



## آنالیز روغنی اسانسی گیاه *Stachys inflata* Benth. با استفاده از تکنیک کروماتوگرافی گازی - اسپکترومتری جرمی (GC/MS)

جعفر ابولی\*، صفا علی عسگری و فرزاد صادقی

دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شاهرود، دانشکده علوم پایه، گروه شیمی، شاهرود، ایران

تاریخ ثبت اولیه: ۱۳۹۲/۱۱/۱۵، تاریخ دریافت نسخه اصلاح شده: ۱۳۹۲/۱۲/۲۸، تاریخ پذیرش قطعی: ۱۳۹۳/۱/۲۴

### چکیده

گیاه *s. inflata* از منطقه نکارمن شهرستان شاهرود واقع در استان سمنان جمع آوری شد و اسانس گیاه با بکار بردن روش اسانس گیری با استفاده از تکنیک تقطیر با آب بدست آمد، سپس ترکیبات تشکیل دهنده اسانس با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی و کروماتوگراف گازی کوپل شده با طیف سنج جرمی مورد آنالیز قرار گرفتند. در مجموع ۲۷ ترکیب شیمیایی با بازدهی ۹۶/۹۲٪ از اسانس اندام هوایی گیاه توسط دستگاه GC/MS شناسایی شد. اکتان نورمال (۳۱/۹۱٪)، آلفا-پینن (۱۳/۰۳٪)، ساینین (۱۰/۶۶٪)، (+)-دلتا-۲-کارن (۸/۷۶٪) و لیمونن (۵/۶۰٪) ترکیبات اصلی اسانس اندام هوایی گیاه *s. inflata* می باشند.

واژه های کلیدی: اکتان نورمال، آلفا-پینن، ساینین، روغن اسانسی، ترکیب شیمیایی، GC/MS و *Stachys inflata*.

### ۱. مقدمه

جنس *Stachys* از خانواده لامیاسه یا لابیاته با حدود ۳۰۰ گونه در سراسر جهان رویشی وسیع و اثرات درمانی متعددی را دربرمیگیرد. بیشترین پراکندگی این گیاه در اروپا و آمریکای شمالی می باشد. در آسیای میانه، آسیای جنوب شرقی همچنین خاورمیانه، گونه های متعددی از این گیاه دیده میشود و به طور کلی در مناطق معتدل بجز استرالیا دیده میشوند [۱]. این جنس در ایران ۳۴ گونه علفی چند ساله دارد که به طور پراکنده در بیشتر نقاط میرویند که ۱۳ گونه آن انحصاری در ایران هستند. گونه های انحصاری آن در ایران عبارتند از: *S.veroniciformi*, *S.benthamiana*, *S.persepolitana*, *S.asterocalyx*, *S.koelzii*, *S.kermanshahensi*, *S.pilifera*, *S.acerosa*, *S.laxa*, *S.aucheri*, *S.obtuscren*, *S.ixodes* and *S.subaphylla*

دیگر گونه های آن علاوه بر ایران در عراق، تالش، آناطولی، ماورای قفقاز، افغانستان، ترکمنستان و آسیای مرکزی می رویند [۲]. اسم های فارسی این جنس شاطرا، صوراسرافیل و سنبله ای می باشد. جنس *Stachys* گیاهانی یک ساله، دوساله و یا به صورت بوته های چوبی و درختچه ای

\*عهده دار مکاتبات: جعفر ابولی

نشانی: شاهرود - دانشگاه آزاد اسلامی - دانشکده علوم - گروه شیمی

تلفن: ۰۲۳۳۲۳۹۴۵۳۰ بست الکترونیک: E-Mail: Jafar.aboli2011@gmail.com

پوشیده از کرکهای گوناگون و کرک تارهای بلند را در خود جای میدهد. این گیاهان در نقاط مختلف ایران پراکنش داشته و به صورت بومی یافت می شوند. جنس *Stachys* گونه های دارویی نیز دارد و در طب سنتی استفاده می گردد. در طب سنتی گونه هایی مثل *S. inflata* و *S. schtschegleevii* با نام محلی پولک در آذربایجان شرقی به عنوان داروی ضد عفونتهای ریوی بیماری های التهابی استفاده میگردد [۲].

