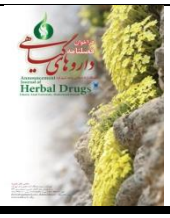

فصلنام‌هی داروهای گیاهی

Journal homepage: www.ojs.iaushk.ac.ir

اثر روشهای مختلف اسانسگیری بر کمیت و کیفیت اسانس دو گونه از جنس کاکوتی (*Ziziphora* L.)

حسین بتولی[1*]، مریم اخباری[2] و سید محمد جواد حسینی‌زاده[3]

۱. مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان (باغ گیاه‌شناسی کاشان)، کاشان، ایران؛

** مسئول مکاتبات* **E-mail:** *Ho_Batooli@Yahoo.com*

۲. پژوهشکده اسانس‌های طبیعی دانشگاه کاشان)، کاشان، ایران؛

شناسه مقاله

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۱/۰۹/۰۲

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۱/۰۹/۳۰

نوع مقاله: علمی -پژوهشی

موضوع: فیتوشیمی

کلید واژگان :

- ✓ *کاکوتی*
- ✓ *گیاهان معطر*
- ✓ *نعناعیان*
- ✓ *اسانس*
- ✓ *پولگون*

چکیده

مقدمه و هدف: جنس "کاکوتی"(*Ziziphora* L.) متعلق به خانواده نعنا عیان(Lamiaceae)، دارای گونه‌های داروئی و معطره بسیار ارزشمندی است که تاکنون بالغ بر ۲۵ گونه از این جنس در جهان و ۴ گونه یک ساله و چند ساله از ایران گزارش شده است. در این تحقیق ترکیب‌های شیمیائی اسانس دو گونه‌ی کاکوتی(*Z. tenuior* L.، *Z. clinopodioides* Lam.) منطقه قمصر کاشان مورد بررسی قرار گرفته است.

روش تحقیق: سرشاخه‌های گل‌دار گونه‌های مذکور در بهار سال ۱۳۹۰ جمع‌آوری و به روش های مختلف شامل تقطیر و استخراج با بخار همزمان با حلال آلی (SDE)، کلونجر، اسانسگیری با بخار سرد (با استفاده از امواج فراصوت) و تقطیر با بخار آب اسانس‌گیری شدند. برای شناسائی ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس، از دستگاه‌های گاز کروماتوگرافی(GC) و گاز کروماتوگرافی متصل شده به طیفسنج جرمی(GC/MS) استفاده شد.

نتایج و بحث: عملکرد اسانس در روش‌های مختلف، در گیاه کاکوتی یا *Z. tenuior* بین ۰/۲ تا ۲/۳٪ و در گیاه کاکوتی کوهی یا *Z. clinopodioides* بین ۰/۳ تا ۱/۳٪ متغییر بود. ۱۸ ترکیب شیمیائی در اسانس سرشاخه‌های گل‌دار گیاه کاکوتی و ۳۳ ترکیب در اسانس گیاه کاکوتی‌کوهی شناسایی شدند. اجزای اصلی اسانس کاکوتی شامل پولگون (۹۰/۱٪-۸۰/۰٪) و پیپریتنون (۷/۱٪-۴/۵٪) بودند. بیشترین ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس کاکوتی‌کوهی شامل پولگون (۳۵/۲٪-۲۵/۹٪)، پیپریتنون (۲۷/۹٪-۱۰/۱٪)، منتول(۱۷/۵٪-۱۱/۴٪) و منتون (۷/۷٪-۰٪) بودند. حضور درصد بالای منتول در اسانس گیاه کاکوتی‌کوهی، باعث مرغوبیت اسانس این گیاه شده است. بهترین راندمان اسانس در دو گیاه، متعلق به روش تقطیر و استخراج با بخار همزمان با حلال آلی بود.

توصیه کاربردی/صنعتی: با توجه به خلوص ۸۱ درصدی ترکیب پولگون در اسانس گیاه کاکوتی و با در نظر داشتن بازده حدوداً دو درصدی استحصال اسانس، میتوان در صورت کشت مکانیزه این گیاه، ترکیب مورد نظر را خالص سازی نمود.

۱. مقدمه

جنس کاکوتی (*Ziziphora* L.)، متعلق به خانواده Lamiaceae، راسته Lamiales و زیرده Asteridae است(Mozaffarian, 2008). تاکنون بالغ بر ۲۵ گونه از جنس کاکوتی در جهان شناسائی شده است که اغلب گونه‌ها در نواحی مدیترانه تا مرکز آسیا، ایران و افغانستان انتشار یافته اند (Usher, 1971). این جنس در ایران دارای ۴ گونه و چندین زیر گونه می - باشد(Mozaffarian, 2008). گونههای موجود در ایران شامل *Z. clinopodioides*، *Z. capitata*، *Z. persica* و *Z. tenuior*

که پراکنش بسیار زیادی در مناطق مختلف ایران دارند (Mozaffarian, 2008 ;Talebi *et al.*, 2010). در طب سنتی ایران از گونه‌های مختلف این جنس به عنوان د م کرده و جوشانده برای رفع بیماری‌های قلبی، سرماخوردگی و میگرن استفاده می‌شود. همچنین سرشاخه‌های کاکوتی به‌عنوان آرام‌بخش، ضدالتهاب، ضدافسردگی، خلط‌آور و ضدعفونی‌کننده کاربرد دارد (Naghibi *et al.*, 2005 ؛Zargari, 1993).

