بررسی و مقایسه ترکیبات شیمیایی اسانس عصاره سه گونه از گیاه دارویی *Phlomis persica* Boiss. ، *Phlomis olivieri* Benth. و *Phlomis herba-venti* جمع‌آوری شده از شمال غرب ایران

زهرا نجاری[۱]، محمد فتاحی[*۲]

[۱]دانشجوی کارشناسی‌ارشد، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، تهران

[۲]دانشیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، تهران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۳/۱۹ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۷/۲۸

چکیده

گونه‌های مختلف گوش‌بره (*Phlomis* sp.) به‌دلیل داشتن ترکیبات ترپنوییدی و فلاونوئیدی ضدالتهاب و آنتی اکسیدان در اسانس حائز اهمیت می‌باشند. در این مطالعه اندامهای هوایی گلدار سه گونه از گوش‌بره *Phlomis olivieri* Benth.، *Phlomis persica* Boiss. و *Phlomis herba-venti* در خرداد ماه ۱۳۹۶ از رویشگاه‌های طبیعی واقع در آذرشهر (۱۶۷۱ متری)، ارومیه (۱۵۹۸ متر) و تویسرکان (۳۵۴ متری) جمع‌آوری گردید . ترکیبات اسانس و برخی خصوصیات فیتوشیمیایی عصاره ها مورد ارزیابی قرار گرفت. اسانس‌گیری به روش تقطیر با آب (طرح کلونجر) و آنالیز اسانس توسط دستگاه GC و GC-MS صورت پذیرفت. عصاره‌گیری با استفاده از دستگاه التراسونیک انجام و شاخص‌های فیتوشیمیایی براساس محتوای فنل کل (روش فولین سیکاتیو)، فلاونوئید کل (روش آلومینیوم کلراید) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی (DPPH[۱]) ارزیابی شدند. تعداد ۳۸ ترکیب در اسانس سه گونه گیاه شناسایی شد که ترکیبات اصلی گونه *Ph. olivieri* شامل دی‌اکتیل‌فتالات (۶۹/۷۱ درصد)، گاما-المن (۷/۹۳ درصد) و ژرماکرون-دی (۷/۴۴ درصد) بودند و دیگر ترکیبات: نپتالاکتون (۴۵/۲۴ درصد)، بیس (۲-اتیل هگزیل) فتالات (۳۲/۷۲ درصد) و ژرماکرون-دی (۵/۵۹ درصد) اجزای اصلی اسانس گونه *Ph. herba-venti*، معرفی شدند. همچنین در اسانس گونه *Ph. persica*، دی‌اکتیل‌فتالات (۴۹/۷۴ درصد)، آلفا-مورولن (۱۶/۱۸ درصد) و هگزاهیدروفارنسیل‌استون (۷/۸۲ درصد) عمده‌ترین ترکیبات را شامل شدند. مقایسه ترکیبات شناسایی شده در اسانس سه گونه نشان‌دهنده درصد بالاتر ترکیب دی‌اکتیل‌فتالات در *Ph. olivieri* (۶۹/۷۱ درصد)، نسبت به دو گونه دیگر بود. بالاترین میزان فنل کل (۱۳۶/۳۴ میلی‌گرم گالیک‌اسید بر گرم وزن خشک)، فلاونوئید کل (۴۹/۲۹ میلی‌گرم کوئرسیتین بر وزن خشک) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۴۸/۶۸ درصد) مربوط به گونه *Ph. Persica* بود.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان، اسانس، دی‌اکتیل‌فتالات، شمال غرب، فنل، فلاونوئید، گوش‌بره

1. 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)

[*]نویسنده مسئول: mo.fattahi@urmia.ac.ir

مقدمه

تیره نعنا از مهمترین گیاهان گلدار پیوسته گلبرگ و شامل ۱۶۰ جنس و متجاوز از ۳۰۰۰ گونه است که در نقاط مختلف کره زمین پراکنده‌اند (Omidbaigi, 2014)، ولی بیشترین انتشار آن‌ها در منطقه مدیترانه است (Rechinger, 1982). یکی از جنس‌های مهم این تیره، جنس گوش‌بره (*Phlomis* sp.) می‌باشد که دارای بیش از ۱۰۰ گونه بوده و به طور گسترده‌ای در آسیا و شمال آفریقا توزیع شده‌اند (Jabeen et al., 2013). ۱۹ گونه از این جنس دارویی، بومی ایران می‌باشند، بطوری که هر سه گونه مورد مطالعه در این پژوهش جزء گونه‌های انحصاری ایران محسوب می‌شوند (Jamzad, 2012). گونه *Phlomis olivieri* Benth. گیاهی چندساله، به ارتفاع ۴۰-۲۵ سانتی‌متر، پوشیده از کرک به‌صورت متراکم یا پنبه‌ای، به رنگ سبز متمایل به زرد یا سفید رنگ بوده و دارای پراکنش وسیع در نقاط مختلف کشور می‌باشد. *Phlomis herba-venti* گیاهی است چندساله، علفی، با ارتفاع ۷۰-۳۰ سانتیمتر، پوشیده از کرک، انتشار جغرافیایی: شمال، شمال شرقی و شمال غربی گونه *Phlomis persica* Boiss. گیاهی پایا، علفی، با ارتفاع ۴۰-۳۰ سانتیمتر، کرکدار و کمی متمایل به سفید، این گونه بیشتر در شمال، غرب و جنوب کشور رشد می‌کند (Rechinger,1982). گونه‌های مختلف این جنس از نظر دارویی و در طب سنتی بسیار حائز اهمیت هستند. از جمله برای درمان دیابت، زخم‌های گوارشی، هموروئید، درمان التهاب و زخم‌ها، در درمان سندروم تحریک‌پذیری روده، بواسیر، اسهال، درد، سرکوب کننده سیستم ایمنی و به‌عنوان مهارکننده رادیکال‌های آزاد به کار می‌روند (Yetisen, 2014). قطعات گل‌آذین آن‌ها عموماً به‌عنوان چای گیاهی برای درمان اختلالات گوارشی، محافظت از کبد، کلیه‌ها، استخوان‌ها و سیستم قلبی- عروقی استفاده می‌شود (Li et al., 2010). گونه‌های مختلف گوش‌بره از نظر داشتن اسانس اهمیت هستند (Amor et al., 2009). استخراج و جداسازی اجزای اسانس بسیاری از این گونه‌ها نشان داده است که سزکوئی‌ترپن‌ها (ژرماکرون-دی، بتا- کاریوفیلن) و مونوترپن‌ها (آلفا-پینن، بتا-سیلنن) ساختار اصلی اسانس را تشکیل می‌دهند (Bajalan et al., 2017; Sarkhail et al., 2006; Mohammadifar et al., 2015) که در تحقیقی مشابه از ترپنوییدهای آلفا-پینن، کاریوفیلن ، آلفا-کادویل و کاریوفیلن و همچنین ترکیبات فنلی و اسیدهای چرب: oleic acid, linoleic, pentadeaonic, elaidic, hexadecanoic به‌عنوان مهمترین ترکیبات موثره گونه های جنس فلومیس نام برده شده که بعنوان ضدالتهاب، ضدباکتری، آنتی اکسیدان و سیتوتوکسیک و ضدسرطان در درمان بیماریهای التهابی، پاتوژنیک و درمان سرطان ری و کولون معرفی شده است (Goger et al., 2021) تحقیقات نشان داده است که اجزای تشکیل‌دهنده اسانس گیاهان دارویی وابسته به شرایط ژنتیکی، آب و هوایی و جغرافیایی محل‌های جمع‌آوری متفاوت می‌باشد (Mockute et al., 2003). تأثیر این عوامل و نیز عوامل اقلیمی- اکولوژیکی دیگر روی مسیرهای بیوسنتزی ترپن‌ها و تولید متابولیت‌های مجزا در هر منطقه می‌تواند منجر به شناسایی کموتایپ‌های جدید شود (Baranska et al., 2005). ترکیبات فنلی نقش مهمی در فعالیت‌های بیولوژیکی گیاهان بازی می‌کنند و جزء مهمترین متابولیت‌های ثانویه گیاهان هستند. بعضی مدارک نشان می‌دهد بیشتر اعمال بیولوژیکی این ترکیبات در ارتباط بافعالیت آنتی‌اکسیدانی آن است (Eghdami et al., 2011). گزارشات حاکی از آن است که عصاره حاصل از گونه‌های مختلف جنس گوش‌بره دارای ترکیبات فنلی مختلفی از جمله ترکیبات فلاونوئیدی مانند: مشتقات کریزوئریول (فلاون)، لوتئولین

(فلاون)، تریسین (فلاون)، کورسیتین (فلاونول)، ایزورامنتین (فلاونول) و اریودیکتیول (فلاونون) هستند که به وفور در اجزای زایشی و رویشی این گیاهان ذخیره شده‌اند و باعث اهمیت این گیاهان از نظر دارویی می‌شوند (Aghakhany Kaji, 2016).