در طب سنتی ایران گونه *S. Recta* به عنوان یک داروی موثر در درمان زخم و جراحی. *S. Lavandulifolia* (چای کوهی) برای درمان کننده دردهای گوارشی و آرام بخش استفاده می شود. همچنین این گیاه در طب سنتی به عنوان بادشکن، مسکن دردهای احشایی سردرد، دردهای عصبی، معرق، اشتها آور، تب بر، درمان بیماریهای عفونی مجاری تنفسی، سرما خوردگی، سینوزیت، آسم و روماتیسم استفاده می شود و بر آثار آنتی باکتریال این گیاه تأکید شده است و در موارد اضطراب به عنوان آرام بخش مورد استفاده قرار می گیرد [۵-۳].

گیاه *S. inflata* با نام محلی سنبله ای ارغوانی، سنبله ای بادکنکی، اولیله، به دلیل اثرات ضد التهاب، در درمان بیماریهای تنفسی و آرتریت مصرف میگردد [۶]. بسیاری از گونه های این جنس از گیاهان دارای اسانس می باشند. اسانس گونه های *S. recta*، *S. euboica*، *S. cretica*، *S. cardiac*، *S. menthifolia* و *S. germanica* اثرات ضد میکروبی و ضد قارچی مناسبی از خود نشان داده اند [۸-۷]. تحقیق بر روی اسانس گیاه *S. inflata* در رویشگاه اصفهان نشان داده است که لینالول (۲۸/۵۵٪)، آلفا- ترپینول (۹/۴۵٪) و اسپاتولونول (۸/۳۷٪) ترکیبات اصلی اسانس گیاه را تشکیل می دهند [۹]. بتا- فلاندرن (۲۸/۲۷٪)، آلفا- توجن (۲۳/۵۲٪) و دلتا- کادینن (۷/۶۷٪) ترکیبات اصلی اسانس گیاه *S. lavandulifolia* در رویشگاه بروجن را تشکیل میدهند [۱۰].