گونه کاکوتی (*Z. tenuior*)، گیاهی است علفی، یک‌ساله با ساقه کوتاه به ارتفاع ۵ تا ۴۰ سانتی‌متر؛ با ساقه‌های منفرد و یا از قاعده منشعب؛ برگ‌های قاعده‌ای دمبرگ‌دار، برگ‌های میانی و بالائی ساقه سرنیزه‌ای پهن، خطی و باریک، نوک تیز با میان‌گرههای کوتاه می - باشد. گلهای این گیاه به رنگ بنفش کم‌رنگ یا بنفش مایل به ارغوانی است. گل‌آذین سنبله‌ای بلند، کاسه گل لوله‌ای باریک، با رگه‌های برجسته، پوشیده از کرک‌های زبر سفید نسبتاً متراکم، جام گل بنفش، ارغوانی تا صورتی کم‌رنگ، میوه فندقه به طول ۲ و عرض ۰/۸ میلی‌متر، مستطیلی، در قاعده باریک و نوک گرد می باشد (Jamzad, 2009; Rechinger, 1982). کاکوتی در برخی منابع به نام‌های ژاژ، تره‌دوغ، کل‌اوتی و ککلیک‌اوتی آورده شده است (Karimi, 1995). نام "مشک طرامشیع " که در برخی از منابع ایران ذکر شده، احتمالاً از نام هندی آن گرفته شده است (Mirhaydar, 1996). کاکوتی بخش وسیعی از جهان را در برگرفته است. پراکنش جغرافیائی این گیاه شامل ایران، ترکیه، روسیه، ترکمنستان، افغانستان، پاکستان، عراق، سوریه، ماورای قفقاز و سیبری است. این گیاه به حالت وحشی در شمال، مرکز، شمال غرب، جنوب و شمال شرق ایران گسترش یافته است (Rechinger, 1982). عمده رویشگاه‌های کاکوتی شامل استان‌های گلستان، گیلان، آذربایجان، همدان، اصفهان، لرستان، چهارمحال و بختیاری، فارس، هرمزگان، خوزستان، کرمان، بلوچستان، خراسان، سمنان، تهران، قم، قزوین، مرکزی و البرز می باشد (Jamzad, 2009; Rechinger, 1982). کاکوتی اغلب به‌عنوان گیاه یک‌ساله و بهاره، بدون محدودیت اکولوژیک در مناطق بیابانی و کوهستانی در اواخر زمستان یا اوائل بهار رویش می‌یابد. بسته به شرایط بوم‌شناختی رویشگاه‌ها، در اواسط یا اواخر بهار خزان نموده و دوره حیاتی آن به پایان می‌رسد. این گیاه در مسیر آبراهه‌ها و خشکه‌رودهای نواحی خشک تا نیمه‌خشک که میزان رطوبت بیشتری در خاک وجود دارد، می‌روید (Batooli, 2003). اغلب رویشگاه‌های این گیاه شامل مناطق استپی، دامنه‌های سنگلاخی و حاشیه مزارع ناحیه رویشی ایرانی-تورانی، در محدوده ارتفاعی بین ۴۵۰ تا ۳۰۰۰ متر از سطح دریا، می باشد (Jamzad, 2009). برگ‌های کاکوتی در ایران برای تهیه انواع نوشیدنی‌ها و در طب سنتی برای ناراحتی‌های معده استفاده می‌شود (Usher, 1971). خواص درمانی آن، خلط‌آور، بادشکن و مقوی معده است (Zargari, 1993). همچنین از این گیاه در طب سنتی ایران به عنوان مقوی معده و قلب مصرف می‌شود. افزون بر آن از سرشاخه‌های گل‌دار آن جهت معطرکردن اغذیه بکار می‌رود (Amin, 1997). پودر سرشاخه‌های خشک کاکوتی به‌عنوان عطردهنده و طعم‌دهنده غذا استفاده می‌شود (Tumen & Ayhan, 1992). در هند از دانه کاکوتی به‌عنوان تب‌بر استفاده می‌شود. پودر سرشاخه‌های گل‌دار و میوه‌دار گیاه، به عنوان طعم‌دهنده و عطردهنده به ماست یا دوغ کاربرد دارد (Ghasemi Pirbalouti, 2009). پودر خشک گیاه برای قطع اسهال‌خونی توصیه شده است. در طب سنتی، از برگ‌های گیاه به‌عنوان نرم‌کننده سینه، بادشکن و تقویت نیروی جنسی استفاده می‌شود (Mirhaydar, 1996). بیشترین مقادیر اجزای تشکیل‌دهنده اسانس گیاه کاکوتی، ترکیب پولگون می‌باشد که بسته به شرایط رویشگاهی و اکولوژیک گیاه، مقادیر این ترکیب شیمیائی بین ۸۵ تا ۸۷٪ (Najafi, & Tavakkoli, 2011) و بین ۸۶/۳٪ تا ۸۷/۱٪ (Sezik *et al.*, 2006) متغیر است. نتایج بررسی‌ها نشان داد، عصاره اتانولی کاکوتی منطقه حصارک کرج اثر بازدارندگی قابل‌توجهی روی باکتری‌های *E. coli*، *Staphyllus aureus* و *Bacillus sobtilis* داشته است (Najafi, & Tavakkoli, 2011). یکی از ترکیب‌های عمده و اصلی گیاه کاکوتی، ترکیب پولگون نام دارد (Sezik *et al.*, 1991) که اثرات ضددردی و ضدالتهابی آن بخوبی مشخص شده است (De Sousa *et al.*, 2007).

کاکوتی کوهی (*Z. clinopodioides*)، گیاهی چندساله با قاعده چوبی، بوته‌ای با ساقه‌های متعدد، از قاعده منشعب، با شاخه‌های ساده و بدون انشعاب، به ارتفاع ۷ تا ۵۰ سانتی‌متر، افراشته، خمیده

