



## Investigating the phytochemical changes of *Thymus vulgaris* L. essential oil under the influence of ultrasound waves

Asma Amoozegaran<sup>1</sup>, Hossein Dehghan<sup>2\*</sup> , Seyed Saied Homami<sup>1,3</sup>,  
Seyed Abdollah Hashemi<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Department of Applied Chemistry, Faculty of Science, Islamic Azad University, South Tehran Branch, Tehran, Iran

<sup>2</sup> Medicinal Plants Research Center, Shahed University, Tehran, Iran, Email: h.dehghan@shahed.ac.ir

<sup>3</sup> Research Center of Modeling and Optimization in Science and Engineering, Islamic Azad University, South Tehran Branch, Tehran, Iran

<sup>4</sup> Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Shahed University, Tehran, Iran

### Article type:

Research article

### Abstract

Many researches have been conducted to introduce ultrasound as an auxiliary factor to increase the efficiency of extraction of essential oils from medicinal plants. However, few researchers have studied the role of ultrasound waves in stimulating chemical reactions of the essential compounds of plants. This research was conducted with the aim of investigating the effect of ultrasound on the main components of essential oil of *Thymus vulgaris* L. after extracting the essential oil and without the presence of plant tissue. For this purpose, the aerial parts of the plant were harvested at the flowering stage from the south of Tehran in June 2021. The essential oil of the plant was extracted using a distillation apparatus (Clevenger) and its compounds were determined and measured by GC and GC/MS. Subsequently, ultrasonic waves were applied to the extracted essential oil by a titanium probe (400 w) with three variable factors of temperature, time, and the ratio of essential oil/ water at three levels. Finally, 27 treated essential oil samples were prepared and their chemical compounds were quantified by GC. The primary essential oil contained 44.37% of thymol, 29.80% of *p*-cymene and 21.24% of  $\gamma$ -terpinene. The results showed that the application of ultrasound to the essential oil increased the amount of thymol and decreased the amounts of  $\gamma$ -terpinene and *p*-cymene. By optimizing the conditions (1:0 ratio of thyme essential oil and water, 20°C and 10 min), the active ingredient thymol was reduced from 44.37% to 70.18%. Ultrasonic waves in the presence of water and oxygen caused the production of hydroproxyl radical (HOO $\cdot$ ) and then showed oxidation reactions to produce thymol from  $\gamma$ -terpinene and *p*-cymene. The results showed that in addition to helping to increase the efficiency of extraction, ultrasound can cause a change in the chemistry and the ratio of phytochemical compounds in the essential oil by stimulating radical reactions.

### Article history

Received: 4-10-2023

Revised: 15-1-2024

Accepted: 29-1-2024

### Keywords

*p*-Cymene  
Essential oil  
 $\gamma$ -Terpinene  
Thymol  
Thyme  
Ultrasound

**Cite this article as:** Amoozegaran, A., Dehghan, H., Seyed Homami, S., Hashemi, S.A. (2023). Investigating the phytochemical changes of *Thymus vulgaris* L. essential oil under the influence of ultrasound waves. *Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants.*, 11(4): 45-61.



©The author(s)  
Doi:

Publisher: Islamic Azad University, Gorgan branch  
Dor:



## بررسی تغییرات فیتوشیمیایی اسانس گیاه دارویی *Thymus vulgaris* L. تحت تاثیر امواج فراصوت

اسما آموزگاران<sup>۱</sup>، حسین دهقان<sup>۲\*</sup>، سید سعید همای<sup>۳</sup>، سیدعبداله هاشمی<sup>۴</sup>

<sup>۱</sup> گروه شیمی کاربردی، دانشکده شهید همت، مجتمع فنی مهندسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران جنوب، تهران، ایران

<sup>۲</sup> مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه شاهد، تهران، ایران، رایانامه: h.dehghan@shshed.ac.ir

<sup>۳</sup> مرکز تحقیقات مدلسازی و بهینه سازی در علوم و مهندسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران جنوب، تهران، ایران