به دلیل اهمیت جنس گوش‌بره از نظر اسانس و ترکیبات فنلی بخصوص فلاونوئیدها، همچنین اهمیت این سه گونه در طب سنتی و کاربرد متعدد آن‌ها در درمان بیماری‌ها، و با توجه به بومی بودن هر سه گونه، مطالعه‌ی ساختار فیتوشیمیایی اسانس و عصاره حاصل از قسمت‌های هوایی به‌عنوان اندام دارویی می‌تواند در انحصار تجاری این گونه‌های بومی مؤثر واقع گردد. از همین رو مطالعه حاضر با هدف شناسایی ترکیبات اسانس و بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی در این سه گونه صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

معرفی مناطق پراکنش: بررسی و شناسایی پراکنش گونه‌ها و انتخاب مناطق مورد مطالعه بر اساس فلور ایرانیکا و سایر گزارشات ارائه شده در این زمینه و بازدید از مناطق مورد نظر در فصل بهار ۱۳۹۶ انجام شد. مشخصات مناطق مورد مطالعه در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱: مناطق جمع آوری گونه‌های مختلف گوش بره (*Phlomis* sp.)

گونه	محل جمع‌آوری	ارتفاع (متر)	طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی
Phlomis herba-venti	آذربایجان غربی/ ارومیه	۱۵۹۸	۴۵° ۱′ ۱۹.۶۶"	۳۷° ۲۹′ ۱۸.۵۸"
Phlomis olivieri Benth.	آذربایجان شرقی/ آذرشهر	۱۶۷۱	۴۶° ۴′ ۰.۷۸"	۳۷° ۴۳′ ۲۵.۴۳"
Phlomis persica Boiss.	همدان/ توسرکان	۳۵۴	۴۸° ۲۷′ ۵۸.۳۴"	۳۴° ۳۱′ ۱۹.۴۳"

جمع‌آوری نمونه‌های گیاهی: در این مرحله قسمت‌های هوایی سه گونه از گوش‌بره شامل: *Phlomis persica* Boiss.، *Phlomis olivieri* Benth. و *Phlomis herba-venti* در مرحله گلدهی کامل به ترتیب از آذربایجان شرقی/ آذرشهر واقع در ارتفاع ۱۶۷۱ متری، آذربایجان غربی/ ارومیه (کوه سیر داغی) واقع در ارتفاع ۱۵۹۸ و همدان/ توسرکان (دره شش‌دانگ) از ارتفاع ۳۵۴ متری، در بهار ۱۳۹۶ جمع‌آوری و جهت شناسایی به گروه علوم باغبانی دانشگاه ارومیه منتقل شدند. سرشاخه‌های گلدار نمونه‌ها برای انجام مطالعات فیتوشیمیایی در ماه‌های اردیبهشت و خرداد سال ۱۳۹۶ پس از جمع‌آوری از مناطق مذکور بلافاصله در دمای معمولی و سایه خشک شدند.

اسانس‌گیری: به منظور استخراج و تعیین درصد و ترکیبات اسانس، سه گونه گوش بره پس از جمع‌آوری و خشک شدن در شرایط مناسب برای ادامه آزمایشات به‌طور کامل پودر گردیدند. استخراج اسانس به روش تقطیر با آب و با استفاده از دستگاه کلونجر به مدت ۳ ساعت (Srinivasan et al., 2009) انجام گرفت. اسانس حاصل توسط سولفات سدیم آب‌گیری و تا زمان آنالیز در ظرف شیشه‌ای سر بسته، درون فریزر (دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد) نگهداری شد.

جداسازی و شناسایی ترکیبات تشکیل‌دهنده: برای شناسایی ترکیبات اسانس از دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC) ساخت شرکت Agilent مدل 7890 A مجهز به دتکتور F.I.D (یونیزاسیون توسط شعله

هیدروژن) و کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC-MS) از نوع TRACE GC 2000; TRACE MS plus با سیستم مجهز به ستون موئینه HP-5MS (به طول ۳۰ متر، قطر ۰/۲۵۰ میلیمتر و ضخامت لایه داخلی ۰/۲۵ میکرون) استفاده شد. برنامه دمایی ستون در هر دو دستگاه به این صورت تنظیم گردید که ابتدا درجه حرارت آون به مدت ۲ دقیقه در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد ثابت شد. سپس به دمای ۱۵۰ درجه سانتی‌گراد با گرادیان حرارتی ۴ درجه سانتی‌گراد در هر دقیقه افزایش و به مدت ۲ دقیقه در این دما نگهداری شد و در نهایت افزایش دما تا ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۵ درجه سانتی‌گراد در هر دقیقه و ۵ دقیقه توقف در این دما صورت گرفت. از گاز هلیوم به‌عنوان گاز حامل با سرعت جریان ۱ میلی‌لیتر در دقیقه و انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت استفاده شد.

عصاره‌گیری: سرشاخه‌های گلدار نمونه‌ها پودر شده و عصاره‌گیری متانولی آن‌ها با استفاده از دستگاه التراسونیک انجام گرفت. یک گرم از هر نمونه داخل فالکون‌های ۵۰ میلی لیتری قرار داده شده و پس از اضافه کردن ۲۰ میلی لیتر متانول ۷۰ درصد عصاره‌گیری به مدت نیم ساعت و در دمای ۳۰ درجه اولتراسونیک و قدرت ۱۲۰ هرتز انجام گرفت (Li et al., 2005).

اندازه‌گیری میزان فنل کل: اندازه‌گیری مواد فنلی با استفاده از معرف فولین سیوکالتیو[1] صورت گرفت. به مقدار مشخصی از هر عصاره ۱۸۰ میکرولیتر آب دی‌یونیزه اضافه شد. در مرحله بعد ۱۲۰۰ میکرولیتر فولین به مخلوط افزوده و بعد از ۵ دقیقه به آن کربنات سدیم ۷/۵ درصد اضافه شد. پس از آن نمونه‌ها به مدت ۴۵-۳۰ دقیقه در تاریکی و در دمای اتاق قرار داده شدند. در نهایت جذب در طول موج ۷۶۰ نانومتر به وسیله اسپکتوفتومتر (MODEL: UV2100 PC) قرائت شد. آب دی‌یونیزه به‌عنوان شاهد و گالیک‌اسید به‌عنوان استاندارد مورد استفاده قرار گرفت. منحنی استاندارد بر اساس گالیک‌اسید، ترسیم و نتایج به صورت میلی‌گرم اکی والان گالیک‌اسید بر وزن خشک گیاه گزارش شد (Ebrahimzadeh et al., 2008).

اندازه‌گیری میزان فلاونوئید کل: برای سنجش میزان فلاونوئید کل به مقدار مشخصی از هر عصاره، ۱۵۰ میکرولیتر نیتریت سدیم، ۳۰۰ میکرولیتر محلول آلومینیوم کلرید ۱۰ درصد، ۱۰۰۰ میکرولیتر محلول استات سود ۱ مولار اضافه و بعد با آب مقطر به حجم ۵ میلی لیتر رسانده شد. جذب مخلوط در طول موج ۳۸۰ نانومتر نسبت به شاهد قرائت گردید. برای رسم منحنی استاندارد از کوئرستین استفاده شد. میزان فلاونوئید کل عصاره‌ها بر اساس میلی‌گرم معادل کوئرستین بر گرم وزن خشک گیاه گزارش شد (Chang et al., 2002).

اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH: برای اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH، مقدار مشخصی از عصاره متانولی نمونه را در یک لوله آزمایشی ریخته و به آن ۲۰۰۰ میکرولیتر از محلول DPPH (از قبل آماده شده) اضافه شد. محلول حاصل را تکان داده، در دمای آزمایشگاه به مدت ۳۰ دقیقه نگهداری و جذب در ۵۱۷ نانومتر در اسپکتوفتومتر قرائت شد (Nakajima et al., 2004).

$$RSA = \frac{(Abs\ control)t = 30min - (Abs\ sample)t = 30min}{(Abs\ control)t = 30min} \times 100$$

Abs blank: میزان جذب بلانک

Abs sample: میزان جذب نمونه

1. Folin-Ciocalteu

تجزیه و تحلیل آماری

کلیه داده‌های حاصل از بررسی شاخص‌های فیتوشیمیایی، با سه تکرار و بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از نرم‌افزار SAS آنالیز شدند. مقایسه میانگین داده‌ها بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام گرفت.

نتایج

در مطالعه حاضر عملکرد اسانس سه گونه، *Ph. olivieri*، *Ph. herba-venti* و *Ph. persica* به‌ترتیب ۰/۶۶، ۰/۵۰ و ۰/۳۳ درصد (V/W) بدست آمد. مهمترین ترکیبات شناسایی شده در اسانس گونه *Ph. herba-venti* عبارت‌اند از: نپتالاکتون با ۴۵/۲۴ درصد، بیس (۲-اتیل هگزیل) فتالات ۳۲/۷۲ درصد و ژرماکرون-دی با ۵/۵۹ درصد (شکل ۱، جدول ۲). همچنین دی‌اکتیل‌فتالات ۶۹/۷۱ درصد، گاما-المن با ۷/۹۳ درصد و ژرماکرون-دی با ۷/۴۴ درصد مهمترین اجزای اسانس را در گونه *Ph. olivieri* تشکیل دادند (شکل ۲، جدول ۲). نتایج حاصل از تجزیه اسانس در *Ph. persica* نشان می‌دهد که دی‌اکتیل‌فتالات با ۴۹/۷۴ درصد، آلفا-مورولن با ۱۶/۱۸ درصد و هگزا هیدرو فارنسیل استون با ۷/۸۲ درصد عمده‌ترین ترکیبات در این گونه هستند (شکل ۳، جدول ۲). مجموع ترکیبات شناسایی شده در سه گونه ۸۷/۰۹، ۹۸/۶۱ و ۹۲/۶۷ درصد از کل اسانس را به ترتیب در *Ph. olivieri*، *Ph. herba-venti* و *Ph. Persica* به خود اختصاص می‌دهند. مهمترین نکته در میان ترکیبات شناسایی شده وجود ترکیبات فتالات است. حضور ترکیبات فتالات در اسانس گونه‌های مورد مطالعه منجر به شناسایی کموتایپ جدیدی در این جنس شده است. بعد از ترکیبات فتالات در اسانس گونه‌های مورد مطالعه سزکوئی‌ترپن‌ها و مونوترپن‌ها از جمله آلفا-مورولن، جرماکرن-دی و نپتالاکتون ترکیبات عمده اسانس را تشکیل می‌دهند، که نتیجه بدست آمده مطابق با مطالعات سایر محققان بر روی جنس گوش‌برہ می‌باشد. ترکیبات عمده اسانس در *Ph. olivieri*، ژرماکرون-دی (۵۶/۴۱-۲۶/۵۴ درصد)، بیو سیکلوژرماکرون (۳۰/۵۵-۶/۳۸ درصد)، بتا-کاریوفیلن (۲۴/۵۲-۵/۳۲ درصد) و آلفا-پینن (۱۵/۵۳-۱/۲۹ درصد) گزارش شد (Bajalan et al., 2017). همچنین بر اساس مطالعات بتا-کاریوفیلن (۲۵/۷ درصد)، ژرماکرون-دی (۱۹/۵ درصد) و بتا-فارنیسن (۱۵/۴ درصد) اجزای اصلی اسانس را در گونه *Ph. persica* تشکیل می‌دهند (Mohammadifar et al., 2015). مهمترین ترکیبات تشکیل دهنده اسانس در گونه *Ph. herba-venti*، هگزادکانوئیک اسید (۳۳/۱ درصد)، ۶،۱۰،۱۴-تری متیل پنتا دکان-۲-اُن (۱۶/۲ درصد) و ژرماکرون-دی (۶/۷ درصد) می باشد (Morteza- Semnani et al., 2004). نتایج تجزیه واریانس نشان داد که میزان فنل کل گونه‌های مختلف گوش‌بره در سطح احتمال ۰/۰۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که میزان فنل کل، گونه‌های مختلف گوش‌بره از ۱۳۶/۳۴ تا ۴۰/۱۲ (mg/g DW) متغیر می‌باشد (جدول ۴). بیشترین میزان فنل کل در سرشاخه‌های گلدار *Ph. persica* (نمونه همدان) با ۱۳۶/۳۴ و کمترین آن در سرشاخه‌های گلدار *Ph. olivieri* (آذربایجان شرقی/ آذرشهر) با (mg/g DW ۴۰/۱۲) بود (شکل۴). نتایج تجزیه واریانس نشان داد که میزان فلاونوئید کل گونه‌های مختلف گوش‌بره در سطح احتمال ۰/۰۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که میزان فلاونوئید کل گونه‌های مختلف گوش‌بره از ۴۹/۲۹ تا ۲۲/۲۲ (mg/g DW) متغیر می‌باشد (جدول ۴). بیشترین میزان فلاونوئید کل در *Ph. persica* (نمونه همدان) با ۴۹/۲۹ و کمترین آن در *Ph. olivieri* (آذربایجان شرقی/ آذرشهر) با ۲۲/۲۲ (mg/g DW) می‌باشد (شکل ۵).

جدول ۲: مقایسه کمیت و کیفیت اجزای اسانس سه گونه مختلف از گوش بره (*Phlomis* sp.)

ردیف	نام ترکیب	*Phlomis olivieri* Benth.	*Phlomis herba-venti*	*Phlomis persica* Boiss.
۱	*n*-Octane	۰/۲۱	۳/۳۶	-
۲	α-Pinene	-	۰/۶	-
۳	*n*-Decane	۰/۲۲	۰/۷۴	-
۴	*n*-Dodecane	۰/۱۸	۰/۵۶	-
۵	Isooctyl acrylate	۱/۱۹	۲/۶۵	۲/۷۵
۶	α-Cubebene	-	۰/۶	-
۷	α-Copaene	۰/۱۷	-	۱/۱۵
۸	γ-Muurolene	-	۰/۶	-
۹	β-bourbonene	۰/۲۹	۱/۰۹	۱/۴۴
۱۰	β-Elemene	۰/۴۶	۰/۳۶	-
۱۱	Docosane	-	-	-
۱۲	Nepetalactone	-	۴۵/۲۴	۱/۶۹
۱۳	IsoCaryophyllene	۱/۹۱	۰/۴۵	-
۱۴	γ-Elemene	۷/۹۳	-	-
۱۵	α-Caryophyllene	۰/۳۵	-	-
۱۶	α -Farnesene	–	۳/۰۵	–
۱۷	Isoledene	-	۰/۲۹	-
۱۸	Germacrene D	۷/۴۴	۵/۵۹	۱/۲۵
۱۹	Aromadendrene	-	-	-
۲۰	γ-Cadinene	-	۰/۴	-
۲۱	β-Cadinene	۰/۳۶	۱/۲۳	-
۲۲	α-Muurolene	۲/۶۴	۰/۲۵	۱۶/۱۸
۲۳	Caryophyllene oxide	-	-	۱/۰۱
۲۴	Aristolene epoxide	-	۰/۲۸	-
۲۵	Spathulenol	۲/۲۹	۰/۵۴	-
۲۶	Isoaromadendrene epoxide	-	-	۰/۸۸
۲۷	Viridiflorol	۰/۷۲	-	-
۲۸	*T*-cadinol	-	-	۱/۲۵
۲۹	*T*-muurolol	۰/۲۵	-	۱/۶۴
۳۰	α-cadinol	۰/۴۱	-	-
۳۱	Dotriacontane	۰/۱۳	-	۰/۷۱
۳۲	Hexahydrofarnesyl aceton	۱/۰۸	۰/۷۵	۷/۸۲
۳۳	Bis (2-ethylhexyl) phthalate	-	۳۲/۷۲	-
۳۴	Phytol	۰/۶۷	-	-
۳۵	Pentacosane	-	-	۱/۳۸
۳۶	Diisooctyl phthalate	۶۹/۷۱	-	۴۹/۷۴
۳۷	Nonacosane	۰/۶۳	۰/۳۱	۱/۹۱
۳۸	Hentriacontane	۰/۴۱	-	۱/۸۷
	مجموع درصد ترکیبات	۸۷/۰۹	۹۸/۶۱	۹۲/۶۷
	عملکرد اسانس (%V/W)	۰/۶۶	۰/۵۰	۰/۳۳