و یا خزنده؛ برگ‌ها بدون دمبرگ، خطی، سرنیزه‌ای، بیضوی، تخم‌مرغی؛ برگ‌های گل‌آذینی خطی، مستطیلی، تخم مرغی؛ گل‌آذین متشکل از گل‌های متعدد بدون دمگل، به‌شکل کله‌ای- انتهائی، کاسه گل لوله‌ای، به‌رنگ سبز یا بنفش، جام گل سفید، صورتی تا بنفش، لبه بالائی راست، لبه پائینی با سه لوب مساوی، میوه فندقه، مستطیلی، به‌رنگ قهوه‌ای می‌باشد (Jamzad, 2009 ; Rechinger, 1982). کاکوتی‌کوهی دارای ۹ زیر گونه بومی ایران می باشد(Rechinger, 1982). انتشار جهانی این گیاه شامل ترکیه، عراق، سیبری، قفقاز، آسیای میانه، افغانستان، پاکستان و ایران می باشد (Jamzad, 2009). انتشار جغرافیائی کاکوتی‌کوهی در ایران شامل استان‌های گلستان، آذربایجان، زنجان، کردستان، اصفهان، تهران، کرمانشاه، لرستان، همدان، فارس، چهارمحال و بختیاری، کرمان، هرمزگان، خوزستان، کرمان، بلوچستان، خراسان، سمنان، کهکیلویه و بویراحمد، تهران، قم، قزوین، مرکزی و البرز می باشد (Rechinger, 1982; Jamzad, 2009). این گیاه اغلب در مسیر آبراهه‌های کوهستانی مناطق نیمه‌خشک می‌روید. افزون بر آن در دامنه‌های صخره‌ای و سنگلاخی و واریزه‌ای کوه‌ها نیز مشاهده می‌شود (Batooli, 2003). محدوده دامنه ارتفاعی این گیاه بین ۸۰۰ تا ۳۷۰۰ متر از سطح دریا گزارش شده است (Jamzad, 2009). کاکوتی‌کوهی در برخی منابع به نام‌های میشه و آویشن باریک آمده است (Karimi, 1995). نام‌های محلی کاکوتی‌کوهی در بلوچستان «پرچین» و «پودنیا» می‌باشند. در طب سنتی هند، از جوشانده خشک کاکوتی‌کوهی برای معالجه تیفوس استفاده می‌شود. دم‌کرده برگ‌های گیاه، به‌عنوان نوشابه خنک، در فصل گرم سال کاربرد دارد (Mirhaydar, 1996). در بسیاری از مناطق ایران از سرشاخه‌های خشک گیاه کاکوتی‌کوهی، به‌عنوان چاشنی به همرا ماست و سایر فرآورده‌های لبنی استفاده میشود (Sajadi, *et al*., 2003; Amiri, 2009). همچنین در طب سنتی، در درمان امراض معده و به‌عنوان ضدعفونی‌کننده برای رفع سرماخوردگی بهکار میرود (Babakhanloo, *et al*., 1998). اجزای کاکوتی کوهی فعالیت ضدتوموری دارد و رشد نوعی از تومورهای بدخیم را تا ۳۲/۶٪ و غدد سرطانی را تا ۴۷/۵٪ کاهش می‌دهد (Chachoyan & Oganesyan, 1991). احتمالاً کاکوتی‌کوهی یکی از انواع گیاهان داروئی است که در طب سنتی ایران به‌نام مشک، طرامشک و صعتر از آن نام برده شده است. از آن جمله میتوان به‌کاربرد برگها و گلهای این گیاه در درمان سرماخوردگی، به علت آثار ضدعفونی‌کننده و ضدالتهاب آن اشاره کرد (Amin, 1997). این گیاه عموماً برای ناراحتی‌های قلبی، فشار خون بالا، برونشیت، طپش قلب غیرطبیعی، آسم و آبسه ریه‌ها مورد استفاده قرار می گیرد (Tian *et al*., 2011). ترکیب اصلی و غالب اسانس کاکوتی‌کوهی همانند سایر گونه‌های این جنس، پولگون است (Sajjadi *et al*., 2003؛ Babakhanloo *et al*., 1998؛ Kghel *et al*., 2006). اثرات ضددردی و ضدالتهابی این ترکیب، که در گیاهان مختلف خانواده نعنا عیان حضور دارند، به خوبی مشخص شده است (Yao & chiou, 1993؛ De Sousa *et al*., 2007؛ Sezik *et al*., 1991). به‌طوری که می‌توان از آن در درمان تب، دردهای قاعدگی و تونوس معده استفاده کرد (Naghibi *et al*., 2005). عمده ترکیب‌های اصلی تشکیل‌دهنده سرشاخه‌های گل‌دار گیاه کاکوتی کوهی پولگون، پی‌پریتنون، منتون، ۸،۱-سینئول، ایزومنتون و منتول گزارش شده است (Sharopov & Setzer, 2011; Amiri, 2009; Sonboli *et al*., 2006; Zhong-lei *et al*., 2008; Si-lei *et al*., Soltani Nejad, 2012; Sonboli *et al*. 2010; 2011;

از خواص داروئی پولگون، می‌توان در درمان اختلالات گوارشی نظیر اسهال و دل‌پیچه نام برد (Naghibi *et al*., 2005؛ Zarabi, 2000). علاوه بر این گونه‌های مختلف جنس کاکوتی دارای اثرات ضد باکتری (Economou *et al*., 1991؛ Ozturk & Ercisli, 2007؛ Salehi *et al*., 2005؛ Sonboli *et al*., 2006)، آنتی‌اکسیدانی (Konyalioglu, 2006؛ Salehi, 2005)، ضد عفونی کنندگی روده (Naghibi *et al*., 2005؛ Economou *et al*., 1991؛ Ozturk & Ercisli, 2007)، خلط‌آور و ضد سرماخوردگی (Zarabi, 2000) می‌باشد. اثرات ضددردی و ضدالتهابی گیاه کاکوتی‌کوهی به اثبات رسیده است (Ai-long *et al*., 2012).

به‌واسطه مقادیر بالای مونوترپن پولگون موجود در گونه‌های مختلف جنس کاکوتی و اهمیت این ترکیب شیمیائی در صنایع مختلف غذائی، داروئی و بهداشتی؛ همچنین پراکنش جغرافیائی نسبتاً گسترده دو گونه مورد مطالعه در نواحی خشک و نیمه‌خشک

کشور، تلاش شد ترکیب‌های تشکیل‌دهنده این دو گونه به چهار روش مختلف اسانس‌گیری مورد ارزیابی قرار گیرند.

۲. مواد و روش‌ها

۲-۱. جمع‌آوری گیاه و استخراج اسانس

پس از شناسائی دقیق زیستگاه دو گیاه کاکوتی و کاکوتی‌کوهی منطقه قمصر کاشان سرشاخه‌های گل‌دار آن در بهار ۱۳۹۰ جمع‌آوری شد و پس از انتقال به هرباریوم باغ گیاه‌شناسی کاشان، شناسائی شدند. سرشاخه‌های جمع‌آوری شده دو گونه، پس از انتقال به آزمایشگاه، در شرایط سایه، به‌طور کامل خشک و پودر شدند. نمونه‌های گیاهی به‌روش استخراج و تقطیر با بخار همزمان با حلال آلی (SDE)، کلونجر، اسانسگیری با بخار سرد (با استفاده از امواج فراصوت) (Enghashte Vahed, 2012) و تقطیر با بخار آب 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 گیاهان، بین ۲ تا ۲/۵ ساعت انتخاب شد.

۲-۲. شناسائی ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس

برای شناسائی ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس، از دستگاه‌های گاز کروماتوگرافی (GC) و گاز کروماتوگرافی متصل‌شده به طیف‌سنج جرمی (GC/MS) استفاده شد. شناسائی طیف‌ها به کمک محاسبه شاخص‌های بازداری کواتس (RI) و با تزریق هیدرو-کربن‌های نرمال (C_8-C_{24}) 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 شناسائی ترکیب‌ها انجام شد و شناسائی‌های 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 به دست آمد و با مقادیری که در منابع مختلف با در نظر گرفتن اندیس بازداری منتشر شده، مقایسه گردید (Davies, 1990 ؛Shibamoto, 1987).

۲-۳. مشخصات دستگاههای مورد استفاده گاز کروماتوگرافی

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 بوده‌است. گاز حامل هلی وم با درجه خلوص ۹۹/۹۹۹٪ مورد استفاده قرار گرفت. سرعت جریان گاز حامل ۱ میلی‌متر بر دقیقه بود.

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 هلی وم با درجه خلوص ۹۹/۹۹۹٪ 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 میکرو آمپر تنظیم گردید.

