جوانویک و همکاران (Jovanovic et al., 2011) ترکیب کاریوفیلن اکساید را به‌عنوان جزء اصلی اسانس گونه *A. hungaricus* گزارش کردند. همچنین اسکالتسا و همکاران (Skaltsa et al., 1999) ژرماکرن-آ را به‌عنوان ترکیب اصلی اسانس گونه *A. alpinus* گزارش کردند. دلیل چنین استثنائی، یا به واسطه وجود کموتایپ‌های مختلف و یا اشتباه در شناسائی دقیق گونه‌ها بوده است (Stojanovi et al., 2009).

بیشترین ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس این گونه مربوط به سسکوئی‌ترپن‌های هیدروکربنی (۷۵/۱۲ درصد) و سسکوئی‌ترپن‌های اکسیژن‌دار (۱۱/۵۱ درصد) می‌باشد. این در حالی است که مونوترپن‌های هیدروکربنی ۳/۷۷ درصد اسانس را به خود اختصاص داده و سهم مونوترپن‌های اکسیژن‌دار نیز، تنها ۰/۷ درصد اسانس می‌باشد.

سسکوئی‌ترپن‌های هیدروکربنی اسانس در مقایسه با سسکوئی‌ترپن اکسیژن‌دار، مقادیر بسیار زیادتری از ترکیب‌های اسانس را به خود اختصاص داده است. سسکوئی‌ترپن‌های موجود در اسانس گیاه آویشنک منطقه قمصر، بالغ بر ۸۶/۶۳ درصد از کل اسانس گیاه را به خود اختصاص داده است. این در حالی است که سسکوئی‌ترپن‌های اسانس آویشنک صربستان به میزان ۷۴/۸ درصد (Golubovic et al., 2010)، در اسانس آویشنک منطقه تبریز، ۳۴/۵ درصد (Attari, 2000) و در اسانس آویشنک منطقه دشت ارژن استان فارس، به میزان ۴۷/۹ درصد (Javidnia et al., 2010)، بیشترین

سهم مقادیر اسانس را شامل می‌گردد. بررسی‌ها نشان داد سهم مونوترپن‌های موجود در اسانس آویشنک قمصر، در مقایسه با سسکوئی‌ترپن‌ها، ناچیز می‌باشد. به‌عبارت دیگر مونوترپن‌های اسانس گیاه آویشنک قمصر، تنها ۴/۵ درصد از مقدار کل اسانس را شامل می‌گردد. عطاری (Attari, 2000) نیز در آنالیز اسانس گیاه آویشنک منطقه تبریز، مقادیر کل مونوترپن‌های اسانس را ۳/۲ درصد اعلام کرد. افزون براین، مطالعات گلوبویک و همکاران (Golubovic et al., 2010) نیز مقدار کل مونوترپن‌های اکسیژن‌دار و هیدروکربنی اسانس را، به ترتیب ۶/۱۲ و ۱۵/۲۸ درصد از کل اسانس گزارش نمودند که در مقایسه با سسکوئی‌ترپن‌ها کمتر بود.

اگرچه اثرات ضدمیکروبی عصاره گیاه آویشنک تنها روی سه میکروارگانیسم مثبت ارزیابی شد. سایر مطالعات انجام گرفته در خصوص فعالیت ضدمیکروبی گونه‌های مختلف جنس آویشنک نشان داده که اسانس این جنس دارای اثرات ضدباکتریائی می‌باشد. اکبری (Akbari, 2015) اظهار داشت اسانس گیاه آویشنک (*A. graveolens*) دارای فعالیت ضدمیکروبی قوی می‌باشد. جوانویک و همکاران (Jovanovic et al., 2002) گزارش کردند که اسانس گونه *A. arvensis* دارای اثر ضدباکتریائی بر علیه میکروارگانیسم‌هائی نظیر: *Escherichia coli*، *Staphylococcus aureus* و *Klebsiellapneumoniae* دارد. لیکن تاثیری نسبت به میکروارگانیسم *Pseudomonas aeruginosa* گزارش نگردید. کولادیس و همکاران (Couladis et al., 2002) دریافتند که اسانس گونه *A. suaveolens* باعث مهار رشد باکتری‌هایی نظیر: *Escherichia coli*، *Staphylococcus aureus*، *Staphylococcus hominis* و *Klebsiella pneumoniae* می‌گردند.