<sup>۴</sup> گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

### نوع مقاله:

مقاله پژوهشی

### چکیده

تا کنون تحقیقات بسیاری در راستای معرفی امواج فراصوت به عنوان یک عامل کمکی جهت افزایش راندمان استخراج اسانس گیاهان دارویی صورت گرفته است. اما کمتر محقق به نقش امواج فراصوت در تحریک واکنش‌های شیمیایی بر روی ترکیبات اسانس گیاهان پرداخته است. این پژوهش، با هدف بررسی اثر امواج بر روی ترکیبات اصلی اسانس آویشن باغی (*Thymus vulgaris* L.)، پس از استخراج اسانس و عدم حضور بافت گیاهی انجام شد. بدین منظور، اندام هوایی گیاه آویشن باغی در خرداد ۱۴۰۰ از منطقه جنوب تهران و در مرحله گل دهی برداشت شد. اسانس گیاه به روش توسط دستگاه تقطیر با آب (طرح کلونجر) استخراج و ترکیبات آن توسط روش‌های GC و GC/MS شناسایی و اندازه‌گیری شد. در ادامه امواج فراصوت توسط پراب تیتانیومی (۴۰۰ وات) و با سه متغیر دما، زمان و نسبت اسانس به آب در سه سطح، بر اسانس مستخرج اعمال شد. در نهایت ۲۷ نمونه اسانس تیمار شده تهیه و ترکیبات شیمیایی تمامی آن‌ها توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی اندازه‌گیری شد. اسانس اولیه شامل ۴۴/۳۷ درصد تیمول، ۲۹/۸۰ درصد پارا-سیمن و ۲۱/۲۴ درصد گاما-ترپینین بود. نتایج حاصل نشان داد که اعمال امواج فراصوت به اسانس آویشن سبب افزایش میزان تیمول و به همان نسبت کاهش میزان گاما-ترپینین و پارا-سیمن شده است. با بهینه سازی شرایط (نسبت ۱:۰ از اسانس به آب، دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد و زمان ۱۰ دقیقه) موفق شدیم ماده موثره تیمول را از ۴۴/۳۷ درصد به ۷۰/۱۸ درصد افزایش دهیم. امواج فراصوت در حضور آب و اکسیژن سبب تولید رادیکال هیدروپروکسید ( $\text{HOO}^\cdot$ ) و در ادامه انجام واکنش‌های اکسایشی در راستای تولید تیمول از گاما-ترپینین و پارا-سیمن می‌گردد. نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که امواج فراصوت علاوه بر کمک به افزایش راندمان استخراج اسانس از بافت گیاهی می‌تواند با تحریک واکنش‌های رادیکالی سبب تغییر در ماهیت و نسبت ترکیبات فیتوشیمیایی در اسانس گردد.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۷/۲

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۱۰/۵

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۱/۰۹

### واژه‌های کلیدی:

آویشن  
اسانس  
امواج فراصوت  
پارا-سیمن  
تیمول  
گاما-ترپینین

**استناد:** آموزگاران، اسما؛ دهقان، حسین؛ همای، سید سعید؛ هاشمی، سیدعبداله. (۱۴۰۲). بررسی تغییرات فیتوشیمیایی اسانس گیاه

دارویی *Thymus vulgaris* L. تحت تاثیر امواج فراصوت. فصلنامه اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی، ۱۱ (۴)، ۶۱-۵۵.

Doi:

Dor:

ناشر: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرگان

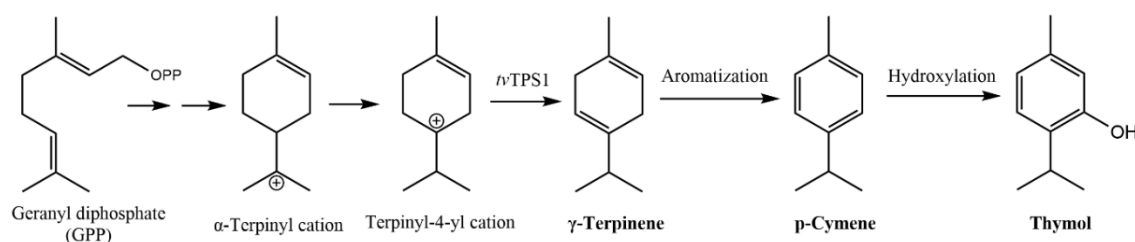
© نویسندگان.



## مقدمه

میزان اسانس این گیاه ۰/۵ درصد یا معادل ۵ میلی‌لیتر در هر کیلوگرم از اندام هوایی خشک شده است و معمولاً ترکیب تیمول ۳۵ تا ۵۵ درصد از این اسانس را تشکیل داده است (Prasanth Reddy et al., 2014). عمده اثرات این اسانس نیز مربوط به همین ترکیب می‌باشد (British pharmacopoeia, 2009). ترکیبات گاما-ترپینن و پارا-سیمین نیز که در واقع پیش ساز ترکیب تیمول در مسیر بیوسنتزی گیاه آویشن هستند. همانطور که در شکل ۱ مشخص است، مسیر بیوسنتزی این سه ترکیب در گیاه آویشن نشان می‌دهد که بیوسنتز تیمول بسته به حضور گاما-ترپینن و پارا-سیمین دارد (Poulose and Croteau, 1978).

دستیابی به مواد طبیعی با استفاده از روش‌های ایمن و سریع می‌تواند باعث تحول در صنایع وابسته به ترکیبات موثر بیولوژیک، از جمله صنعت داروسازی شود (Noce et al., 2021; Badrkhani et al., 2013). ترکیب فنولی تیمول یکی از این ترکیبات ارزشمند با اثرات متنوع دارویی علیه دیابت، سرماخوردگی، سرفه، تشنج، روماتیسم و عفونت‌های مختلف می‌باشد (Ekoh et al., 2014; Amoozegaran et al., 2022; Khaje Nouri and Haghghiye Asl, 2016). اسانس گیاه آویشن باغی (*Thymus vulgaris*) یکی از مهمترین منابع طبیعی تیمول می‌باشد. حداقل