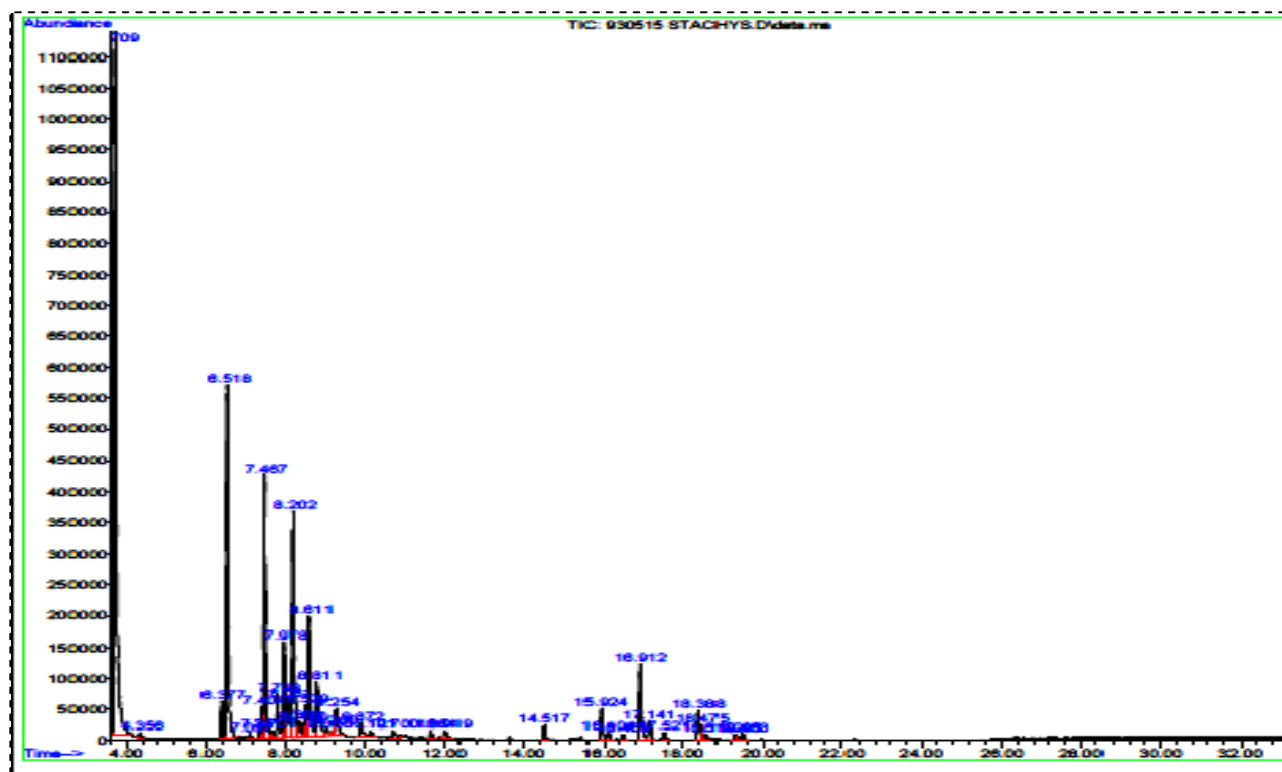
## ۲. مواد و روشها

گیاه *S. inflata* در خرداد ماه سال ۱۳۹۲ هجری شمسی از منطقه کوهستانی مشرف به روستای نکارمن در حوالی شهرستان شاهرود جمع آوری گردیده است. سپس در سایه و در مجاورت جریان ملایم هوا خشک نمودیم. نام گیاه توسط دکتر جوهر چی در بخش گیاه شناسی دانشگاه فردوسی مشهد تعیین شد.

میزان ۱۰۰ گرم از گیاه را خرد نموده و اسانس گیاه به مدت چهار ساعت توسط دستگاه کلونجر بدست آوردیم به منظور حذف رطوبت موجود در روغن فرار استحصالی، از سولفات سدیم انیدر استفاده گردید. بازده روغن اسانس بدست آمده از گل و برگ گیاه به ترتیب ۰/۲٪ حجمی، وزنی می باشد. اسانس بدست آمده را تا موعد انجام مراحل آنالیز، در شیشه های کوچک تیره و در بسته در یخچال (دمای ۴ درجه سانتیگراد) نگهداری نمودیم.

### ۱-۲. مشخصات دستگاه کروماتو گراف گازی GC

در این تحقیق از دستگاه گاز کروماتوگراف Agilent مدل ۷۸۹۰ استفاده شد. ستون موئینه دستگاه با نام HP-5MS دارای طول ۳۰ متر، قطر ۲۵ میلیمتر و ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ میکرون می باشد. ابتدا ۰/۱ میکرولیتر از نمونه به ورودی دستگاه تزریق شد. در ابتدا دمای ورودی دستگاه به مدت سه دقیقه در ۵۰ درجه سانتیگراد قرار داده شد و سپس با سرعت  $8^{\circ}\text{C min}^{-1}$  به ۲۰۰ درجه سانتیگراد رسید، پس از آن با سرعت  $40^{\circ}\text{C min}^{-1}$  به ۲۹۰ درجه سانتیگراد رسانده شد و به مدت سه دقیقه در این دما نگهداری شد. آشکار ساز دستگاه کروماتوگراف گازی نیز از نوع FID بوده و بعنوان گاز حامل در این آزمایش از گاز هلیوم با سرعت ۱/۲ میلی لیتر در دقیقه استفاده شد. به این وسیله کروماتوگرام حاصل از دستگاه کروماتوگراف گازی اسانس حاصل از تقطیر با آب بدست آمد (شکل ۱).



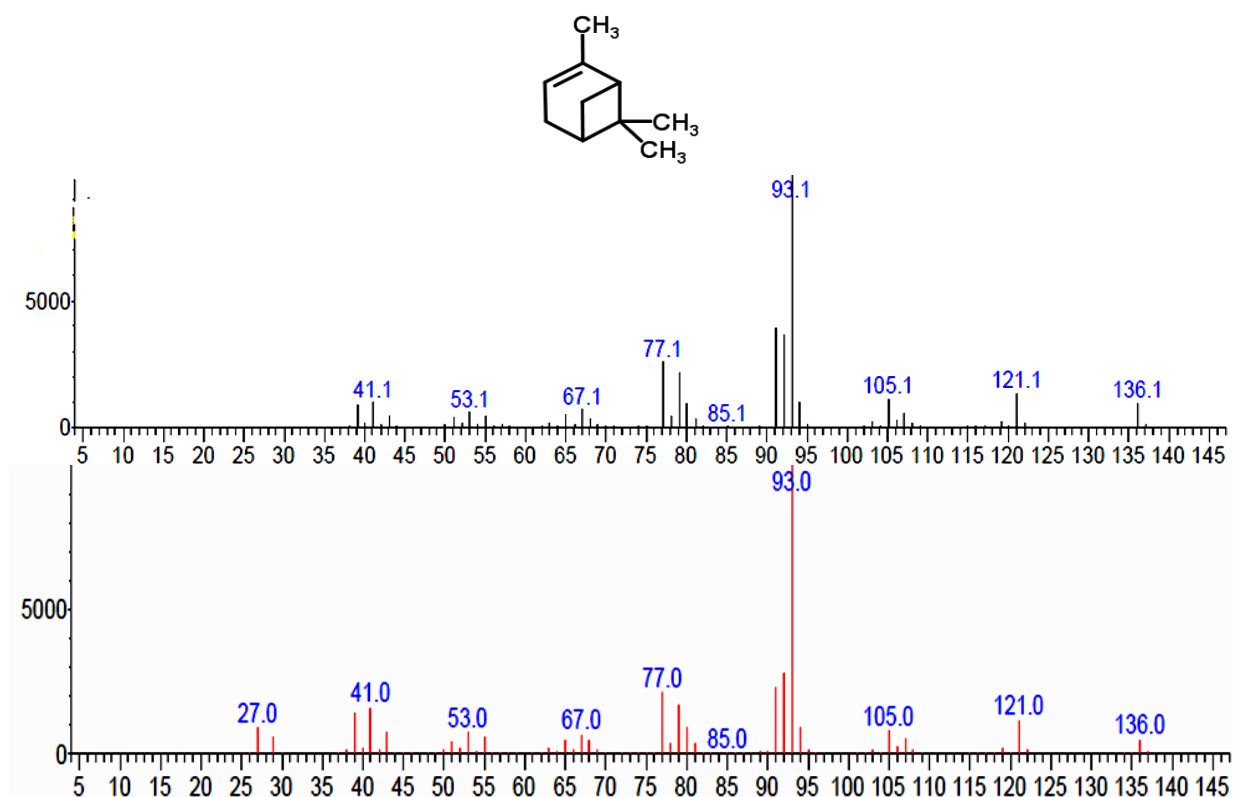
شکل ۱. کروماتوگرام اندام هوایی گیاه مربوط به *Stachys inflata* در تکنیک Hydrodistillation.