۳. نتایج و بحث

اسانس حاصل از سرشاخه‌های گل‌دار گیاه کاکوتی، بی‌رنگ و بازده آن در روش های مختلف، بین ۰/۲٪ تا ۲/۳٪ برآورد شد. اسانس حاصل از سرشاخه‌های گل‌دار گیاه کاکوتی‌کوهی، بی‌رنگ و بازده آن در روش‌های مختلف، بین ۰/۳٪ تا ۱/۳٪ به دست آمد (جدول۱). تعداد ۱۸ ترکیب شیمیائی در اسانس گیاه کاکوتی شناسائی گردید. اجزای اصلی اسانس کاکوتی شامل پولگون

(۹۰/۱۰٪-۸۰/۰۱٪) و پیپریتنون (۷/۱۴٪-۴/۵۰٪) بودند. ۳۴ ترکیب در اسانس گیاه کاکوتی‌کوهی شناسائی گردید. بیشترین ترکیب های تشکیل‌دهنده اسانس کاکوتی‌کوهی شامل پولگون (۳۵/۲۰٪-۲۵/۸۷٪)، پی‌پریتنون (۲۷/۸۸٪-۱۰/۱۱٪)، منتول (۱۷/۵۰٪-۱۱/۴۱٪) و منتون (۷/۶۹٪-۰) بودند (جدول ۲ و ۳).

جدول ۱. عملکرد استخراج اسانس از دو گیاه کاکوتی و کاکوتی‌کوهی به تفکیک روش استخراج

گونه گیاهی	روش‌های استخراج اسانس(٪)			
	SDE	کلونجر	تقطیر با بخار آب	اولتراسونیک
کاکوتی	۲/۳	۲	۱/۹	۰/۸
کاکوتی‌کوهی	۱/۳	۰/۹	۰/۷	۰/۳

جدول ۲. ترکیب‌های شیمیائی و مقادیر آنها در اسانس سرشاخه‌های گل‌دار گیاه کاکوتی (*Z. tenuior*) در چهار روش مختلف اسانس‌گیری

ردیف	نام ترکیب	شاخص بازداری	میزان ترکیب (درصد وزنی/وزنی)			
			SDE	کلونجر	تقطیر با بخار آب	اولتراسونیک
۱	*α*-Pinene	۹۳۵	۰/۵۷	۰/۳۱	۰/۳۱	-
۲	Camphene	۹۵۰	۰/۳۴	-	۰/۲۵	-
۳	Sabinene	۹۷۵	۰/۲۵	۰/۱۳	۰/۱۶	-
۴	*β*-Pinene	۹۷۹	۰/۳۱	۰/۴۲	۰/۴۸	-
۵	β-Myrcene	۹۹۱	۰/۱۴	۰/۱۰	-	-
۶	Limonene	۱۰۳۱	۰/۸۴	۰/۷۳	۱/۳۳	-
۷	1,8-Cineole	۱۰۳۴	۱/۶۱	۰/۶۶	۰/۹۶	۰/۲۳
۸	γ-Terpinene	۱۰۶۰	۰/۱۱	-	۰/۴۳	-
۹	3,8-*p*-Menthadiene	۱۰۷۱	۰/۲۴	-	-	-
۱۰	Camphor	۱۱۴۹	۲/۴۷	-	-	-
۱۱	Menth-3-en-8-ol	۱۱۵۳	۲/۱۲	-	۰/۱۳	-
۱۲	*cis*-Isopulegone	۱۱۸۱	۱/۵۹	۰/۱۳	-	۰/۵۰
۱۳	Pulegone	۱۲۶۷	۸۰/۰۱	۹۰/۱۰	۸۶/۰۶	۸۶/۸۷
۱۴	Piperitenone	۱۳۵۲	۵/۵۴	۵/۴۴	۴/۴۳	۷/۱۴
۱۵	Mint furanone	۱۳۸۰	-	-	۰/۱۹	-
۱۶	Caryophyllene	۱۴۲۵	۰/۱۹	-	-	-
۱۷	Caryophyllene oxide	۱۵۷۵	-	۰/۱۸	-	-
۱۸	1-Octadecene	۱۷۴۸	-	۰/۲۲	-	-
۱۹	Monoterpenes hydrocarbons		۲/۷	۱/۶۹	۲/۹۶	۹۴/۷۴
۲۰	Oxygenated monoterpenes		۹۳/۳۴	۹۶/۴۲	۹۱/۵۸	-
۲۱	Sesquiterpenes hydrocarbons		۰/۱۹	-	-	-
۲۲	Oxygenated sesquiterpenes		-	۰/۱۸	-	-
۲۳	Other components		-	-	۰/۱۹	-
	مجموع		۹۶/۲۳	۹۸/۴۲	۹۴/۷۳	۹۴/۷۴

جدول ۳. ترکیب‌های شیمیائی و مقادیر آنها در اسانس سرشاخه‌های گل‌دار گیاه کاکوتی‌کوهی(*Z. clinopodioides*) در چهار روش مختلف اسانس‌گیری