بررسی‌های دوارت و همکاران (Duarte et al., 2005) نشان داد که بعضی از گیاهان داروئی برزیل نظیر، اسانس گونه *Mikania glomerata*، که غنی از ترکیب‌های سسکوئی‌ترپنی است، دارای خاصیت قوی در مهار رشد برخی باکتری‌ها می‌باشد. بنابراین ترکیب‌های سسکوئی‌ترپنی گیاهان دارای اثر ضدباکتریائی قوی می‌باشد. افزون براین، پژوهش‌ها نشان داده که اسانس آویشنک دارای فعالیت ضدباکتری بر علیه باکتری‌های گرم منفی می‌باشد، لیکن بر روی باکتری‌های گرم مثبت تاثیر زیادی گزارش نشده است.

پژوهش‌های گلوبویک و همکاران (Golubovic et al., 2010) نشان داد که اسانس آویشنک با مهار رشد نسبتا قوی (قطر هاله عدم رشد ۲۰ میلی‌متر)، اثر ضدمیکروبی قوی بر علیه قارچ *Candida albicans* می‌باشد. بلاگوجیوی و همکاران (Blagojevi et al., 2006) اظهار داشت که ترکیب سسکوئی‌ترپن بتا-کاریوفیلن موجود در اسانس دو گونه از جنس درمنه، دارای فعالیت ضدمیکروبی متوسطی می‌باشد.

گلوبویک و همکاران (Golubovic et al., 2010) گزارش کردند که عمده فعالیت ضدقارچی اسانس گونه *A. graveolens*، مربوط به مقادیر بالای دو ترکیب سسکوئی‌ترپن ژرماکرن-دی و بی‌سیکلوژرماکرن موجود در اسانس این گونه می‌باشد.

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج حاصل از بررسی ترکیب‌های اصلی اسانس اندام‌های هوائی‌های گیاه آویشنک نشان داد، بخش عمده ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس، سسکوئی‌ترپن‌های هیدروکربنی بودند. از طرفی با توجه به اینکه بیش از ۷۰ درصد سسکوئی‌ترپن‌های موجود در اسانس این گونه، متعلق به ژرماکرن-دی

می‌باشد، بنابراین نظر به اهمیت فعالیت ضدمیکروبی این نوع سسکوئی‌ترپن، اندام‌های هوائی آویشنک پتانسیل خوبی برای استفاده در تهیه داروهای ضدمیکروبی با منشاء طبیعی دارد.

Refrences

1. Akbari, P. 2015. The effect of different concentrations of sucrose on growth explants and production of plant secondary metabolites of *Acinos graveolens*. Ms thesis, Tabriz University, Faculty of Natural Sciences, 120 p. (In Persian).
2. Attari, L. 2000. The essentialoil compositaion of two labiatae species from Iran, Ms thesis, Islamic Azad University, North Tehran Branch, Faculty of Science, Department of Chemistry, 150 p. (In Persian).
3. Batooli, H. 2000. Endemic and medicinal plants in central areas of Irano-Turanian growth region and their pharmaceutical figures. In proceedings of the First international congress on traditional medicine and material medica, Tehran. Iran. P.42. (In Persian).
4. Batooli, H. 2004. Biodiversity and species richness of plant elements in Qazaan Reserve of Kashan. Pajouhesh –va-Sazandeghi, 16(4): 85-104. (In Persian).
5. Batooli, H. Akhbari, M. and Hosseinizadeh, S.M.J. 2012. Effect of different distillation methods on quantity and quality of essential oil of two *Ziziphora* L. species, Journal of Herbal Drugs, 3(3): 135-146.
6. Blagojevi, P., Radulovi, N., Pali, R., and Stojanovi, G. 2006. Chemical composition of the essential oils of Serbian wild-growing *Artemisia absinthium* and *Artemisia vulgaris*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54: 4780-4789.
7. Bonnier, G. 1927. Flora Complete Illustree en Couleurs de France Suisse et Belgium, Tome 9, Brussels.
8. Bown, D. 1995. Encyclopedia of herbs & their uses, The Herb Society of America, Dorling Kindersley, New York.
9. Carović-Stanko, K., Petek, M., Grdiša, M., Pintar, J., BedeKović, D., Herak CuStić, M. and Satovic, Z. 2016. Medicinal plants of the family lamiaceae as functional foods – a Review, Czech Journal of Food Sciences, 34 (5): 377–390.
10. Chalchat, J., Maksimovi, Z., Petrovi, S. and Gorunovi, M. 2004. Essential oil of *Acinos hungaricus* (Simonkai) Silic, Lamiaceae. Journal of Essential Oil Research, 16: 38-39.
11. Couladis, M., Tzakou, O., Demetzos, C. and Perdetzoglou, D. 2002. Chemical composition and antibacterial activity of the oil of *Acinos suaveolens* (Sibth. et Sm.) G. Don f. from Greece. Journal of Essential Oil Research, 14: 139-140.
12. Davies, N.W. 1990. Gas chromatographic retention index of monoterpenes and sesquiterpenes on methyl silicone and carbowax 20 M phases. Journal of Chromatogr, 503: 1-24.
13. Cantino. P.D., Harley, R.M. and Wagstaff, S.J. 1992. Genera of labiatae, status and classification, In advances in Labiatae science, Harley, R.M. Reynoldus, T. (eds.) Royal Botanic Garden, Kew, 511-522.
14. Facciola, S. 1990. Cornucopia - A Source Book of Edible Plants. Kampong Publications, 676 p.
15. Golubovic, T., Palic, R., Kitic, D., Zlatkovic, B., Ristic, M. and Lazarevic, J. 2010. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Acinos graveolens*. Chemistry of Natural Compounds, 46(4): 645-648.
16. Harley, R.M., Atkins, S., Budantsev, A., Cantino, P.H., Conn, B., Grayer, R., Harley, M.M., Kok, R., Krestovskaja, T., Morales, A., Paton, A.J., Ryding, O. and Upson, T. 2004. Labiatae. In: Kadereit, J.W. (ed.). The families and genera of vascular plants (Kubitzki, K.: ed.). 7: 167-275.
17. Grieve, A. 1984. a modern herbal: the medicinal, culinary, cosmetic and economic properties, cultivation and folklore of herbs, grasses, fungi, shrubs and trees with all their modern scientific uses, Published by Penguin, Middleburg Published by Penguin.