## ۲-۲. دستگاه کروماتوگراف گازی متصل شده به طیف سنج جرمی

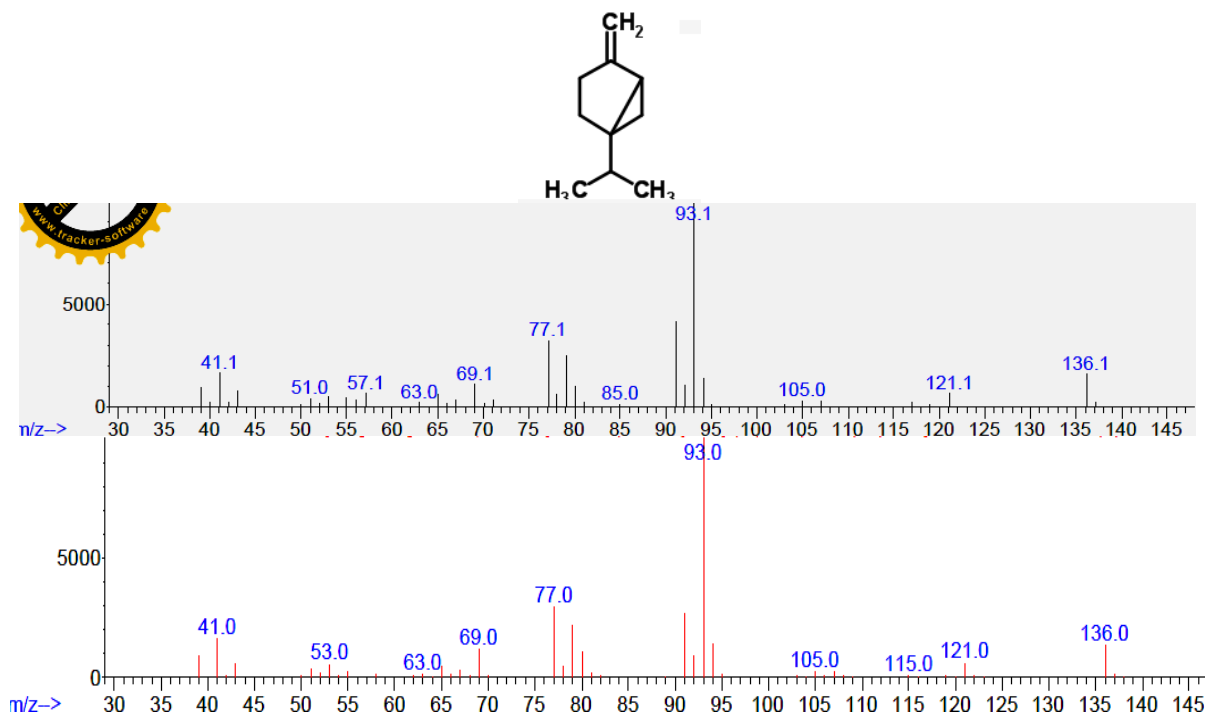
دستگاه Agilent مدل ۷۸۹۰ متصل شده به یک دتکتور جرمی ۵۹۷۵C برای شناسایی اجزای اسانس مورد استفاده گردید. ستون موئینه دستگاه با نام HP-5MS دارای طول ۳۰ متر، قطر ۲۵ میلیمتر و ضخامت فیلم ۰/۲۵ میکرون استفاده شد. ابتدا ۰/۱ میکرولیتر از نمونه به ورودی دستگاه تزریق شد. در ابتدا دمای ورودی دستگاه به مدت سه دقیقه در ۵۰ درجه سانتیگراد قرار داده شد و سپس با سرعت  $^{\circ}\text{C min}^{-1}$  ۸ به ۲۰۰ درجه سانتیگراد رسید، پس از آن با سرعت  $^{\circ}\text{C min}^{-1}$  ۴۰ به ۲۹۰ درجه سانتیگراد رسانده شد و به مدت سه دقیقه در این دما نگهداری شد. دمای ورودی دستگاه طیف سنج جرمی ۲۸۰ درجه سانتیگراد بوده و از یک منبع الکتريکی با قدرت ۷۰ الکترون ولت جهت یونیزاسیون استفاده شد. ولتاژ دتکتور دستگاه ۱/۶۶۵ کیلو ولت بوده دستگاه توانایی ثبت اجرام ۳۰ تا ۴۵۰ واحد جرم اتمی را دارد. سرعت اسکن دستگاه نیز ۲/۸۶ اسکن در ثانیه بوده است.