ردیف	نام ترکیب	شاخص بازداری	میزان ترکیب (درصد وزنی/وزنی)			
			SDE	کلونجر	تقطیر با بخار آب	اولتراسونیک
۱	2-hexenal		۰/۱۲	-	-	-
۲	Santolinatriene	۸۵۲	۰/۳۹	-	-	-
۳	α-Thujene	۹۱۱	۰/۲۰	-	-	-
۴	α -Pinene	۹۳۰	۱/۲۲	۰/۲۷	-	-
۵	Camphene	۹۳۲	۰/۹۲	۰/۲۵	-	-
۶	Sabinene	۹۶۵	۰/۵۶	۰/۱۸	-	-
۷	β-Pinene	۹۷۹	۱	۰/۳۹	-	-
۸	β -Myrcene	۹۸۶	۰/۳۴	-	-	-
۹	3-Octanol	۹۹۷	۰/۱۵	-	-	-
۱۰	Limonene	۱۰۰۰	-	۱/۱۰	۲/۹۰	-
۱۱	1,8-Cineole	۱۰۲۵	۷/۴۳	۲/۳۲	۰/۷۹	۳/۱۵
۱۲	β-*cis*-Ocimene	۱۰۳۳	۰/۳۱	۲/۳۶	-	۵/۳۴
۱۳	γ-Terpinene	۱۰۳۵	۰/۱	-	-	-
۱۴	Sabinene hydrate	۱۰۶۱	-	-	-	۰/۶۹
۱۵	3,8-*p*-Menthadiene	۱۰۷۱	۰/۳۹	۰/۵۷	۰/۴۶	-
۱۶	Linalool oxide	۱۰۷۳	-	-	-	۰/۶۹
۱۷	Linalool	۱۰۸۲	۰/۲۹	۰/۳۳	-	-
۱۸	Camphor	۱۱۰۷	۰/۵۶	-	-	-
۱۹	Menth-3-en-8-ol	۱۱۴۲	۸/۰۴	۶/۰۱	-	-
۲۰	Menthone	۱۱۴۴	۷/۶۹	۶/۹۶	۷/۵۸	-
۲۱	α-Terpineol	۱۱۴۹	۰/۶۱	-	-	-
۲۲	Borneol	۱۱۷۵	۰/۶۸	۳/۲۵	۰/۴۲	۲/۸۶
۲۳	Menthol	۱۱۷۸	۱۱/۵۳	۱۴/۷۰	۱۷/۰۳	۱۱/۴۱
۲۴	Pulegone	۱۱۸۲	۳۰/۷۳	۲۸/۹۲	۳۵/۲۰	۲۵/۸۷
۲۵	Piperitone	۱۲۲۹	۳/۶۴	۳/۷	۴/۳۷	۲۰/۹۲
۲۶	Bornyl acetate	۱۲۵۳	۰/۳۸	۰/۶۱	۱/۶	-
۲۷	Piperitenone	۱۲۶۷	۱۶/۸۵	۱۰/۱۱	۱۱/۰۹	۲۷/۸۸
۲۸	Carane	۱۳۴۹	۱/۸۸	۱۰/۷۵	۸/۶۸	-
۲۹	Eugenol	۱۳۵۱	۰/۱۸	۰/۵۰	-	-
۳۰	B-Bourbonene	۱۳۵۳	۰/۱۳	۰/۲	۰/۳۹	-
۳۱	Germacrene-D	۱۳۴۰	۰/۵۵	۰/۴۵	۰/۷۳	-
۳۲	Bicyclogermacrene	۱۴۷۶	۰/۱۸	۰/۲۱	۰/۲۳	-
۳۳	Spathulenol	۱۵۰۰	-	-	۰/۳۶	-
۳۴	Monoterpenes hydrocarbons		۸	۱۶/۰۷	۱۲/۴۳	۶/۰۳
۳۵	Oxygenated monoterpenes		۸۷/۵۴	۷۷/۴۱	۷۸/۰۸	۹۲/۷۸
۳۶	Sesquiterpenes hydrocarbons		۰/۷۳	۰/۶۶	۰/۹۶	۰
۳۷	Oxygenated sesquiterpenes		۰	۰	۰/۳۶	۰
۳۸	Other components		۰/۲۷	۰	۰	۰
	مجموع		۹۶/۵۴	۹۴/۱۴	۹۱/۸۳	۹۸/۸۱

بر اساس نتایج حاصل از این تحقیق، شاخص‌ترین ترکیب شیمیائی تشکیل‌دهنده اسانس گیاه کاکوتی، پولگون بود که میزان این ترکیب در روش‌های مختلف اسانس‌گیری بین ۸۰/۰۱٪ (روش SDE) تا ۹۰/۱۰٪ (روش کلونجر) به دست آمد. این ترکیب به‌عنوان جزء اصلی اسانس سرشاخه‌های گل‌دار گیاه کاکوتی منطقه حصارک کرج، به‌میزان ۸۵/۷٪ و منطقه ورانچ قم ۸۷/۸٪ (Najafi, & Tavakkoli, 2011) و ۸۷/۱٪(Sezix *et al*., 2006) گزارش شده است. در ضمن دومین ترکیب اصلی اسانس این گیاه، پی‌پیرتنون بود که میزان این جزء در روش‌های مختلف اسانس‌گیری بین ۴/۴۳٪ (روش تقطیر با بخار) تا ۷/۱۳٪ (روش اولتراسونیک) به دست آمد. علاوه بر آن ترکیب یادشده در اسانس گیاه کاکوتی منطقه قم و کرج گزارش نشد و به‌جای آن ترکیب لیمونن دومین جزء اصلی اسانس کاکوتی منطقه حصارک کرج (۵/۱٪) و ورانچ قم (۳/۶۳٪) گزارش شده است (Najafi, & Tavakkoli, 2011). مقدار این جزء در روش‌های مختلف اسانس‌گیری، بین صفر (روش اولتراسونیک) تا حداکثر ۱/۳۳٪ (روش تقطیر با بخار) گزارش شد.