فعالیت آنتی‌اکسیدانی در این تحقیق با روش DPPH مورد ارزیابی قرار گرفت، نتایج تجزیه واریانس نشان داد که فعالیت آنتی‌اکسیدانی در گونه‌های مختلف گوش‌بره همانند سایر ترکیبات فیتوشیمیایی، در سطح احتمال ۰/۰۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که در روش DPPH میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی گونه‌های مختلف از ۴۸/۶۸ تا ۳۷/۲۸ درصد متغیر بود (جدول ۴). بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی در بین سه گونه مربوط به *Ph. persica* (همدان) با ۴۹/۲۹ درصد و کمترین میزان آن در *Ph. olivieri* (آذربایجان شرقی/ آذرشهر) با ۲۲/۲۸ درصد می‌باشد (شکل ۶).

جدول ۳: تجزیه واریانس خصوصیات فیتوشیمیایی و آنتی اکسیدانی گونه های گوش بره (*Phlomis* sp) در مناطق مختلف

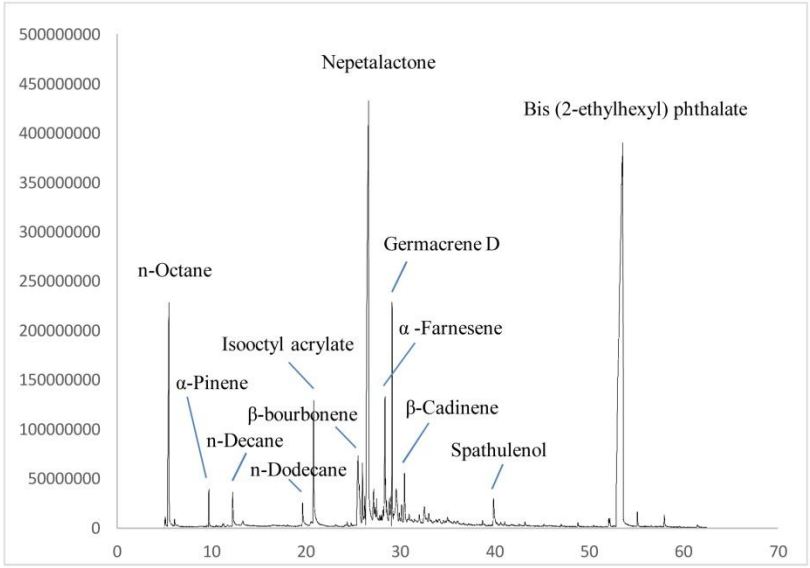
منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات		
		فنل کل	فلاونوئید کل	فعالیت آنتی اکسیدانی (DPPH)
گونه	۲	۴۰۹۷/۸*	۶۳۳/۲۰*	۹۷/۴۴*
اشتباه	۶	۲۲/۵۸	۴/۱۲	۵/۸۴
کل	۸			
CV%		۵/۸۸	۶/۲۰	۵/۶۱

*معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد

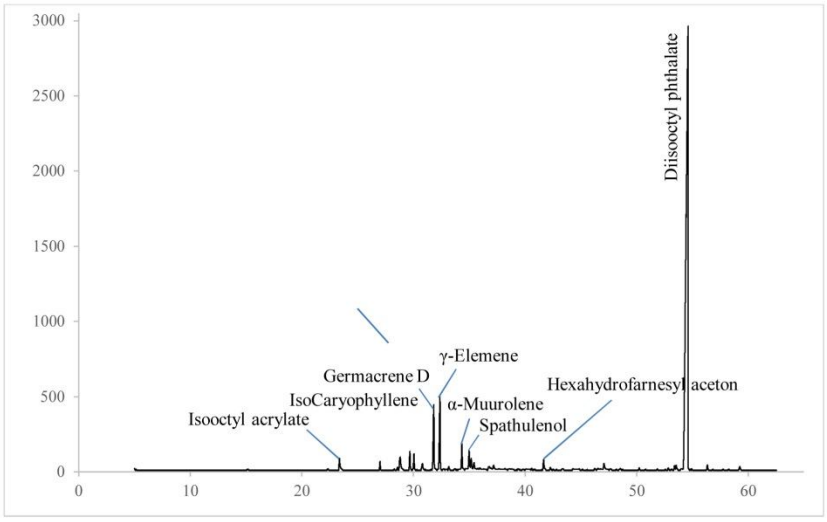
جدول ٤: میزان ترکیبات فیتوشیمیایی و فعالیت آنتی اکسیدانی گونه های مختلف گوش بره (*Phlomis* sp.)

گونه	محل جمع آوری	فنل کل	فلاونوئید کل	فعالیت آنتی اکسیدانی (DPPH)
Ph. herba-venti	آذربایجان غربی/ ارومیه	۶۵/۷۵	۲۶/۶۲	۴۵/۱۲
Ph. olivieri Benth.	آذربایجان شرقی/آذرشهر	۴۰/۱۲	۲۲/۲۲	۳۷/۲۸
Ph. persica Boiss.	همدان/ توسرکان	۱۳۶/۳۴	۴۹/۲۹	۴۸/۶۸

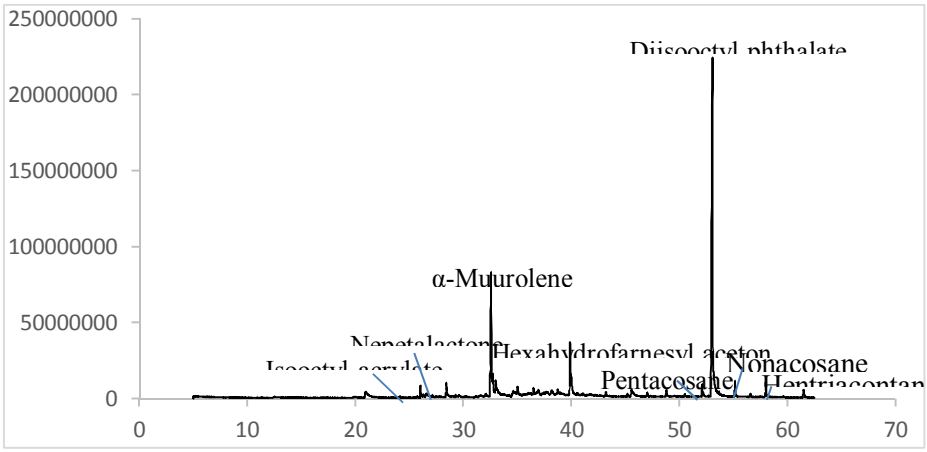
فنل کل (mg GAE/g DW)، فلاونوئید کل (mg/g DW)، فعالیت آنتی اکسیدانی (DPPH%)