18. Gulluce, M., Sokmen, M., Sahin, F., Sokmen, A., Adiguzel, A., and Ozar, H. 2004. Biological activities of the essential oil and methanolic extract of *Micromeria fruticosa* (L.) Druce ssp. *serpyllifolia* (Bieb) PH Davis plants from the eastern Anatolia region of Turkey. Journal of the Science of Food & Agriculture, 84: 735-741.
19. Hanlidou, H., Kokkini, S., Bosabalidis, A.M., and Bessière, J.M. 1991. Glandular trichomes and essential oil constituents of *Calamintha menthifolia* (Lamiaceae), Plant Systematics and Evolution, 177 (1-2): 17-26.
20. Jamzad, Z. 2012. Flora of Iran. Lamiaceae, No: 76, Research intitute of forests and rangelands.1066 p. (In Persian).
21. Javidnia, K., Miri, R., Soltani, M. and Khosravi, A.R. 2010. Essential oil composition of *Acinos graveolens* from Iran. Chemistry of Natural Compounds, 46(1): 130-131.
22. Jovanovi, T., Palic, R., Kitic, D., Risti, M. and Zlatkovic, B. 2008. Fatty acids of *Acinos alpinus* and *A. hungaricus*. Chemistry of Natural Compounds, 44:231-233.
23. Jovanovic, T., Kitic, D., Palic, R., Stojanovic, G. and Ristic, M. 2011. Chemical composition of the essential oil of *Acinos hungaricus* (Simonkai) Silic. Journal of Essential Oil Research, 14(2): 29-30.
24. Jovanovic, T., Palic, R., Stojanovic, G., Ristic, M. and Kitic, D. 2005. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Acinos arvensis* (Lam.) Dandy from Serbia, Flavour and Fragrance Journal, 20(3): 288–290.
25. Jovanovic, T., Palic, R., Stojanovic, G., Ristic, M., and Kitic, D. 2002. Chemical composition of the essential oil of *Acinos hungaricus* (Simonkai) Silic. Journal of Essential Oil Research, 14(1): 29-30.
26. Kaya, A., Baser, K.H.C. and Koca, F. 1999. Essential oils of *Acinos troodi* (Post) Leblebici subsp. *vardaranus* Leblebici and subsp. *grandiflorus* Hartvig and Strid, Flavour and Fragrance Journal, 14(1); 50-54.
27. Kaya, A., Baser, K.H.C., Tumen, G. and Koca, F. 1999. The essential oil of *Acinos suaveolens* (Sm.) G. Don fil. *Acinos arvensis* (Lam.) Dandy and *Acinos rotundifolius* Pers. growing wild in Turkey. Flavour and Fragrance Journal, 14(1): 60-64.
28. Kunkel, G. 1984. Plants for human consumption. *Koeltz* Scientific Books Koenigsten, Germany. p.393
29. Mabberley, D.J. 1990. The Plant Book, a portable dictionary of the higher plants, Cambridge University Press, Cambridge, pp. 6.
30. Mozaffarian, V. 1996. A Dictionary of Iranian Plant Names, Farhang Moaser, Tehran, 750p. (In Persian).
31. NCCLS, 1997. (National Committee for clinical laboratory standards), performance standards for antimicrobial Disk susceptibility Test, sixth ed. Approved standard. M2-AG, Wayne PA.
32. Pavlovic S., Kuznjecova, G.A., Zivanovic, P., Sevarda, A.L., Jancic, R. and Vujcic, S. 1984. Content and composition of essential oil and some anatomical characteristic of plants of the species *Acinos suoveolens* (Sibt. & Smith) G. Don fil. Arch. Farm. 34: 65-71.
33. Rechinger, K.H. 1982. Labiatae In: Flora Iranica, No. 150, Akademische Druch-u. Verlagsanstat, Austria,
34. Shibamoto, T. 1987. Retention indices in essential oil analysis: 259-274. In: Sndra, P. and Bicchi, C., (Eds.). Capillary Gas Chromatography in Essential Oil Analysis. Verlagsgruppe Huthig Jehle Rehm GmbH, New York, 435p.
35. Silic, C. 1979 .The Monograph of genus *Satureja* L., *Calamintha* Miller, *Micromeria* Bentham, *Acinos* Miller and *Clinopodium* L. in Flora of Yugoslavia, Svijetlost, Sarajevo.
36. Skaltsa, H.D., Lazaris, D.M. and Loukis, A.E. 1999. Composition of the essential oil of *Acinos alpinus* (L.) Moench. from Greece., Journal of Essential Oil Research, 11: 35.
37. Sokmen, A., Jones, B.M., and Erturk, M. 1999. The in vitro antibacterial activity of Turkish plants. Journal of Ethnopharmacol., 67: 79-86.