ترکیب پولگون به‌عنوان شاخص‌ترین جزء اصلی اسانس کاکوتی‌کوهی، بسته به روش‌های مختلف اسانس گیری، بین ۲۵/۸۷٪ (روش اولتراسونیک) تا ۳۵/۳۰٪ (روش تقطیر با بخار آب) به دست آمد. این ترکیب به‌عنوان جزء اصلی اسانس کاکوتی کوهی زینجی‌یانگ چین ۸۰/۷٪ (Si-lei *et al*., 2011)، تاجیکستان ۳۵٪ تا ۷۲/۸٪ (Sharopov & Setzer, 2011)، کرمان ۳۴/۴٪ (Soltani Nejad, 2012)، خراسان ۲۷/۱۵٪ (Shafei, *et al*., 2012)، چین ۸۴/۲۴٪ (Zhong-lei *et al*., 2008) و ترکیه ۶۰/۲٪ (Kghel *et al*., 1991) نیز گزارش شده است. ترکیب یادشده در زیرگونه‌های *Z. clinopodioides ssp. rigida* خراسان، بین ۰/۷٪ تا ۴۴/۵٪ (Sonboli *et al*., 2010)، زیرگونه *Z. taurica subsp. clenioides* ترکیه ۸۱/۹٪ (Meral *et al*., 2002)، زیرگونه *Z. clinopodioides subsp. bungeana* (Juz.) Rech. f. خراسان ۶۵/۲٪ (Sonboli *et al*., 2006)، گونه *Z. vychodceviana* قزاقستان ۶۶٪ و گونه *Z. persica* قزاقستان ۵۷/۵٪ (Dembistikii *et al*., 1995) گزارش شده است. پولگون در اسانس گیاه کاکوتی‌کوهی در مرحله قبل از دوره گل‌دهی به میزان تنها ۱/۳٪ (Amiri, 2009) گزارش شده است. مقایسه این ترکیب در رویشگاه‌های مختلف نشان داد، میزان پولگون قبل از گل‌دهی بسیار پائین‌تر از دوره گل‌دهی گیاه می‌باشد. پی‌پریتنون نیز به‌عنوان دومین جزء اصلی اسانس کاکوتی‌کوهی در روش‌های مختلف اسانس‌گیری، بین ۱۰/۱۱٪ (روش کلونجر) تا ۲۷/۸۸٪ (روش اولتراسونیک) به دست آمد. این ترکیب به‌عنوان جزء اصلی اسانس سایر مناطق جهان به‌میزان ۳/۹٪ (Amiri, 2009)، ۴/۹٪ (Si-lei *et al*., 2011)، ۱/۱٪ تا ۲/۶٪ (Sharopov & Setzer, 2011) و ۱۵/۱٪ (Soltani Nejad, 2012) گزارش شده است. همچنین ترکیب یادشده در زیرگونه *Z. clinopodioides ssp. rigida* بین صفر تا ۵/۴٪ (Sonboli *et al*., 2010)، زیرگونه *Z. taurica subsp. clenioides* ترکیه ۲/۳٪ (Meral *et al*., 2002) و زیر گونه *Z. clinopodioides subsp. bungeana* (Juz.) Rech. f. خراسان ۶/۵٪ (Sonboli *et al*., 2006) به اثبات رسیده است. مقایسه میزان ترکیب منتول موجود در اسانس کاکوتیکوهی کرمان به میزان ۵/۲٪ (Soltani Nejad, 2012) با مقادیر آن در این تحقیق (۱۷/۳٪ بهروش تقطیر با بخار آب)، حاکی از افزایش راندمان استخراج این ترکیب میباشد. ترکیب یادشده بهمیزان ۱۰/۹٪ (Kghel *et al*., 1991) نیز در اسانس این گیاه گزارش شده بود. این مونوترپن دارای کاربرد بسیار گسترده در صنایع غذائی، آرایشی، بهداشتی و داروئی میباشد که بیشترین مقادیر آن در گیاهان خانواده نعناعیان و به ویژه نعناء فلفلی، به میزان ۳۰ تا ۵۰٪ گزارش شده است (Scavroni *et al*., 2005). مونوترپن ۸،۱-سینئول به عنوان یکی از اجزاء اصلی اسانس کاکوتیکوهی بوده که میزان آن در روشهای مختلف بین ۰/۷۹٪ (روش تقطیر با بخار آب) تا ۷/۴۳٪ (روش SDE) به دست آمد. ترکیب یادشده بهعنوان جزء اصلی اسانس این گونه در سایر رویشگاهها بهمیزان ۱/۴٪ (Amiri, 2009)، زیرگونه *Z. clinopodioides ssp. rigida* بهمیزان ۲/۱٪ تا ۲۶٪ (Sonboli *et al*., 2010)، ۶۵٪ (Soltani Nejad, 2012) و زیر گونه *Z. clinopodioides subsp. bungeana* (Juz.) Rech. f. ۷/۸٪ (Sonboli *et al*., 2006) گزارش شده است. منتون نیز که یکی از اجزاء اصلی اسانس کاکوتیکوهی بهشمار میآید و مقدار آن در روشهای مختلف بین صفر (روش اولتراسونیک) تا ۷/۵۸٪ (روش

تقطیر با بخار آب) به دست آمد. این ترکیب بهعنوان جزء اصلی اسانس گیاه یادشده در سایر رویشگاهها، بهمیزان ۸/۳٪ (Si-lei *et al.*, 2011)، ۴/۵٪ (Soltani Nejad, 2012) و ۱۳/۶٪ (Kghel *et al.*, 1991) گزارش شده است.

بارزترین نکتهای که در جدول ۱ مشاهده میشود، درصد بالا پولگون (۹۰-۸۰٪) است که البته پیش از این نیز تجزیه ترکیبهای این گیاه در مناطق مختلف جهان، چنین نتیجهای را نشان داده است. پولگون یک مونوترپن اکسیژندار حلقوی با چگالی ۰/۹۳ می-باشد که از بوئی مطبوع برخوردار بوده و بهعنوان جزء اصلی تشکیل دهنده اسانس برخی از گیاهان خانواده نعنا عیان، محسوب میشود. پولگون ترکیبی سمی است که موجب نکروز شدید کبدی، سقط جنین و کواگولاسیون داخل رگی منتشر میگردد. این ترکیب دارای خاصیت ضد گیاهخواری است و در طبیعت گیاه را از آسیب حشرات و گیاهخواران حفظ میکند و در صنعت از آن در ساخت حشرهکش-ها، صابونهای معطر، دئودورانتها و همچنین بهعنوان طعمدهنده در خمیر دندانها استفاده میشود (Sajjadi, *et al.*, 2003). با توجه به کاربردهای گسترده این ترکیب در صنایع مختلف، این گیاه میتواند منبعی ارزشمند برای تامین پولگون مورد نیاز باشد. اگرچه این میزان پولگون استخراج شده، کاملاً قابل مقایسه با گزارشهای ارائهشده از سایر مناطق ایران و جهان میباشد، اما تفاوتهای قابلتوجهی در میزان و نوع سایر ترکیبهای موجود در اسانس و تعداد کل ترکیبهای شناسایی شده نسبت به گزارشهای موجود در منابع علمی وجود دارد. از تمایزات جالب توجه اسانس گیاه کاکوتیکوهی با نمونههای مناطق دیگر، میتوان به درصد بالای منتول در آن اشاره نمود که به نوعی باعث مرغوبیت اسانس این گیاه شدهاست.

در مقایسه روشهای مختلف اسانس گیری، روش SDE طیف ترکیبهای استخراج شده بسیار گستردهتری نسبت به سایر روشها را ارائه کرد که این امر نشان از کارآیی مناسب این دستگاه جهت استخراج کلی ترکیبهای فرار موجود در اسانس گیاه دارد. همانطور که مشاهده شد، در روش التراسونیک طیف ترکیبهای استخراج شده، بسیار محدودتر بود. این محدودیت ناشی از حذف ترکیبهای فرارتر از یکطرف و عدم استخراج ترکیبهای سنگینتر از طرف دیگر، میباشد. اجزای اسانسی گیاه کاکوتی و کاکوتیکوهی عمدتاً ترکیبهای مونوترپنی بوده و درصد کمی از اجزای آن را سزکوئیترپنیها و یا سایر ترکیبهای تشکیل میدهند. از نکات جالب توجه در این قسمت میتوان به عدم استخراج ترکیبهای سزکوئیترپنی در دو روش التراسونیک و استخراج با بخار آب اشاره نمود. میتوان نتیجه گرفت که اسانس گیاه کاکوتی اجزای مونوترپن بیشتری نسبت به گیاه کاکوتی کوهی دارد. همچنین روش التراسونیک در مورد هر دو گیاه فقط اجزای مونوترپنی را استخراج کرده است. همانطور که در بین اجزای اسانس گیاه کاکوتی (*Z. tenuior*) و کاکوتیکوهی (*Z. clinopodioides*) مشاهده میشود، جزء اصلی و مشترک اسانس دو گیاه یاد شده، پولگون می-باشد. براساس اطلاعات بهدست آمده از متون علمی، یکی از اثرات گزارش داده شده برای این ترکیب، خاصیت آفتکشی آن میباشد (Palacios *et al.*, 2009؛ Franzios *et al.*, 1997؛ Palacios *et al.*, 2009). شاید بتوان با بررسی بیشتر بر روی این موضوع، زمینه ساخت آفتکشی بیولوژیک و ارگانیک از اسانس این دو گیاه، به ویژه اسانس کاکوتی با میزان ۸۰٪ پولگون را فراهم ساخت. قیمت جهانی ۱۰۰ گرم پولگون (۸۵٪)، در حدود ۵۵ یورو (SLS, 2012) و ۱ میلیلیتر پولگون (۹۸٪)، ۲۳۷ یورو (Sigma Aldrich, 2012) می-باشد، که با توجه به خلوص ۸۱ درصدی این ترکیب در اسانس این گیاه و با در نظر داشتن بازده حدوداً دو درصدی استحصال اسانس، میتوان در صورت کشت مکانیزه این گیاه، ترکیب مورد نظر را تلخیص نموده و صنعت پربازده اقتصادی را راهاندازی نمود.