## ۳-۲. شناسایی اجزای اسانس

در ابتدا آلکانهای سری C<sub>8</sub>-C<sub>25</sub> تحت شرایط ذکر شده به دستگاه GC/MS تزریق و زمان بازداری هر یک از اجزاء بر روی ستون HP-5M بدست آمد و شاخص کواتس ترکیبات موجود در اسانس بر اساس رابطه مربوطه محاسبه شدند و با مقادیر ذکر شده در منابع معتبر مقایسه گردیدند [۱۱]. در روش دیگر جهت اثبات شناسایی های انجام شده پیکهای اصلی طیف جرمی نمونه جزء مجهول اسانس را با طیف های استاندارد ارائه شده توسط کتابخانه دستگاه مقایسه نموده و نام جزء مجهول را یافته و ساختار آن را نیز از منابع معتبر بدست آوردیم [۱۱]. در شکل های ۲ و ۳ دو نمونه از طیفهای نمونه مجهول و طیف جرمی استاندارد پیشنهادی دستگاه طیف سنج جرمی آورده شده است.



شکل ۲. طیف جرمی استاندارد (بالا) و طیف جرمی نمونه (پایین)  $\alpha$ -pinene.



شکل ۳. طیف جرمی استاندارد (بالا) و طیف جرمی نمونه (پایین) Sabinene.

## ۳. نتایج و بحث

بررسی فیتوشیمیایی گیاه جهت بررسی خواص درمانی و کاربردهای دیگر آن حائز اهمیت می باشد. در این تحقیق اسانس گیاه *Stachys inflata* از نظر اجزاء، ترکیب درصد آنها و همچنین ساختار هر جزء مورد بررسی قرار گرفت. همچنین با مقایسه نتایج حاصله با نتایج دیگر تحقیقات صورت گرفته در دیگر نقاط ایران اثر اقلیم های مختلف بر روی نوع اجزاء و ترکیب درصد اجزا مورد بررسی قرار گرفت. بررسی ها نشان داد که از ۹۶/۹۲٪ کل اجزاء اسانس را که مورد شناسایی قرار گرفته اند، ۵۱/۹۲٪ را مونو ترین ها تشکیل داده و ۹/۱٪ ترکیبات شناسایی شده را سزکوئی ترین ها تشکیل می دهند. ۲۷ ترکیب در اسانس *Stachys inflata* روئیده در شهرستان شاهرود شناسایی گردید. اکتان نرمال (۳۱/۹۱٪)، ساینین (۱۰/۶۶٪)، (+) - دلتا - ۲ - کارن (۸/۷۶٪) و لیمونن (۵/۶٪) ترکیبات اصلی اسانس را تشکیل می دهد. از دیگر ترکیبات قابل ذکر در اسانس این گیاه می توان از جرمکران دی (۳/۴۶٪)، Z - بتا - اسیمین (۳/۲۲٪) و نرمال دکان (۳/۹۹٪) نام برد (جدول ۱ و ۲).