شکل ۱: مسیر بیوسنتز سه ترکیب تیمول، پارا-سیمین و گاما-ترپینن در گیاه آویشن

سمی را به دنبال دارد. طی سال‌های اخیر روش‌های نوینی برای استخراج اسانس گیاهان دارویی ابداع گردیده‌اند. انتخاب یک روش مؤثر در استخراج ترکیبات فعال به شاخص‌های مختلفی از جمله نوع گیاه، حلال مورد استفاده، سازگاری با محیط زیست، محدودیت در دما، زمان، هزینه و سایر عوامل می‌تواند بستگی داشته باشد (Hoseini and Yousefi, 2019; Hammoudi Halat et al., 2020). یکی از روش‌هایی که اخیراً جهت افزایش راندمان اسانس گیری از گیاهان استفاده می‌شود خیساندن در حضور امواج فراصوت است. در این روش امواج فراصوت با ایجاد حفرات ریز در مایع و سپس انفجار آن‌ها باعث ایجاد انرژی فراوان و شوک به بافت گیاهی شده و از این رو سبب افزایش انتقال ترکیبات اسانسی

معمولاً سنتز ترکیبات طبیعی مانند تیمول به روش‌های شیمیایی دارای معایبی از جمله پیچیدگی و هزینه بر بودن فرآیند سنتز و جداسازی و همچنین استفاده از حلال و یا ترکیبات سمی می‌باشد (Escobar et al., 2020). از این رو در سال‌های اخیر، استفاده از منابع طبیعی و گیاهی در اولویت بسیاری از محققان و صنایع می‌باشد. لذا اخیراً مطالعات متعددی بر روی روش‌های مختلف استخراج اسانس با اولویت افزایش ماده موثره تیمول انجام شده است (Villanueva Bermejo et al., 2015). روش‌های مرسوم استخراج ترکیبات اسانسی مانند تقطیر آبی یا بخار آب و استخراج با حلال آلی معایبی مانند اتلاف ترکیبات فرار، بازدهی کم، زمان استخراج طولانی، تخریب ترکیبات حساس به دما و باقی ماندن حلال

همچنین از دستگاه‌های کروماتوگرافی گازی- طیف سنج جرمی (Agilent 5977A GC-MS) و کروماتوگرافی گازی (Varian cp-3800) برای تجزیه ترکیبات اسانس آویشن استفاده شد.

**استخراج اسانس به روش تقطیر با آب:** اندام هوایی آویشن باغی (*T. vulgaris L.*) از مزرعه تحقیقاتی مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه شاهد، در مرحله گل دهی و در خرداد ماه سال ۱۴۰۰ جمع آوری شد. پس از شستشوی اندام هوایی گیاه، ۳ کیلوگرم از آن در سایه و دمای اتاق خشک و توسط آسیاب خرد شد. اسانس آویشن از نمونه خرد شده توسط تقطیر با دستگاه کلونجر استخراج شد. برای این امر، ابتدا ۵۰ گرم از گیاه خرد شده به بالن ۱ لیتری دستگاه منتقل و سپس به میزان ۵۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به آن اضافه گردید. بالن بر روی منتل قرار داده شد و پس از اتصال بخش فوقانی کلونجر که شامل لوله بخار و کندانسور می‌باشد، دمای منتل جهت شروع فرآیند تقطیر تنظیم شد. دمای کندانسور توسط یک سیرکولاتور بر روی ۵ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. پس از گذشت ۳ ساعت از فرآیند تقطیر، اسانس از قسمت مخصوص خود در دستگاه کلونجر جمع آوری و جهت آزمون‌های بعدی در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و در تاریکی نگهداری شد (Dehghan et al., 2015).

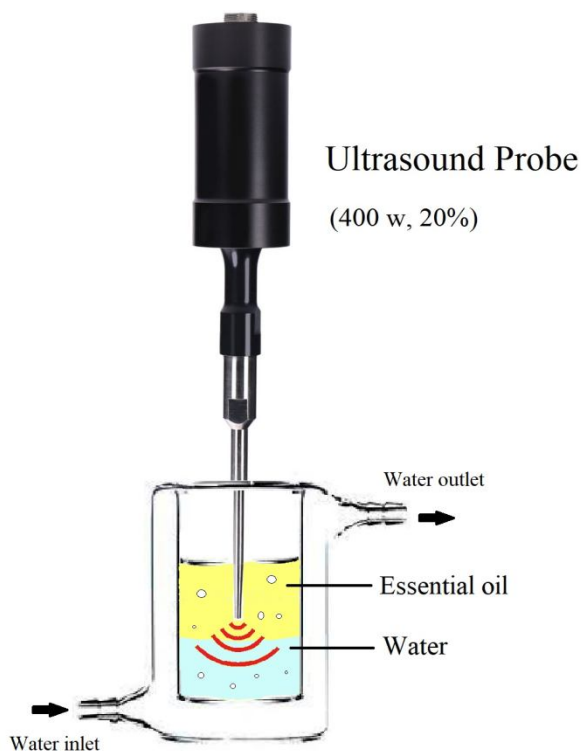
#### اعمال امواج فراصوت بر اسانس آویشن باغی:

نسبت‌های مختلف ۱:۰، ۱:۱ و ۲:۱ از اسانس آویشن و آب مقطر، در حجم نهایی ۱ میلی‌لیتر به لوله‌های آزمایش منتقل شدند. در ادامه امواج فراصوت توسط پروب التراسونیک (نام دستگاه: توسعه فناوری مافوق صوت، با ۲۰ درصد از توان ۴۰۰ وات) طی زمان‌های مختلف ۵، ۱۰ و ۱۵ دقیقه و در ۳ دمای مختلف ۲۰، ۳۰ و ۴۰ درجه سانتی‌گراد اعمال شد (شکل ۲).