۵. نتیجه گیری

مقایسه روشهای مختلف اسانسگیری در استخراج ترکیب پولگون نشان داد، بیشترین راندمان استحصالی ترکیب پولگون، مربوط به روش کلونجر (۹۰/۱۰٪) و کمترین مقدار آن متعلق به روش SDE (۸۰/۰۱٪) میباشد. بنابراین اگرچه بیشترین راندمان اسانس استحصالی گیاه کاکوتی در روشهای مختلف مورد آزمون، مربوط به روش SDE (به میزان ۲/۳٪) میباشد که تقریباً سه برابر بازده اسانس روش اولتراسونیک (۰/۸٪) است، روش تقطیر و استخراج با بخار همزمان با حلال آلی، بهعنوان بهترین شیوه

استخراج اسانس در گیاه یادشده توصیه می‌گردد. اگرچه به استناد نتایج حاصل از این تحقیق، برای دستیابی به راندمان بیشتر ترکیب های اصلی اسانس کاکوتیکوهی، نظیر پولگون و منتول (روش تقطیر با بخار آب)، پیپریتنون (روش اولتراسونیک)، منتون و ۸،۱- سینئول(روش SDE) بهعنوان بهترین شیوههای اسانسگیری معرفی شدند، با وجود این مقایسه راندمان کلی اسانس در شیوههای چهار گانه نشان داد، بهترین روش اسانسگیری برای دسترسی به حداکثر راندمان اسانس گیاه کاکوتیکوهی روش استخراج و تقطیر با بخار همزمان با حلال آلی، توصیه میگردد. همان‌طور که انتظار میرفت، در بین روشهای مورد استفاده، روش SDE بیشترین بازده و روش اولتراسونیک کمترین بازده اسانس را از خود نشان دادهاند.

۵. منابع

Ai-long, S., Hong-ling, C. and Qing-yan, M. 2012. Anti-flammatory and antalgic effects of *Ziziphora clinopodioides* and its acute toxicity. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae*., 4: 202-204.

Amin, G.R. 1997. *Traditional medicinal plants of Iran*. Research Deputy Publications of Hygiene Ministry, Islamic Republic of Iran, pp: 230. [in Persian].

Amiri, H. 2009. Composition and antioxidant activity of the essential oil and methanolic extract of *Ziziphora Clinopodioides* Lam. in pre-flowering stage. *Journal of Kerman University of Medical Sciences*., 16(1): 79-86.

Babakhanloo, P., Mirza, M., Sefidkon, F., Barazandeh, M.M. and Asgari, F. 1998. Chemical composition of essential oil of *Z. clinopodioides* Lam. *Iranian Medicinal Plants Research Journal*., 2: 103-114..

Batooli, H. 2003. Biodiversity and species richness of plant elements in Qazaan reserve of Kashan. *Pajouheh & Sazandegi*., 61(4): 85-103.

Chachoyan, A.A. and Oganesyan, G.B. 1991. Antitumor activity of some spices of the family Lamiaceae. *Rastitelnye Resursy*., 32(4): 59-64.

Davies, N.W. 1990. Gas chromatographic retention index of monoterpenes and sesquiterpenes on methyl silicone and carbowax 20 M phases. *Journal of Chromatography*., 503: 1-24.

De Sousa, D.P., Junior, E.V., Oliveira, F.S., De Almeida, R.N., Nunes, X.P. and Barbosa-Filho, J.M. 2007. Antinociceptive activity of structural analogues of rotundifolone: structure-activity relationship. *Z. Nature. Forsch*., 62 (1-2): 39-42.

Dembitskii, A.D., Bergaliev, E.S. and Kyazimov, I.M. 1994. Chemical composition of the essential oils of *Ziziphora* growing under various ecological conditions. *Chemistry of Natural Compounds*., 30(6): 673-5.

Economou, K.D., Oreopoulou, V. and Thomopoulos, C.D. 1991. Antioxidant activity of some plant extracts of the family labiatae. *Journal of the American Chemical Society***.,** 68: 109-113.

Enghashte Vahed, A.A. 2012. *Developed a new system of plant oils by Steam-Cooled distillation (Ultrasonic) through cavitation and compared with conventional methods on native plant two species of the family compositae and phytochemical and biological properties of these two plants*. Master's thesis of Essential oils Research Institute, University of Kashan, Kashan pp 130. [in Persian].

Franzios, G., Maria Mirotsou, M., Hatziapostolou, E., Kral, J., Zacharias Scouras, G. and Mavragani-Tsipidou, P. 1997. Insecticidal and genotoxic activities of mint essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*., 45(7): 2690-2694.

ethnobotany to pharmacology. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*., 2: 63-79.

Najafi, F. and Tavakkoli, Z. 2011. Comparing essential oil composition and antibacterial effects of *Ziziphora tenuior* L. in two regions of Iran. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants.,* 27(2): 239-248.

Ozturk, S. and Ercisli, S. 2007. Antibacterial activity and chemical constitutions of *Ziziphora clinopodioides*. *Food Control.*, 18(5): 535-540.

Palacios, S.M., Bertoni, A., Rossi, Y., Santander, R. and Urzúa, A. 2009. Insecticidal activity of essential oils from native medicinal plants of Central Argentina against the house fly; *Musca domestica* (L.). *Parasitology Research*., 106(1): 207-212.