جدول ۱. ترکیبات شناسایی شده اسانس اندام هوایی گیاه *Stachys inflata*

No.	Name of compound	RT	KI	aerial part oil%
1	n-octane	3.709	800	31.91
2	$\alpha$ -thujene	6.377	930	1.27
3	$\alpha$ -pinene	6.518	939	13.03
4	5-methylnonane	7.097	960	0.23
5	3-methylnonane	7.341	968	0.20
6	sabinene	7.467	975	10.66
7	myrcene	7.798	991	2.03
8	n-decane	7.978	1000	3.99
9	$\alpha$ -phellandrene	8.081	1003	1.63
10	(+)- $\delta$ -2-carane	8.202	1002	8.76
11	$\alpha$ -terpinene	8.353	1017	0.70
12	p-cymene	8.529	1025	1.54
13	limonene	8.611	1029	5.60
14	z- $\beta$ -ocimene	8.811	1037	3.22
15	E- $\beta$ -ocimene	9.05	1050	0.42
16	$\gamma$ -terpinene	9.254	1060	1.35
17	terpinolene	9.872	1089	0.86
18	terpinen-4-ol	11.664	1177	0.42
19	$\delta$ -elemene	14.517	1338	0.54
20	(E)-caryophyllene	15.924	1419	1.30
21	$\beta$ -elemene	16.104	1437	0.44
22	$\alpha$ -humulene	16.469	1455	0.21
23	germacrene D	16.912	1485	3.46
24	bicyclogermacrene D	17.141	1500	0.92
25	$\delta$ -cadinene	17.521	1523	0.37
26	spatulanol	18.388	1578	1.17
27	caryophyllene oxide	18.475	1583	0.69
total				96.92

جدول ۲. ترکیبات مونو ترپنی و سزکوپی ترپنی در اسانس اندام هوایی گیاه *Stachys inflata*

Hydrocarbon Monoterpenes	%	Oxygenated Monoterpenes	%	Hydrocarbon Sesquiterpenes	%	Oxygenated Sesquiterpenes	%
$\alpha$ -thujene	1.27	Terpinen-4-ol	0.42	$\delta$ -elemene	0.54	spatulenol	1.17
$\alpha$ -pinene	13.03	-	-	(E)-caryophyllene	1.30	caryophyllene oxide	0.69
5-methylnonane	0.23	-	-	elemene - $\delta$	0.44	-	-
3-methyl-Nonane	0.2	-	-	-humulene $\alpha$	0.21	-	-
sabinene	10.66	-	-	germacrene D	3.46	-	-
myrcene	2.03	-	-	bicyclo germacrene	0.92	-	-
$\alpha$ -phellandrene	1.63	-	-	-cadinene $\delta$	0.37	-	-
(+)- $\delta$ -2-carane	8.76	-	-	-	-	-	-
$\alpha$ -terpinene	0.70	-	-	-	-	-	-
p-cymene	1.54	-	-	-	-	-	-
limonene	5.60	-	-	-	-	-	-
z- $\beta$ -ocimene	3.22	-	-	-	-	-	-
E- $\beta$ -ocimene	0.42	-	-	-	-	-	-
$\gamma$ -terpinene	1.35	-	-	-	-	-	-
terpinolene	0.86	-	-	-	-	-	-
Total	51.5	Total	0.42	total	7.24	-	1.86
<b>Total Monoterpenes : %51.92</b>			<b>Total Sesquiterpenes: %9.1</b>				

#### ۴. مقایسه نتایج برخی از تحقیقات انجام شده

بررسیها بر روی اسانس گیاه *S. inflata* روئیده در شهرستان بهشدر در استان مازندران نشان داد جرمکران دی (۸/۹٪)، هگزادکانوئیک اسید (۹/۱٪)، آلفا-پینن (۵/۸٪) و بی سیکلو جرمکران (۵/۱٪) ترکیبات اصلی اسانس را تشکیل می دهند [۱۲]. جرمکران دی (۱۶/۹٪)، بی سیکلو جرمکران (۱۶/۶٪)، آلفا- پینن (۱۱/۳٪)، بتا- فلاندرن (۹/۸٪)، بی سیکلو المان (۶/۶٪) و بتا - پینن (۶/۵٪) ترکیبات اصلی اسانس *S. inflata* روئیده در کوههای صوفا واقع در استان اصفهان را تشکیل می دهند [۱۳].