از بافت گیاه به خارج از آن و به طبع آن افزایش راندمان اسانس گیری می‌شود. برای مثال، در یک پژوهش اثبات شد که خیساندن گیاه آویشن به همراه اعمال امواج فرا صوت پیش از استخراج اسانس به روش تقطیر، باعث افزایش بازدهی اسانس از ۲/۲ درصد به ۲/۴ درصد می‌شود (Kowalski and Wawrzykowski, 2009). مطالعات دیگر نشان از تغییرات اندکی در درصد ترکیبات مختلف در اسانس، در اثر اعمال امواج فراصوت می‌دهند. برخی پژوهشگران این امر را یک امر فیزیکی دانسته و به افزایش نفوذ پذیری برخی ترکیبات در حضور امواج فراصوت نسبت می‌دانند (Darabad et al., 2020). طبق بررسی‌های ما، تا کنون مطالعه‌ای بر روی تاثیر امواج فراصوت بر روی ترکیبات شیمیایی اسانس گیاه آویشن، به جهت بررسی احتمال انجام واکنش شیمیایی در اثر این امواج، انجام نشده است. لذا هدف از انجام این پژوهش بررسی اثر امواج فراصوت بر روی ترکیبات اصلی اسانس آویشن، خارج از بافت گیاهی و پس از استخراج به روش تقطیر می‌باشد. در این فرآیند، متغیرهای اثرگذار نظیر نسبت آب به اسانس آویشن، زمان اعمال امواج فراصوت و دما بر روی میزان ترکیبات تیمول، گاما-ترپنین و پاراسیمین مورد بررسی قرار گرفت.

#### مواد و روش‌ها

**مواد و دستگاه‌ها:** در این پژوهش از آب دو بار تقطیر با pH برابر با ۶/۳ و رسانایی الکتریکی ۰/۷ میکروزیمنس بر سانیه استفاده شد. از دستگاه تقطیر کلونجر ۱ لیتری جهت استخراج اسانس آویشن استفاده شد. از دستگاه TopSonic متعلق به شرکت توسعه فناوری مافوق صوت (حداکثر توان: ۴۰۰ وات) جهت اعمال امواج مافوق صوت استفاده شد.



شکل ۲: اعمال امواج فراصوت با توان ۴۰۰ وات توسط پراب فراصوت

تغییرات اعمال شده در میزان ترکیبات موثره آنها، در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و در تاریکی نگهداری شدند (Kowalski et al., 2019).

بنابراین با توجه به اعمال متغیرهای ذکر شده، تعداد ۲۷ نمونه اسانس حاصل شد (جدول ۱). در ادامه نمونه‌ها جهت انجام آنالیز GC و بررسی

جدول ۱: متغیرهای اعمال شده برای هر نمونه از اسانس حین اعمال امواج فراصوت

نسبت آب: اسانس	زمان (دقیقه)	دما (°C)	شماره نمونه اسانس تیمار شده
۱:۰	۵	۲۰	۱
۱:۰	۱۰	۲۰	۲
۱:۰	۱۵	۲۰	۳
۱:۱	۵	۲۰	۴
۱:۱	۱۰	۲۰	۵
۱:۱	۱۵	۲۰	۶
۱:۲	۵	۲۰	۷
۱:۲	۱۰	۲۰	۸
۱:۲	۱۵	۲۰	۹
۱:۰	۵	۳۰	۱۰
۱:۰	۱۰	۳۰	۱۱
۱:۰	۱۵	۳۰	۱۲
۱:۱	۵	۳۰	۱۳
۱:۱	۱۰	۳۰	۱۴

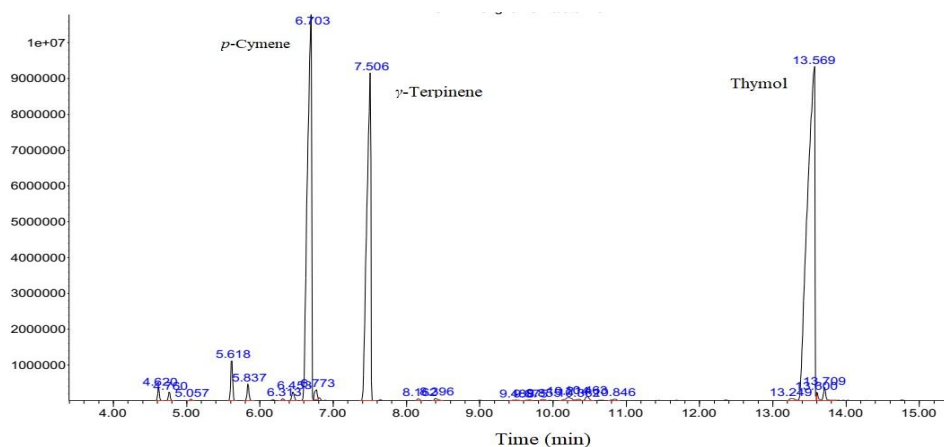
شماره نمونه اسانس تیمار شده	دما (°C)	زمان (دقیقه)	نسبت آب: اسانس
۱۵	۳۰	۱۵	۱:۱
۱۶	۳۰	۵	۱:۲
۱۷	۳۰	۱۰	۱:۲
۱۸	۳۰	۱۵	۱:۲
۱۹	۴۰	۵	۱:۰
۲۰	۴۰	۱۰	۱:۰
۲۱	۴۰	۱۵	۱:۰
۲۲	۴۰	۵	۱:۱
۲۳	۴۰	۱۰	۱:۱
۲۴	۴۰	۱۵	۱:۱
۲۵	۴۰	۵	۱:۲
۲۶	۴۰	۱۰	۱:۲
۲۷	۴۰	۱۵	۱:۲