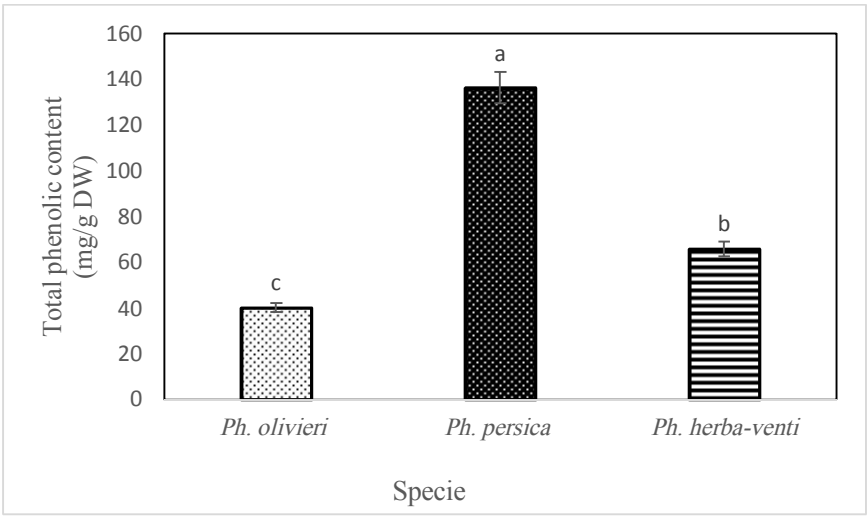
شکل ۱: کروماتوگرام اسانس گونه *Phlomis herba-venti*



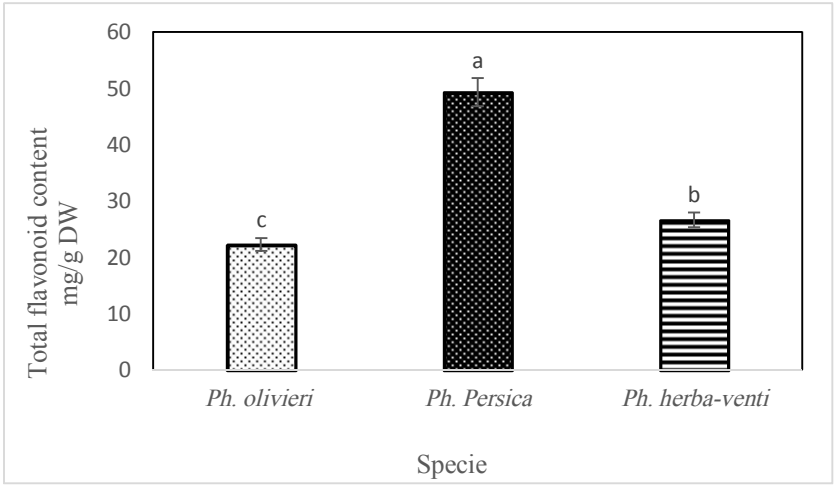
شکل ۲: کروماتوگرام اسانس گونه *Phlomis olivieri* Benth.



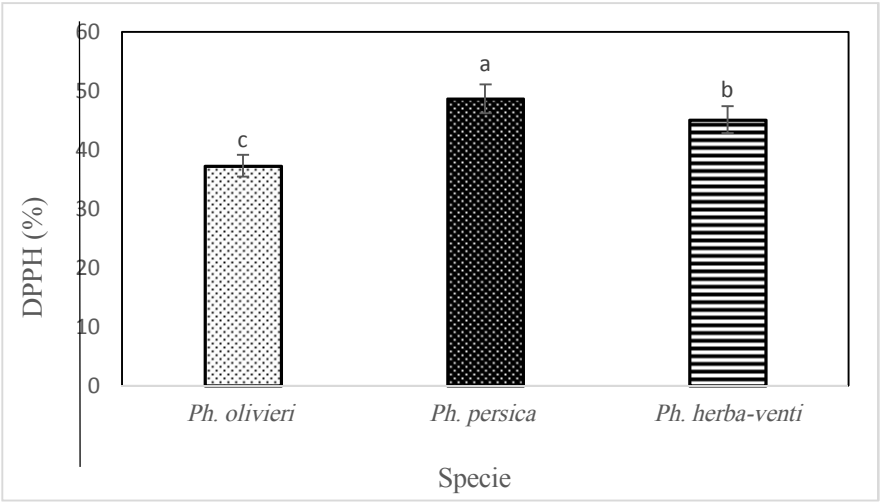
شکل ۳: کروماتوگرام اسان گونه *Phlomis persica* Boiss.



شکل ٤: مقایسه میانگین محتوای فنل کل در سه گونه از گوش‌بره



شکل ۵: مقایسه میانگین محتوای فلاونوئید کل در سه گونه از گوش‌بره



شکل ٦: مقایسه میانگین عملکرد آنتی اکسیدانی به روش DPPH در سه گونه از گوش‌بره

بحث

تحقیق در مورد شناسایی ترکیبات موجود در اسانس قسمت‌های هوایی سه گونه مورد مطالعه و مقایسه آن با سایر تحقیقات انجام شده در این گونه‌ها، همچنین با سایر گونه‌های جنس (*Phlomis* sp.) بیانگر وجود تفاوت‌هایی بین نوع ترکیبات اصلی و مقدار آن‌ها می‌باشد (Nikan et al., 2017; Bajalan et al., 2017; Amor et al., 2009). در طی پژوهش روی بخش هوایی *Phlomis olivieri*، بتا- کاریوفیلن (۲۵/۷ درصد) و ژرماکرون- دی (۱۹/۵ درصد) به‌عنوان ترکیبات عمده اسانس معرفی شدند (Mohammadifar et al., 2015). همچنین بر اساس مطالعات، بتا-کاریوفیلن (۱۰/۸ درصد)، ژرماکرون- دی (۱۵/۶ درصد) و آلفا- پینن (۷/۸ درصد) اجزای اصلی اسانس را در گونه *Phlomis sieheana* تشکیل دادند (Ozdemir et al., 2017) مهمترین ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس در گونه *Phlomis lurestanica* آلفا- پینن (۱۲/۴۰ درصد)، گاما- کادینن (۱۰/۹۲ درصد) و گاما- المن (۶/۷۴۶ درصد) گزارش شد Hemmati Hassan Gavyar (Amiri, 2018) که در

تحقیقی مشابه از ترپنوییدهای آلفا-پینن، کاریوفیلن، آلفا -کادویل و کاریوفیلن، بتا- اسیمن و همچنین ترکیبات فنلی (رزمارینیک اسید و لوتیولین) و اسیدهای چرب: oleic acid, linoleic, pentadeaonic, elaidic , hexadecanoic به‌عنوان مهمترین ترکیبات موثره گونه های جنس فلومیس نام برده شده که بعنوان ضد التهاب، ضد باکتری ، آنتی اکسیدان و سیتوتوکسیک و ضد سرطان در درمان بیماری‌های التهابی ، پاتوژنیک و درمان سرطان ری و کولون معرفی شده است (Mohammadifar et al., 2015؛ Goger et al., 2021; Heidari et al., 2021).

متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی اگرچه اساساً با هدایت فرآیندهای ژنتیکی ساخته می‌شوند، ولی ساخت آن‌ها به‌طور بارزی تحت‌تأثیر عوامل محیطی قرار می‌گیرد (Omidbaigi, 2014). از همین رو تفاوت در ترکیب شیمیایی اسانس گونه‌های مختلف جنس گوش‌بره ممکن است با عوامل مختلف آب و هوایی ارتباط داشته باشد یا در نتیجه تفاوت‌های ژنتیکی، ناشی از گرده‌افشانی باشد (Amor et al., 2009). تفاوت در اجزای اسانس گونه‌های مورد مطالعه علاوه‌بر تفاوت‌های ژنتیکی و محیطی موجود در بین گونه‌ها احتمالاً به‌دلیل تفاوت در مسیرهای بیوسنتزی این ترکیبات می‌باشد که منجر به تولید متابولیت‌های متفاوتی در آن‌ها شده است. تجزیه اسانس سه گونه توسط دستگاه GC و GC-MS منجر به شناسایی ترکیبات فتالات به‌عنوان اجزای اصلی اسانس در گونه‌های مورد مطالعه شد. فتالات‌ها که دی استرهای اسید فتالیک نیز نامیده می‌شوند، کاربردهای وسیعی در صنایع مختلف دارند. فتالات‌هایی با وزن مولکولی بالا عمدتاً به‌عنوان نرم کننده، برای نرم کردن محصولات پلی وینیل کلراید (PVC) استفاده می‌شود، در حالی که فتالات‌هایی با وزن مولکولی پایین به‌طور گسترده‌ای به‌عنوان حلال برای حفظ رنگ و عطر در محصولات آرایشی و بهداشتی به کار می‌روند (Cao et al., 2010). گزارشات زیادی مبنی‌بر خواص ضد التهابی (Mavar-Manga et al., 2008)، ضد میکروبی (Singh et al., 2015) و فعالیت حشره‌کشی (Ogunlesi et al., 2009) این ترکیبات وجود دارد. حضور فتالات‌ها در مطالعات مختلفی که بر روی اسانس‌های گیاهی، صورت گرفته، بخصوص در خانواده نعناع تایید شده است (Srinivasan et al., 2009; Uzakbay et al., 2017). به‌طوری که وجود این ترکیبات به میزان زیاد و به‌عنوان جزء اصلی اسانس در گیاه *Otostegia persica* Boiss. گزارش شده است (Asgarpanah et al., 2013). علاوه‌بر این وجود دی‌اکتیل‌فتالات در *Phlomis elliptica* Benth. گزارش شده است (Akramian et al., 2010). به نظر می‌رسد که شناسایی ترکیبات فتالات در مطالعه حاضر به خاطر شرایط حاکم بر فرآیند اسانس‌گیری بوده است. از آنجائیکه فتالات‌ها جزء ترکیبات سنگین محسوب می‌شوند (Cao et al., 2010)، بنابراین اعمال دما بالا و زمان طولانی (Okoye et al., 2014; Zellagui et al., 2012) در فرآیند اسانس‌گیری منجر به جداسازی این ترکیبات و انباشت آن به میزان زیاد، در ترکیب اسانس هر سه گونه شده است. بر اساس یافته‌های ما جنس گوش‌بره *Phlomis* sp. یک منبع طبیعی از فتالات‌ها است، که از این ویژگی می‌توان در تولید حشره کش‌های بیولوژیک استفاده کرد. از سوی دیگر محققین ماهیت قوی این متابولیت زیست فعال را علیه باکتری‌ها و قارچ‌ها گزارش کردند (Roy et al., 2006)، که ممکن است جنس *phlomis* sp. را به‌عنوان یک کاندیدا برای حفظ مواد غذایی و جلوگیری از فساد آن مطرح نماید. رامان و همکاران (Raman et al., 2012) در طی مطالعه‌ای گزارش کردند که فتالات‌ها دارای فعالیت‌های ضد قارچی و

ضد باکتریایی در برابر بیمارگرهای مختلف می‌باشند. امروزه مصرف آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی علی‌رغم کارایی بالا و ارزانی نسبی که دارند، به‌دلیل سمیت و سرطان‌زایی آن‌ها رو به کاهش گذاشته است، از این رو در سال‌های اخیر تحقیقات بر روی دستیابی به آنتی‌اکسیدان‌های سالم‌تر از منابع طبیعی متمرکز شده است. ترکیبات فنلی نقش بسیار مهمی را در ایجاد خواص آنتی‌اکسیدانی بر عهده دارند و طبق مطالعات رابطه‌ی مستقیمی بین محتوای فنل و فلاونوئید کل در عصاره با فعالیت آنتی‌اکسیدانی وجود دارد (Khanavi et al., 2009). نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که گونه‌های مختلف گوش‌بره منابع غنی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی بوده و می‌توانند در صنایع غذایی و دارویی مورد استفاده قرار گیرند، که این نتیجه مشابه گزارش سایر محققین می‌باشد (Sarikurkcu et al., 2014; Saeidnia et al., 2015; Abdelhady and Badr, 2016; Ko et al., 2017). میزان فلاونوئیدها در گونه‌های مختلف گیاهی با توجه به مرحله رشد، بافت، واریته، تنش‌های محیطی مانند: اشعه ماوراء بنفش، خشکی، شرایط خاک، آفات و بیماری‌ها و... مرتبط می‌باشد (Kalinova and Verchotova, 2011). با توجه به مقایسه خصوصیات فیتوشیمیایی عصاره حاصل از سرشاخه‌های هوایی سه گونه گوش‌بره ملاحضه شد که فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۴۸/۶۸٪)، فنل کل (۱۳۶/۳۴ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم وزن خشک) و فلاونوئید کل (۴۹/۲۹ میلی‌گرم کوئرسیتین بر وزن خشک) به‌طور بارزی در گونه *Ph. persica* نسبت به دو گونه دیگر بالاتر است که می‌تواند در برنامه‌های اصلاحی و اهلی‌سازی مورد توجه قرار گیرد. نتایج ما نشان می‌دهد که محتوای فنل کل، فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی با شرایط محیطی و اقلیمی به ویژه ارتفاع محل رویشگاه در ارتباط است. به‌طوری که میزان فنل کل به طور معنی‌داری تحت‌تأثیر مکان جمع‌آوری قرار دارد. از مهمترین عوامل اکولوژیکی مؤثر بر ترکیبات شیمیایی ثانویه گیاهان می‌توان به دما، نور، طول روز، بارندگی، تبخیر و تعرق ، همچنین ارتفاع از سطح دریا، درصد شیب و جهت آن، عرض جغرافیایی، پوشش اراضی و نزدیکی به منابع آبی اشاره کرد که به‌طور مستقیم یا غیر مستقیم به واسطه تأثیر بر سایر عوامل بوم شناسی بر سنتز ترکیبات ثانویه مؤثر هستند (Ghasemi Pirbalouti et al., 2008). مطالعات انجام گرفته در همین راستا نشان می‌دهد که فاکتورهای محیطی ذکر شده می‌توانند متابولیسم فنیل پروپانوئید را تحت تأثیر قرار دهند (Akerstrom et al., 2010). در تحلیل این قسمت، یافته‌های این بررسی مورد بحث است، که نشان داد در عصاره سرشاخه‌های هوایی گونه *Ph. persica* با تغییر نوع رویشگاه و احتمالاً بروز استرس، منجر به سنتز بیشتر متابولیت‌های ثانوی، در نتیجه افزایش عملکرد آنتی‌اکسیدانی شده است. با توجه به جمع‌آوری این گونه از دره شش دانگ واقع در منطقه توسرکان همدان می‌توان این گونه استنباط کرد که احتمالاً به خاطر وجود برخی تفاوت‌های اقلیمی، بوم شناختی و آب و هوایی و اثرات ناشی از آن، منجر به بالا رفتن فعالیت آنتی‌اکسیدانی در این گونه شده است که مطابق با یافته دیگر محققین روی گیاهان دارویی می‌باشد. دما، مسیر بیوسنتز ترکیبات فنلی را هم در دمای بالا و هم در دمای پایین تنظیم می‌کند. کاهش این ترکیبات تحت دمای بالا می‌تواند هم به علت کاهش و هم ممانعت از رونویسی mRNA باشد (Jaakola et al., 2010). افزایش بیوسنتز فلاونوئیدها تحت تأثیر فاکتورهای محیطی مختلف و شرایط تنش‌زا نوعی سازش با شرایط نامساعد محیطی می‌باشد (Fini et al., 2011). یکی از دلایل افزایش بیوسنتز این متابولیت‌های ثانویه در شرایط تنش‌زا

احتمالاً افزایش مقادیر آمینواسید فنیل‌آلانین و همچنین افزایش فعالیت آنزیم PAL می‌باشد (El-Beltagi et al., 2011). در کل می‌توان نتیجه گرفت که استرس‌های اکولوژیکی با میزان مواد مؤثره و از همه مهمتر ارتقای توان مهار رادیکال‌های آزاد و فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی در ارتباط است. در همین راستا تنوع مشاهده شده در ساختار فیتوشیمیایی گونه‌های مورد مطالعه می‌تواند ناشی از تفاوت‌های اقلیمی و جغرافیایی مکان‌های رویش و ژنتیکی باشد.