آلفا-پینن (۱۵/۲٪)، دلتا-۳- کارن (۱۲/۳٪)، لیمونن (۱۱/۶٪)، بتا- پینن (۷/۲٪)، میرسن (۶/۵٪)، (Z)- بتا- اوسیمن (۵/۹٪)، جرمکران دی (۴/۲٪)، آلواسیمن (۴/۱٪) و لینالول (۳/۵٪) ترکیبات اصلی اسانس گیاه *S. inflata* روئیده در تهران را تشکیل میدهند [۱۴]. جرمکران دی (۳۲/۹٪)، بی سیکلو جرمکران (۷/۳٪)، میرسن (۲/۸٪) و آلفا - پینن (۲/۶٪) ترکیبات اصلی اسانس گیاه *S. inflata* روئیده در کوههای زاگرس واقع در استان لرستان را تشکیل می دهند [۱۵]. در جدول ۳ ترکیبات اصلی اسانس برخی گونه های دیگر جنس *Stachys* آورده شده است.

## ۵. نتیجه گیری

بررسی بر روی نتایج بدست آمده و مقایسه آن بر دیگر تحقیقات انجام شده بر روی گیاه *S. inflata* نشان می دهد ترکیباتی مانند جرمکران دی، بی سیکلو جرمکران، آلفا پینن و بتا- پینن در اسانس این گیاه در اقلیمهای متفاوت با ترکیب درصد های متفاوت وجود دارد. آلفا- پینن (۱۳/۰۳٪)، ساینین (۱۰/۶۶٪)، اکتان نرمال (۳۱/۹۱٪)، (+)- دلتا-۲-کارن (۸/۷۶٪)، لیمونن (۵/۶٪) و جرمکران دی (۳/۴۶٪) شاخصه اسانس این گیاه در رویش گاه شاهرود میباشد که نتیجه اقلیم شاهرود بر روی اسانس این گیاه می باشد.

جدول ۳. مقایسه ترکیبات موجود در روغن اسانسی چند نمونه از گیاهان جنس *Stachys*.

No.	Species	Sample origin	Main components	Ref.
1	<i>S. setifera</i>	Sepidan near Shiraz	pulegone (%26.5), piperitenone oxide (%17.4) and $\alpha$ -terpinyl acetate (%11.2)	16
۲	<i>S. recta L.</i>	Nizip-Gaziantep region of Anatolia (Turkey)	oct-1-en-3-ol (%33.8), linalool (%13.0) and $\beta$ -pinene (%7.5).	17
3	<i>S. lavandulifolia.</i>	Broujen (chaharhal v bakhtiari prov.)	$\alpha$ -thujene(%16.29), $\beta$ -phellandrene(%14.44), $\delta$ - cadinene(%11.61) and germacrene D (%4.2)	18
4	<i>S. lavandulifolia</i>	Naghan (chaharhal v bakhtiari prov.)	Myrcene(%15.87), $\alpha$ -thujene(%13.39), 1,4-methano-1 H-indene(%10.07), $\alpha$ -phellandrene(%7.26), germacrene D (%5.85) and $\alpha$ -amorphene(%5.57)	18
5	<i>S.aleurites</i>	Antalya (Turkey)	Bcaryophyllene (%33.7), bicyclogermacrene (%14.5) and germacrene D (%9.6).	19
6	<i>S. alopecuros</i>	mountain pastures (Italy)	(E)-caryophyllene(%33.2), Germacrene D(%7.65) and $\alpha$ -Humulene(%6.4)	20
7	<i>S.byzantina</i>	Khalkhal (Azarbayjan-Sharghi Prov.)	$\alpha$ -copaene (%16.6), spathulenol (%16.1), $\beta$ -caryophyllene (%14.3), $\beta$ -Cubebene(%12.6), $\alpha$ -Humulene(%8.4),Humulene epoxide (%6.8)	21
8	<i>S.lavandulifolia.</i>	Behshahr (Mazandaran prov.)	4-hydroxy-4-methyl-2-pentanone (%9.3), $\alpha$ -pinene (%7.9) and hexadecanoic acid (%5.2).	22
9	<i>S.persica</i>	Khalkhal, (Azarbayjan-Sharghi Prov.)	hexadecanoic acid (%27.2), carvacrol (%9.4) and eugenol (%5.2).	21
11	<i>S.acerosa</i>	Kashan area (Isfahan Prov)	cis-chrysanthenyl acetate(%33.4),1,8-cineole(%10.2), (%9.6) and limonene(%6.0) $\alpha$ -pinene(%10.1)	23
12	<i>S.balansae</i>	Arasbaran (Azarbayjan Prov.)	germacrene D (%16.4) $\alpha$ -pinene (%12.1), $\beta$ -pinene (%11.9), and Valeranone(%10.4)	24

## ۶. تقدیر و تشکر

از جناب آقای دکتر جوهر چی و بخش کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد که زحمت نامگذاری علمی این گیاه را متحمل شدند کمال تشکر را داریم.