38. Souleles, C. and Katsiotis, S. 1988. Study on the essential oil of *Acinos arvensis* (Lam.) Dandy. Plantes Medic. Phytother., 22: 180-183.
39. Stojanovi, G., Golubovi, T., Kiti, D. and Pali, R. 2009. *Acinos* species: Chemical composition, antimicrobial and antioxidative activity. Journal of Medicinal Plants Research, 3(13): 1240-1247.
40. Usher, G. 1974. A Dictionary of Plants Used by Man. 619 Seiten. Constable and Company Ltd., London.
41. Velasco-Negueruela, A., Perez-Alonso, M.J., Jiminez, S.M. and Garcia, F.M. 1993. The volatile monstituents of *Acinus alpinus* (L.) moench ssp. *meridionalis* (Nyman). P. W. Ball Growing in Spain. Flavour and Fragrance Journal, 8:127-130.
42. Zlatkovic, B. and Ranjelovic, V. 2004. Records of new species to the flora of Serbia. Abstracts of XI OPTIMA Meeting, 66, Belgrade.

Essential oil composition and antimicrobial activity of *Acinos graveolense* (M.B.) Link. extract from Ghamsar, Kashan

Batooli, H.[1*], Ebrahimabadi, A.H.[2], Haghighi, N.S.[3]

[1]Assistant Prof., Kashan Botanical Garden, Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran.

[2]Essential oils Research Institue, University of Kashan, Kashan, Iran

[3]MSc. Student of Essential oils Research Institue, University of Kashan, Kashan, Iran

Received Time: 2016/8/13 Accepted Time: 2016/12/1

Abstract

Acinos Miller. is belongs to Lamiaceae family, which grows as bush-herbaceous and consists of more than 10 species; two spaces from *Aonos* has been reported in the flora of Iran. In this study the essential oil composition and antibacterial activity of *Acinos graveolense* (M.B.) Link extract has been studied. The aerial parts of the plant in blooming were collected from natural habitats (Ghamsar area), in spring 2014. It was dried in laboratory conditions, the essential oil were isolated by simultaneous steam distillation extraction (SDE) and were analysed by using GC and GC-MS. The methanol extract was obtained by maceration method and the antimicrobial activity of plant extract was measured by disk diffusion and minimum inhibitory concentration against eleven microorganisms. The yield of the oil was 0.1% w/w. the analysis led to identification of 27 compounds. The main essential oil components were germacrene-D (56.6%), bicyclogermacrene (8.7%), caryophyllene oxide (7.5%), e-caryophyllene (4.5%), and limonene (3.4%). In addition, sesquiterpens hydrocarbon was the main component of the oil. The extract of *Acinos graveolense* against three tested bacteria (*Klebsiella pneumonia*, *Staphylococcus epidermidis* and *Salmonella paratyphi-Aserotype*) were showed low antimicrobial activity. In conclusion, due to the high amounts of sesquiterpenes in this essential oil and its antimicrobial activity, we could reports that the aerial part of *A. graveolense* is suitable for the preparation of natural antimicrobial agent.

***Keywords*:** *Acinos graveolense* (M.B.) Link., Antibacterial, Essential oil, Germacren-D, extraction, Ghamsar, Kashan