نتیجه‌گیری نهایی

از دیرباز گیاهان دارویی و فرآورده‌های طبیعی استخراج شده از آن‌ها نقش کلیدی در پیشگیری و درمان بیماری‌های بشر داشته است. به‌طور کلی فعالیت‌های بیولوژیکی اسانس مربوط به ترکیب، ماهیت ساختار شیمیایی و نسبت آن‌ها است. نتایج نشان می‌دهد که ترکیبات فتالات، مونوترپن‌ها و سزکوئی‌ترپن‌ها به‌عنوان ترکیبات شاخص اسانس در گونه‌های مورد مطالعه مطرح هستند. لذا می‌توان از تفاوت‌های موجود در ترکیبات فعال و اثرات فیزیولوژیکی حاصل از آن‌ها در پروژه‌های اصلاحی و اهلی‌سازی، همچنین صنایع مختلف بهره برد. همچنین گونه‌های مختلف گوش‌بره دارای میزان بالایی از ترکیبات فنلی بوده و فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی را نشان می‌دهند و می‌توانند به‌عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی در صنایع غذایی و دارویی مورد استفاده قرار بگیرند. در بین گونه‌های مورد مطالعه گونه *Phlomis persica* از این نظر شاخص می‌باشد که می‌تواند در برنامه‌های اصلاحی و اهلی‌سازی مورد توجه قرار گیرد. بنابراین نظر به اهمیت فعالیت ضد التهابی، ضد میکروبی و ضد قارچی ترکیبات فتالات موجود در اسانس و خواص آنتی‌اکسیدانی قابل توجه عصاره‌ی گونه‌های مورد مطالعه، بخش‌های هوایی این گونه‌ها دارای پتانسیل خوبی جهت استفاده در صنایع مختلف را دارا بوده و برای استفاده عملی از پتانسیل‌های مذکور در زمینه‌های مختلف، نیاز به تحقیقات بیشتری در زمینه ارزیابی ترکیبات اسانس و قدرت آنتی‌اکسیدانی در مدل‌های غذایی و دارویی انجام وجود دارد.

References

1. Abdelhady, N.M. and Badr, K.A. 2016. Comparative study of phenolic content, antioxidant potentials and cytotoxic activity of the crude and green synthesized silver nanoparticles extracts of two *Phlomis* species growing in Egypt. Journal Pharmacognosy Phytochem, 5: 377.
2. Aghakhany Kaji, F. 2016. Biosystemati study of *phlomis* L. (Lamiaceae) in Iran using morphology and flavonoid markers. fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science in plant systematic entitled, 72-76.
3. Akerstrom, A., Jaakola, L., Bang, U. and Jaderlund, A. 2010. Effects of latitude-related factors and geographical origin on anthocyanidin concentrations in fruits of *Vaccinium myrtillus* L. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 58(23): 11939-11945.
1. Akramian, M., Hadian, J., Joharchi, M.R., Asghari, B. and Mumivand, H. 2010. Volatile constituents of *Phlomis elliptica* Benth. a rare plant endemic to Iran. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 13(6): 747-752.
2. Amor, I.L.B., Boubaker, J., Sgaier, M.B., Skandrani, I., Bhouri, W., Neffati, A., Kilani, S., Bouhlel, I., Ghedira, K. and Chekir-Ghedira, L. 2009. Phytochemistry and biological activities of *Phlomis* species. Journal of ethnopharmacology, 125(2): 183-202.
3. Asgarpanah, J. and Mohammadi Motamed, S. 2013. A review on phytochemistry and pharmacology of *Otostegia persica* (Burm. f.) Boiss. Quarterly Journal of Medicinal Plants, 3(47) 8-18.

4. Bajalan, I., Rouzbahani, R., Pirbalouti, A.G. and Maggi, F. 2017. Variation in chemical composition and antibacterial activity of the essential oil of wild populations of *Phlomis olivieri*. Chemistry and biodiversity, 14(5): e1600444.
5. Baranska, M., Schulz, H., Kruger, H. and Quilitzsch, R. 2005. Chemotaxonomy of aromatic plants of the genus *Origanum* via vibrational spectroscopy. Analytical and bioanalytical chemistry, 381(6): 1241-1247.
6. Cao, X.L. 2010. Phthalate esters in foods: sources, occurrence, and analytical methods. Comprehensive reviews in food science and food safety, 9(1): 21-43.
7. Carvalho, I.S., Cavaco, T., Carvalho, L.M. and Duque, P. 2010. Effect of photoperiod on flavonoid pathway activity in sweet potato (*Ipomoea batatas* (L. Lam.) leaves. Food chemistry, 118(2): 384-390.
8. Chalchat, J. and Pasquier, B. 1998. Morphological and chemical studies of *Origanum* clones: *Origanum vulgare* L. ssp. *vulgare*. Journal of Essential Oil Research, 10(2): 119-125.
9. Chan, K.W., Iqbal, S., Khong, N.M. and Babji, A.S. 2011. Preparation of deodorized antioxidant rich extracts from 15 selected spices through optimized aqueous extraction. Journal of Medicinal Plants Research, 5(25): 6067-6075.
10. Chang, Q., Zuo, Z., Harrison, F. and Chow, M.S.S. 2002. Hawthorn, Int. Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics, 42(6): 605–612.
11. Ebrahimzadeh, M.A., Hosseinimehr, S.J., Hamidinia, A. and Jafari, M. 2008. Antioxidant and free radical scavenging activity of *Feijoa sallowiana* fruits peel and leaves. Journal of Pharmacol-online, 1: 7-14.
12. Eghdami, A., Sadeghi, F., Asli, D.E. and Houshmandfar, A. 2011. Antioxidant activity of methanolic and aqueous extract of *Stachys Inflata*. Advances in Environmental Biology, 5: 1256-1259.
13. El-Beltagi, H., Ahmed, O.K. and El-Desouky, W. 2011. Effect of low dose gamma radiation on oxidative stress and secondary metabolites production of Rosemary (*Rosmarinum officinalis* L.) callus culture. Radiation Physics and chemistry, 80(9): 968-976.
14. Fini, A., Brunetti, C., Ferdinande, M., Ferrini, F. and Tattini, M. 2011. Stress-induced flavonoid biosynthesis and the antioxidant machinery of plant. Plant Signaling and Behavior, 6(5): 709-711.
15. Gogere, G., Turkyolu, U., Gursen, EN., YUR, S., Karaduman, A.B., Goger, F., Tekin, M., Özek, O. 2021. Phytochemical characterisation of *Phlomis linearis* Boiss. & Bal and screening for anticholinesterase, antiamylase, antimicrobial and cytotoxic properties. Turk. J. Chem. 45(2): 387–399.
16. Ghasemi Pirbalouti, A. 2008. Medicinal and aromatic plants (identifying and studying their effects). Shahrekord Branch, Islamic Azad University Press, 541 p.
17. Heydari, F., Ghafarzadegan, R., Mofasseri, M., Ghasemi, S.V., Kashefi, M., Hajiaghaee, R., and Tavakoli, S. 2021. Phytochemical analysis and biological activities of essential oil and extract of *Phlomis rigida* Labill. J. Med. Plants. 20 (80): 13-22.
18. Hemmati Hassan Gavyar, P. and Amiri, H. 2018. Chemical composition of essential oil and antioxidant activity of leaves and stems of *Phlomis lurestanica*. International Journal of Food Properties, 21(1): 1414-1422.
19. Jaakola, L. and Hohtola, A. 2010. Effect of latitude on flavonoid biosynthesis in plants. Plant cell and environment, 33(8): 1239-1247.
20. Jabeen, B., Riaz, N., Saleem, M., Naveed, M.A., Ashraf, M., Alam, U., Rafiq, H.M., Tareen, R.B. and Jabbar, A. 2013. Isolation of natural compounds from *Phlomis stewartii* showing α-glucosidase inhibitory activity. Phytochemistry, 96: 443-448.
21. Jamzad, Z. 2012. Lamiaceae. In Flora of Iran, Vol. 76. RIFR: Tehran; 152–251 p.
22. Kalinova, J. and Vrchotova, N. 2011. The influence of organic and conventional crop management, variety and year on the yield and flavonoid level