## ۷. مراجع

- [1] K.H. Rechinger, I.C. Hedge, *Flora Iranica. Akademische Druck Verlagsanstalt*, Graz, Austria, (1982) 359.
- [2] V. Mozaffarian, *A Dictionary of Plant Names*, Farhang Moaser Publishers, Tehran, (1996) 522.
- [3] H. Norouzi-Arasi, I. Yavari, M. Alibabaeii, *Journal of Essential Oil Research*, 16(3) (2004) 231.
- [4] M. Rabbani, S.E. Sajjadi, H.R. Zarei, *J. Ethnopharm*, (89) (2003) 271.
- [5] F. Shafizadeh, *Medicinal Plants of Lorestan Province*, Hayian Publisher, Tehran, (2002).
- [6] N. Maleki, A. Garjani, H. Nazemiyah, N. Nilfouroushan, A.T. Eftekhari-Sadat, Z. Allameh and N. Hasannia, *J Ethnopharmacology*, 75 (2001) 213 .
- [7] H.D. Skaltsa, C. Demetzos, D. Lazari and M. Sokovic, *Phytochem*. 64 (2003) 743.
- [8] H.D. Skaltsa, D.M. Lazari, I.B. Chinou and A.E. Loukis, *Planta. Med.* 65 (1999) 255.
- [9] A.H. Ebrahimabadi, E.H. Ebrahimabadi, Z. Djafari-Bidgoli, F. Jookar Kashi, A. Mazoochi and H. Batooli, *Food Chemistry* 119 (2010) 452.
- [10] A. Ghasemi Pirbalouti and M. Mohammadi, *Asian Pac J Trop Biomed*, 3(2) (2013) 123.
- [11] R.P. Adams, *Identification of Essential Oil Components by Gas chromatography/ Quadropole Mass spectroscopy*, Allured publ., carolstream, LI, (2001).
- [12] K. Morteza-Semnani, M. Akbarzadeh and S. Changizi, *Flav. Frag. J.*, 21(2006) 300.
- [13] E. Ebrahim Sajjadi and M. Somaee, *Chem. Nat. Compd.*, 40 (2004) 378.
- [14] H. Norouzi-Arasi, I. Yavari, V. Kia-Rostami, R. Jabbari, M. Ghasvari-Jahromi, *Flav. Frag. J.*, 21(2) (2006) 262.
- [15] H. Meshkatalasadat, R.S. Sarabi, S. Moharramipour, N. Akbari and M. Pirae, *Asian J. Chem.*, 19 (2007) 485.
- [16] K. Javidnia, R. Miri, A. Azarpira, S.M.H. Tabaei, *Flavour Fragr. J.*, 18 (2003) 299.
- [17] A. CĖakir, M.E. Duru, M. Harmandar, S. Izumi and T. Hirata, *Flavour Fragr. J.*, 12 (1997) 215.
- [18] A. Ghasemi Pirbalouti and M. Mohammadi, *Asian Pac J Trop Biomed*, 3(2) (2013) 123.
- [19] G. Flamini, P. Luigi Cioni, L. Morelli, S. Celik, R.S. Gokturk and O. Unal, *Biochemical Systematics and Ecology*, 33 (2005) 61.
- [20] A. Venditti, A. Bianco, M. Nicoletti, L. Quassinti, M. Bramucci, G. Lupidi, S. Vittori, L. Maleci Bini, C. Giuliani and F. Maggi, *journal of essential oil bearing plant*, 3 (2013) 1.
- [21] M. Khanavi, A. Hadjiakhoondi, G. Amin, Y. Amanzadeh, A. Rustaiyan and A. Shafiee, *Z. Naturforsch. Sect. C J. Biosci.*, 59(7,8) (2004) 463.
- [22] K. Morteza-Semnani, M. Akbarzadeh and S. Changizi, *Flav. Frag. J.*, 21(2006) 300.
- [23] P. Salehi, A. Sonboli and B. Asghari, *Chem. Nat. Compd.*, 43 (2007) 339.
- [24] S. Rezazadeh, M.P. Hamedani, R. Dowlatabadi, D. Yazdani and A. Shafiee, *Flav. Frag. J.*, 21(2006) 290.