کروماتوگرافی گازی: جهت اندازه‌گیری کمی ترکیبات موثره اسانس‌ها از دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC) Varian cp-3800 که مجهز به آشکارساز یونی FID و ستون HP-5MS (به طول ۳۰ متر، به قطر ۰/۳۲ میلی‌متر و ضخامت لایه داخلی ۰/۲۵ میکرومتر) استفاده شد. گاز حامل نیتروژن با جریان ۱/۱ میلی‌متر بر دقیقه بود. برنامه دمایی ستون از ۶۰ تا ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۴ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه تنظیم شد. دمای آشکارساز و اینجکتور روی ۲۵۰-۲۴۰ سانتی‌گراد ثابت نگه داشته شد در نهایت با انطباق کروماتوگرام و نتایج بدست آمده با نتایج حاصل از دستگاه GC-MS، درصد ترکیبات موثره در اسانس‌ها بدست آمد (Sonboli et al., 2013).

#### نتایج

ترکیبات اسانس استخراجی: اسانس آویشن به روش تقطیر و توسط دستگاه کلونجر با بازدهی ۱/۰۱ درصد (حجمی-وزنی) بدست آمد. شکل ۳ مربوط به کروماتوگرام اسانس اولیه استخراج شده به روش تقطیر می‌باشد.

شناسایی ترکیبات اسانس به روش کروماتوگرافی گازی- طیف سنج جرمی: جهت شناسایی ترکیبات اسانس‌ها از دستگاه GC-MS (Agilent 5977A) با سیستم مجهز به ستون HP-5MS (طول ۳۰ متر، قطر ۰/۳۲ میلی‌متر و ضخامت لایه داخلی ۰/۲۵ میکرون) استفاده شد. گاز حامل هلیوم با جریان ۱/۱ میلی‌متر بر دقیقه و نسبت تزریق نمونه ۱ به ۱۰۰ انجام شد. برنامه دمایی ستون از ۶۰ تا ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۴ درجه در دقیقه تنظیم شد و سپس دما به مدت ۱۰ دقیقه در ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد ثابت ماند. طیف‌های جرمی در ۷۰ الکترون ولت تهیه شدند. ضرایب بازداری با استفاده از زمان‌های بازداری آلکان‌های نرمال که با همان دستگاه و تحت همان شرایط تزریق شد، محاسبه شدند. مقادیر نسبی اجزا از روی سطح کل پیک‌ها توسط نرم افزار دستگاه محاسبه شد. برای شناسایی ترکیبات، از مقایسه طیف جرمی آن‌ها با طیف‌های موجود در داده‌های کتابخانه Wiley و موسسه ملی استاندارد و تکنولوژی آمریکا استفاده شد (Saeed Masoum, 2016; Khanjani et al., 2021). اندازه‌گیری کمی ترکیبات اسانس به روش



شکل ۳: کروماتوگرام اسانس *T. vulgaris* استخراج شده به روش تقطیر

نتایج آنالیز داده‌ها نشان داد که اسانس بدست آمده و ۲۱/۲۴ درصد گاما-ترپینن می‌باشد (جدول ۲). شامل ۴۴/۳۷ درصد تیمول، ۲۹/۸۰ درصد پارا-اسیمن

جدول ۲: ترکیبات شناسایی شده در اسانس *T. vulgaris* استخراج شده به روش تقطیر

درصد (%)	شاخص بازداری (RI)	زمان بازداری (RT)	نام ترکیب
۰/۱۹	۹۲۶	۴/۶۲	$\alpha$ -Thujene
۰/۳۰	۹۳۳	۴/۷۶	$\alpha$ -Pinene
۰/۰۵	۹۴۸	۵/۰۵	Camphene
۱/۲۹	۹۷۷	۵/۶۱	$\beta$ -Pinene
۰/۵۶	۹۸۸	۵/۸۳	$\beta$ -Myrcene
۰/۰۵	۱۰۱۰	۶/۳۱	$\delta$ -3-Carene
۰/۱۶	۱۰۱۶	۶/۴۵	$\alpha$ -Terpinene
۲۹/۸۰	۱۰۲۶	۶/۷۰	<i>p</i> -Cymene
۰/۴۳	۱۰۲۹	۶/۷۷	$\beta$ -Phellandrene
۲۱/۲۴	۱۰۶۰	۷/۵۰	$\gamma$ -Terpinene
۰/۰۱	۱۰۸۷	۸/۱۶	$\alpha$ -Terpinolene
۰/۰۸	۱۰۹۷	۸/۳۹	cis-4-Thujanol
۰/۰۵	۱۱۴۶	۹/۶۷	Camphor
۰/۰۷	۱۱۵۳	۹/۸۵	Isomenthone
۰/۱۱	۱۱۷۲	۱۰/۳۶	Menthol
۰/۴۷	۱۱۷۶	۱۰/۴۶	4-Terpineol
۰/۰۷	۱۱۹۰	۱۰/۸۴	$\alpha$ -Terpineol
۰/۰۴	۱۲۸۲	۱۳/۲۴	<i>m</i> -Thymol
۴۴/۳۷	۱۲۹۴	۱۳/۵۶	Thymol
۰/۰۸	۱۲۹۵	۱۳/۶۰	Carvacrol
۰/۲۳	۱۲۹۹	۱۳/۷۰	<i>p</i> -Thymol
۰/۰۳	۱۶۲۲	۲۱/۶۱	Apiol
۹۹/۶۱			مجموع