in common buckwheat groats. Food Chemistry, 127(2): 602-608.
23. Khanavi, M., Mannan Hajimahmoodi, M., Cheraghi-Niroomand, M., Kargar, Z., Ajani, Y., Hadjiakhoondi, A. and Oveisi, M.R., 2009. Comparison of the antioxidant activity and total phenolic contents in some *Stachys* species. African Journal of Biotechnology, 8(6):1143-1147.
24. Ko, M.J., Lee, J.H., Nam, H.H. and Chung, M.S. 2017. Subcritical water extraction of phytochemicals from *Phlomis umbrosa* Turcz. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 42: 1-7.
25. Li, H., Chen, B. and Yao, S. 2005. Application of ultrasonic technique for extracting chlorogenic acid from *Eucommia ulmodies* Oliv. (*E. ulmodies*). Ultrasonics Sonochemistry, 12(4): 295–300.
26. Li, M.X., Shang, X.F., Jia, Z.P. and Zhang, R.X. 2010. Phytochemical and biological studies of plants from the genus *Phlomis*. Chemistry and Biodiversity, 7(2): 283-301.
27. Mavar-Manga, H., Haddad, M., Pieters, L., Baccelli, C., Penge, A. and Quetin-Leclercq, J. 2008. Anti-inflammatory compounds from leaves and root bark of *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Mull. Arg. Journal of ethnopharmacology, 115(1): 25-29.
28. Mockute, D., Bernotiene, G. and Judzentiene, A. 2003. The β-ocimene chemotype of essential oils of the inflorescences and the leaves with stems from *Origanum vulgare* ssp. *vulgare* growing wild in Lithuania. Biochemical systematics and ecology, 31(3): 269-278.
29. Mohammadifar, F., Delnavazi, M.R. and Yassa, N. 2015. Chemical analysis and toxicity screening of *Phlomis olivieri* Benth. and *Phlomis persica* Boiss. essential oils. Pharmaceutical Sciences, 21(1): 12.
30. Morteza-Semnani, K., Azadbakht, M. and Goodarzi, A. 2004. The essential oils composition of *Phlomis herba-venti* L. leaves and flowers of Iranian origin. Flavour and fragrance journal, 19(1): 29-31.
31. Nakajima, J.I., Tanaka, I., Seo, S., Yamazaki, M. and Saito, K. 2004. LC/PDA/ESI-MS profiling and radical scavenging activity of anthocyanins in various berries. Journal of BioMed Research International, 5: 241-247.
32. Nikan, M., Saeidnia, S., Manayi, A. and Saadatmand, S., 2017. Essential oils of four *Phlomis* species growing in Iran: chemical composition, antimicrobial and antifungal activity. Progress in Nutrition, 19(1): 75-79.
33. Ogunlesi, M., Okiei, W., Ofor, E. and Osibote, A.E. 2009. Analysis of the essential oil from the dried leaves of *Euphorbia hirta* Linn (Euphorbiaceae), a potential medication for asthma. African Journal of Biotechnology, 8(24).
34. Okoye, F.B., Obonga, W.O., Onyegbule, F.A., Ndu, O.O. and Ihekwereme, C.P., 2014. Chemical composition and anti-inflammatory activity of essential oils from the leaves of *Ocimum basilicum* L. and *Ocimum gratissimum* L. (Lamiaceae). International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research, 5(6): 2174.
35. Omidbaigi, R. 2014. Production and Processing of Medicinal Plants. Quds Razavi Publishing House, 1(7): 348 p.
36. Omidbaigi, R. 2014. Production and Processing of Medicinal Plants. Quds Razavi Publishing House, 3(7): 400 p.
37. Ozdemir, F.A., Kilic, O. and Yildirimli, S. 2017. Essential oil composition and antimicrobial activity of endemic *Phlomis sieheana* Rech. from Bingol (Turkey). Journal of Essential Oil Bearing Plants, 20(2): 516-523.
38. Raman, V., La, S., Saradhi, P., Rao, N., Krishna, N.V., Sudhakar, M. and Radhakrishnan T.M. 2012. Antibacterial, antioxidant activity and GC-MS analysis of *Eupatorium odoratum*. Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research, 5(2): 99-106.
39. Rechinger, K. 1982. Flora Iranica. Graz-Austria: Akademic Druck-u. Verlagsanstalt, 17(150): 32-527 p.

40. Roy, R., Laskar, S. and Sen, S. 2006. Dibutyl phthalate, the bioactive compound produced by *Streptomyces albidoflavus* 321.2. Microbiological Research, 161(2): 121-126.
41. Rustaiyan, A. and Masoudi, S., 2011. Chemical constituents and biological activities of Iranian *Artemisia* species. Phytochemistry Letters, 4(4): 440-447.
42. Saeidnia, S., Nikan, M., Mirnezami, T., Gohari, A.R. and Manayi, A., 2015. Micromorphological characterizations and phytochemicals contents of some *Phlomis* species from Iran. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 8(1): 157-161.
43. Sarkhail, P., Amin, G., Salehi Surmaghi, M.H. and Shafiee, A., 2006. Composition of the volatile oils of *Phlomis lanceolata* Boiss. and Hohen., *Phlomis anisodonta* Boiss. and *Phlomis bruguieri* Desf. from Iran. Flavour and Fragrance Journal, 20: 327–329.
44. Sarikurkcu, C., Uren, M.C., Tepe, B., Cengiz, M. and Kocak, M.S. 2014. Phenolic content, enzyme inhibitory and antioxidative activity potentials of *Phlomis nissolii* and *P. pungens* var. *pungens*. Industrial Crops and Products, 62: 333-340.
45. Singh, R., Singh, S., Maharia, R. and Garg, A. 2015. Identification of new phytoconstituents and antimicrobial activity in stem bark of *Mangifera indica* (L.). Journal of pharmaceutical and biomedical analysis, 105: 150-155.
46. Srinivasan, G., Sharanappa, P., Leela, N., Sadashiva, C. and Vijayan, K. 2009. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Leea indica* (Burm. f.) Merr. flowers. Natural Product Radiance, 8(5): 488-493.
47. Uzakbay, S., Halmenova, Z., Umbetova, A., Burasheva, G.S. and Aisa, H. 2017. Analysis of the lipophilic components of the aerial parts of the plant *Origanum vulgare*. National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan, 4: 5.
48. Yetisen, K., 2014. Morphological and anatomical study of the endemic species *Phlomis* monocephala (Lamiaceae). Pytologia Balcanica, 20(1): 49-55.
49. Zellagui, A., Gherraf, N., Ladjel, S. and Hameurlaine, S., 2012. Chemical composition and antibacterial activity of the essential oils from *Launaea resedifolia* L. Organic and medicinal chemistry letters, 2(1): 2.

Essential oil composition and phytochemical survey of *Phlomis herba-venti*, *Phlomis persica* Boiss. and *Phlomis olivieri* Benth. from Northwestern Iran

Najjari, Z. [1], Fattahi, M.[2*]

[1]MSc. student, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran

[2]Assistant Professor, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran

Received: 9-6-2018; Accepted: 20-10-2018

Abstract

Different species of *Phlomis* are important for terpenoid compounds and anti-inflammatory and antioxidant flavonoids in their essential oils. In the present study, three species of *Phlomis* including *Ph. olivieri* Benth*, Ph. persica* Boiss, and *Ph. herba-venti* were collected from the natural habitats located in Azarshahr (elevation 1671 m), Urmia (elev. 1598 m) and Tuyserkan (elev. 1598 m) at the full-flowering stage in June 2017. Then, their essential oil constituents and some phytochemical properties the extracts were evaluated. The essential oils were extracted by the hydro-distillation method (Clevenger apparatus). CG and CG-MS were used to analyze chemical constituents. Extraction was performed using an ultrasonic device and phytochemical indices were evaluated in terms of total phenol content, total flavonoid, and antioxidant activity (%DPPH). A total of 38 compounds were identified in the essential oils of three plant species, which among them, Diisooctyl phthalate (69.71%), γ-Elemene (7.93%), and Germacrene D (7.44%) in *Phlomis olivieri* Benth. and Nepetalactone (45.24%), Bis (2-ethylhexyl) phthalate (32.72%), and Germacrene D (5.59%) in *Phlomis herba-venti* were the main compounds. Diisooctyl phthalate (49.74%), *t*-muurolol (16.18%) and Hexahydrofarnesyl acetone (7.82%) were identified as major compounds of *Ph. persica* Boiss. Comparison of identified compounds among the three species showed a higher percentage of Diisooctyl phthalate (69.71%) in *Ph. Olivieri*. Also, the highest amount of total phenol (136.34 GAE/g DW), total flavonoid (49.29 mg Qu. g^{-1} DW) and antioxidant activity (68.48%) were related to *Plomis persica* Boiss.

Keywords: Antioxidant, Essential oils, Diisooctyl phthalate, Extract, *Phlomis*

*Corresponding author; mo.fattahi@urmia.ac.ir