Rechninger, K.H. 1982. *Ziziphora* (Labiatae) *in Flora Iranica*. Akademische Druck-U, Verlagsanstalt, Graz-Austria. 150: 480-493.

Sajjadi, S.E., Ghasemi Dehkordi, N. and Baluchi, M. 2003. Volatile constituents of *Ziziphora clinopodioides* Lam. *Pajoohesh & Sazandeghi*., 58(1): 97-100.

Salehi, P., Sonboli, A., Eftekhar, F., Nejad-Ebrahimi, S. and Yousefzadi, M. 2005. Essential oil composition, antibacterial and antioxidant activity of the oil and various extracts of *Ziziphora clinopodioides* subsp. *rigida* (Boiss.) Rech. f. from Iran. *Biological & Pharmaceutical Bulletin.,* 28(10): 1892-6.

Scavroni, J., Boaro, C.S.F., Marques, M.O.M. and Ferreira, L.C. 2005. Yield and composition of the essential oil of *Mentha piperita* L. (Lamiaceae) grown with biosolid. *Brazilian Journal of Plant Physiology*., 17(4): 345-352.

Sezik, E., Tumen, G. and Baser, K.H. 2006. *Ziziphora tenuior* L., a new source of

Ghasemi Pirbalouti, A. 2009. Medicinal plants used in Chaharmahal and Bakhtyari districts, Iran. *Herba Polonica*., 55: 69-75.

Jamzad, Z. 2009. *Thymus and Saureja species of Iran*. Publishing of Research Institute of Forests and Rangelands. pp: 171. [in Persian].

Karimi, H. 1995. *Names of Iran plants*. Nashre-Daneshgahi press. pp: 412. [in Persian].

Kguel, A., Pooter, H.D. and Buyck, L.D. 1991. The essential oil of *Calamintha nepeta* subsp. *glandulosa* and *Ziziphora clinopodioides* Lam. from Turkey. *Journal of Essential oil Research*., 3(1): 7-10.

Konyalioglu, S., Qzturk, B. and Elgin, M.G. 2006. Comparison of chemical compositions and antioxidant activities of the essential oils of two *Ziziphora taxa* from Anatolia. *Pharmaceutical Biology*., 44: 121-126.

Koocheki, A., Nassiri-Mahallati, M. and Azizi, G. 2004. The effects of water stress and defoliation on some of quantitative traits of *Zataria multiflora*, *Ziziphora clinopodioides*, *Thymus vulgaris* and *Teucrium polium*. *Iranian Journal of Field Crops Research*., 1-18.

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

Mirhaydar, Kh. 1996. *Plant Encyclopedia (application of plants in cure of disease)*, vol:2, 2nd ed. Office of Islamic Farhag press. Tehran. pp: 514. [in Persian].

Mozaffarian, V. 2008. *A pictorial dictionary of botany botanical taxonomy*: in Latin - English - French - Germany - Persian/ Complied, Tehran, Iran, pp. 522.

Naghibi, F., Mosaddegh, M., Mohammadi Motamed, S. and Ghorbani, A. 2005. Labiatae family in folk medicine in Iran from

Antibacterial activity and composition of the essential oil of *Ziziphora clinopodioides* subsp. *bungeana* (Juz.) Rech. f. from Iran. *Z. Naturforsch.*, 61(9-10): 677-80.

Talebi, S.M., Ebrahimi, J. and Mansouri, M. 2010. The phenotypic plasticity in variant population of *Ziziphora tenuior* L. (Labiatae). *Ghiah va Zistboom*., 22: 3-17. [in Persian].

Tian, S., Shi, Y., Zhou, X., Ge, L. and Upur, H. 2011. Total polyphenolic (flavonoids) content and antioxidant capacity of different *Ziziphora clinopodioides* Lam. Extracts. *Pharmacognosy Magazine.*, 7(25): 65-68.

Tumen, G. and Ayhan, Z. 1992. Antimicrobial activity of essential oils of two *Ziziphora* species growing in Turkey. *Fitoterapia*., 63: 264-265.

Usher, G. 1971. *A dictionary of plants*. CBS Publishers and distributors, Dlhi India. pp. 619.

Yao, Q.S. and Chiou, G.C. 1993. Inhibition of crystallins-induced inflammation in rabbit eyes with five phytogenic compounds. *Zhongguo Yao Li Xue Bao*., 14(1):13-7.

Zarabi, M. 2000. *Pharmacognosical evaluation of Ziziphora.* (Pharm D. Thesis), Faculty of Pharmacy: University of Tehran, [in Persian].

Zargari, A. 1993. *Medicinal plants*. Tehran University Publications, pp: 696. [in Persian].

Zhong-lei, L., Jin-rong, L., Heng, W., Hang-yu, W., Fang-qun, L. and Wen-xia, L. 2008. composition analysis for the essential oil of *Ziziphora clinopodioides* Lam. *Journal of Shihezi University* (*Natural Science*)., 4: 483-486.

pulegone. *Flavour Fragrance Journal*., 6(1): 101-103.

Shafei, M., Sharifan, A., Aghazade Meshki, M. 2012. Composition of essential oil of *Ziziphora clinopodioides* and its antimicrobial activity on *Kluyveromyces marxianus*. *Food Technology & Nutrition*., 9(1): 101-108.

Sharopov, F.S. and Setzer, W.N. 2011. Chemical diversity of *Ziziphora clinopodioides*: composition of the essential oil of *Z. clinopodioides* from Tajikistan. *Natural Product Communications*., 6(5): 695-698.

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. 435 pp.

Sigma Aldrich. 2012. (S)-(−)-Pulegone. http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/328847?lang=en&region=IR.

Si-lei, X., Pi-hong, Z., Qiao-ling, J.I., Hong-li, J. and Xue-hua, W. 2011. Essential oil compositions and antioxidant activities of two *Ziziphora* species in Xinjiang. *Food Science*., 6 (5): 695-698.

SLS. 2012. (r)-(+)-pulegon 85+%. http://www.scientificlabs.co.uk/product/W296309-100G.

Soltani Nejad, S. 2012. Chemical composition and in vitro antibacterial activity of *Ziziphora clinopodioides* Lam. essential oil against some pathogenic bacteria. *African Journal of Microbiology Research*., 6(7): 1504-1508.

Sonboli, A., Atri M. and Shafiei, S. 2010. Intraspecific variability of the essential oil of *Ziziphora clinopodioides ssp. rigida* from Iran. *Chemistry & Biodiversity*., 7(7) :1784-9.

Sonboli, A., Mirjalili, M.H., Hadian, J., Nejad Ebrahimi, S. and Yousefzadi, M. 2006.