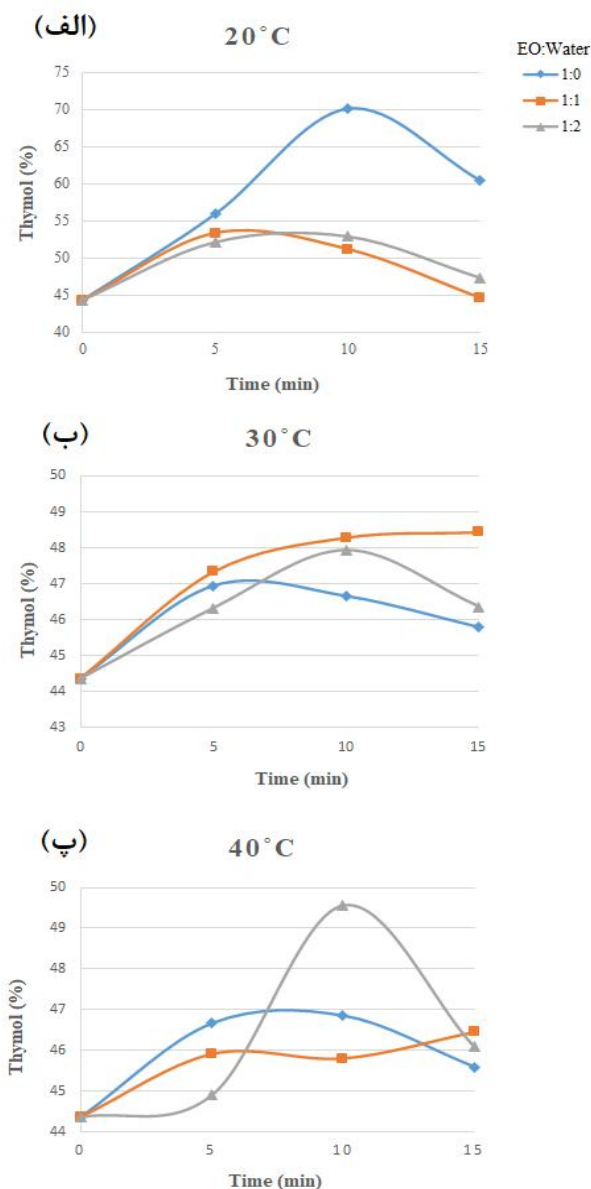
\* درصد ترکیبات مربوط به اسانس اولیه، استخراج شده به روش تقطیر با آب، می‌باشد.

با نسبت اسانس به آب ۱:۱، ۴۴/۶۳ درصد حاصل شد. لذا می‌توان نتیجه گرفت در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد پارامتر نسبت اسانس به آب بیشترین اثرگذاری را در میزان ترکیب تیمول دارا می‌باشد. در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد بالاترین میزان تیمول ۴۸/۴۳ درصد مربوط به نسبت اسانس به آب ۱:۱ و در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد بالاترین میزان تیمول ۴۹/۵۵ درصد مربوط به نسبت اسانس به آب ۱:۲ می‌باشد. در اینجا به نظر می‌آید دما عامل کلیدی بر میزان تولید تیمول می‌باشد. دما می‌تواند خواص فیزیکی و شیمیایی آب و اسانس را به طور قابل ملاحظه‌ای تحت تاثیر قرار دهد. باید توجه داشت که افزایش دما به بالاتر از میزان خاصی امکان تخریب ترکیبات اسانس را به همراه دارد. بر اساس نتایج حاصل، هر چه دما بالاتر می‌رود میزان تولید تیمول کاهش می‌یابد. این امر می‌تواند ناشی از کاهش گرانشی آب و همچنین اسانس در دمای بالاتر و در نتیجه آن، کاهش شوک ناشی از انفجار حباب‌ها بر ترکیبات اسانسی باشد. چراکه امواج فراصوت با ایجاد حباب‌های ریز و انفجار آن‌ها در مایعات تاثیر خود را اعمال می‌کنند و کاهش گرانشی آب و اسانس ب کاهش تولید حباب می‌شود.

اثر امواج فراصوت بر اسانس استخراجی: در ادامه اثر امواج فراصوت بر روی اسانس استخراج شده بررسی شد. در این بخش امواج فراصوت توسط پراب تیتانیومی (۲۰ درصد توان از قدرت ۴۰۰ وات) و تعیین سه متغیر دما، زمان و نسبت اسانس به آب در سه سطح، بر اسانس مستخرج اعمال شد. در نهایت ۲۷ نمونه اسانس تیمار شده تهیه و ترکیبات شیمیایی تمامی آن‌ها توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی شناسایی کمی شد. به طور کلی، نتایج حاصل نشان می‌دهند که امواج فراصوت سبب ایجاد تغییرات قابل توجهی در درصد ترکیبات تیمول، گاما-تریپنین و پارا-سیمن موجود در اسانس آویشن اولیه شد. از آنجایی که هر سه ترکیب دارای اهمیت زیادی در حوزه شیمی گیاهان دارویی هستند، ابتدا به صورت مجزا به بررسی و معرفی متغیرهای اثرگذار بر میزان این سه ترکیب می‌پردازیم.

**متغیرهای اثرگذار در میزان تیمول موجود در اسانس:** میزان تیمول در تمامی نمونه‌ها افزایش پیدا کرده است و بیشترین میزان ترکیب تیمول با ۷۰/۱۸ درصد، در اعمال امواج فراصوت در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد، زمان ۱۰ دقیقه و نسبت اسانس به آب ۱:۰ بدست آمد (شکل ۴). همچنین کمترین میزان این ترکیب در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد، زمان ۱۵ دقیقه



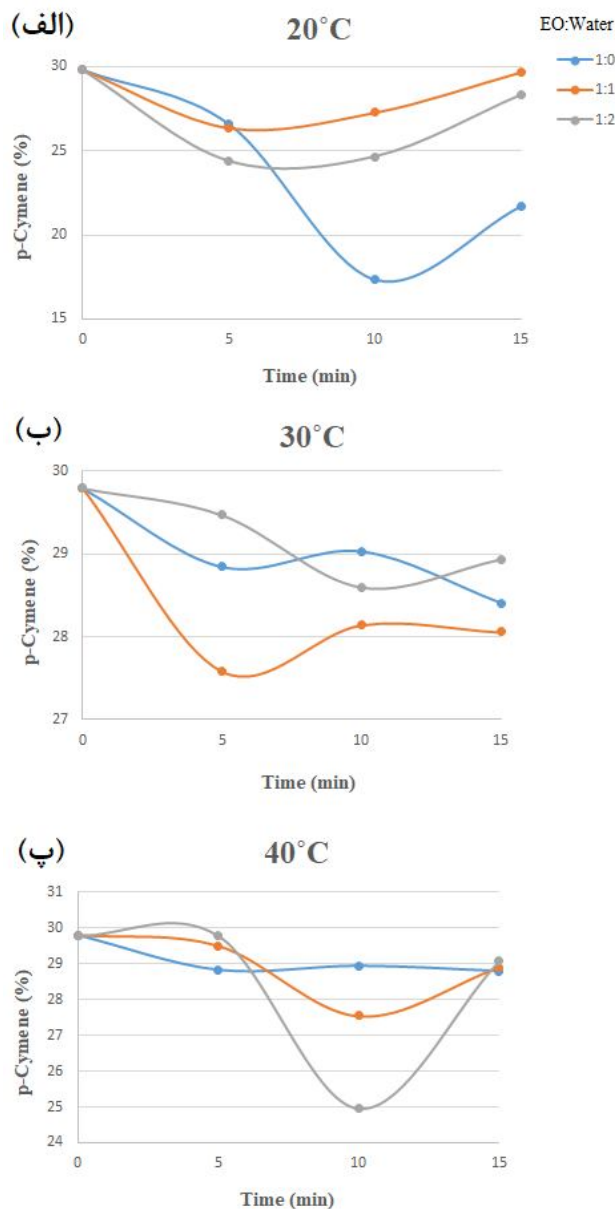


شکل ۴: اثر نسبت آب به اسانس و زمان اعمال امواج فراصوت در دماهای

(الف) ۲۰، (ب) ۳۰ و (پ) ۴۰ درجه سانتی گراد بر میزان تیمول

پارا-سیمن ثابت ماند. همچنین بیشترین میزان کاهش این ترکیب (تا ۱۷/۳۳ درصد) در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد، زمان ۱۰ دقیقه و نسبت اسانس به آب ۰:۱ ثبت شد. همانطور که در شکل ۵ مشخص است، در دماهای ۲۰ و ۴۰ درجه سانتی گراد روند تغییر میزان ترکیب پارا-سیمن ابتدا کاهشی بوده و سپس افزایش می یابد.

متغیرهای اثرگذار در میزان پارا-سیمن موجود در اسانس: میزان پارا-سیمن در نمونه اولیه اسانس (زمان ۰) برابر با ۲۹/۸۰ درصد می باشد. با توجه به نتایج بدست آمده، در همه شرایط میزان این ترکیب در طول اعمال امواج فراصوت نسبت به کنترل کاهش یافته و یا ثابت مانده است. در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد، زمان ۵ دقیقه و با نسبت اسانس به آب ۲:۱ میزان

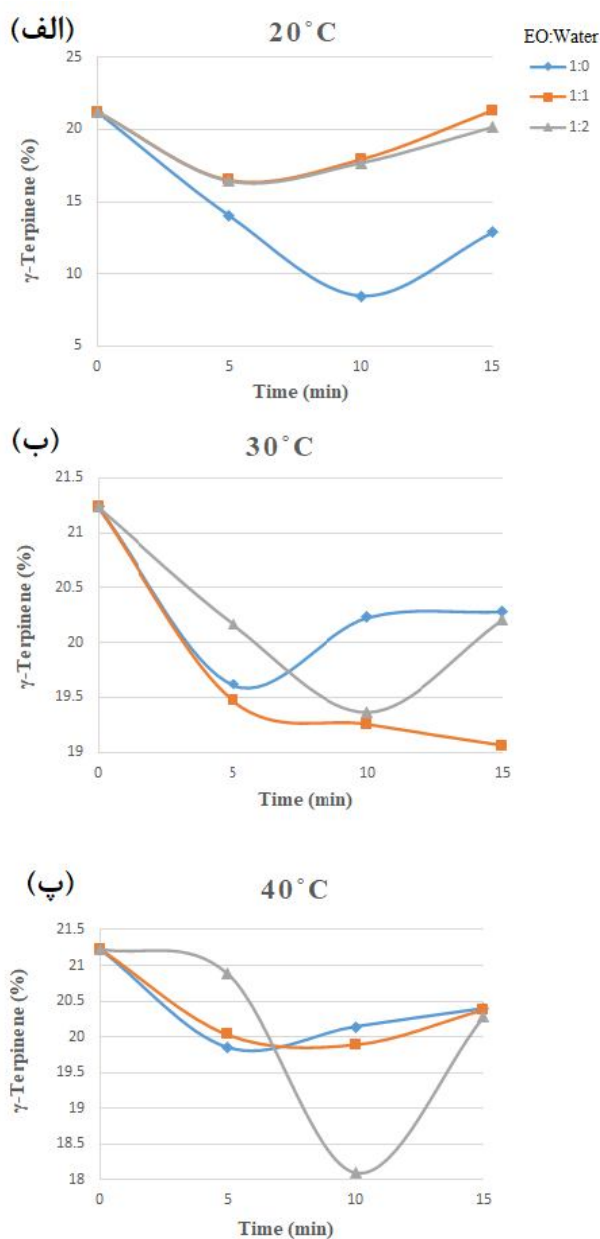


شکل ۵: اثر نسبت آب به اسانس و زمان اعمال امواج فراصوت در دماهای

الف) ۲۰، ب) ۳۰ و پ) ۴۰ درجه سانتی گراد بر میزان پارا-سیمن

سانتی گراد، زمان ۱۵ دقیقه و نسبت اسانس به آب ۱:۱ با مقدار ۲۱/۳۲ درصد ثبت شد. همچنین کمترین میزان گاما-تریپنین (۸/۴۶ درصد) در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد، زمان ۱۰ دقیقه و نسبت اسانس به آب ۰:۱ بدست آمد. نتایج بدست آمده نشان می‌دهند که با کاهش نسبت آب به اسانس درصد گاما-تریپنین بیشتر کاهش پیدا می‌کند.

متغیرهای اثرگذار در میزان گاما-تریپنین موجود در اسانس: میزان گاما-تریپنین در نمونه اولیه اسانس (زمان ۰) برابر با ۲۱/۲۴ درصد می‌باشد. با توجه به نتایج بدست آمده، در همه شرایط میزان این ترکیب در طول اعمال امواج فراصوت نسبت به کنترل کاهش یافته و یا ثابت مانده است (شکل ۶). بر اساس نتایج حاصل بیشترین میزان گاما-تریپنین در دمای ۲۰ درجه



شکل ۶: اثر نسبت آب به اسانس و زمان اعمال امواج فراصوت در دماهای

الف) ۲۰، ب) ۳۰ و پ) ۴۰ درجه سانتی‌گراد بر میزان گاما-ترپین

بهینه‌ترین شرایط جهت رسیدن به بیشترین میزان تیمول مربوط به اسانس شماره ۲ (۷۰/۱۸ درصد)، دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد، نسبت اسانس به آب ۱:۰ و زمان اعمال امواج فراصوت به مدت ۱۰ دقیقه می‌باشد.

به‌طور کلی نتایج نشان می‌دهد که اعمال امواج فراصوت باعث کاهش میزان درصد دو ترکیب پاراسیمن و گاما-ترپین و به همان میزان افزایش درصد تیمول در مخلوط اسانس می‌شود (جدول ۳).

جدول ۳: میزان درصد ترکیبات تیمول، پاراسیمن و گاما-تریپنین پس از اعمال امواج فراصوت و شرایط مختلف در مقایسه با نمونه اسانس اولیه

شماره اسانس	تیمول	گاما-تریپنین	پاراسیمن	شماره اسانس	تیمول	گاما-تریپنین	پاراسیمن
کنترل	۴۴/۳۷	۲۱/۲۴	۲۹/۸۰	۱۴	۴۸/۲۹	۱۹/۲۶	۲۸/۱۵
۱	۵۵/۴۶	۱۴/۰۲	۲۶/۵۹	۱۵	۴۸/۴۴	۱۹/۰۶	۲۸/۰۶
۲	۷۰/۱۸	۸/۴۶	۱۷/۳۳	۱۶	۴۶/۳۳	۲۰/۱۷	۲۹/۴۷
۳	۶۰/۴۷	۱۲/۸۷	۲۱/۶۸	۱۷	۴۷/۹۴	۱۹/۳۷	۲۸/۶۰
۴	۵۳/۳۶	۱۶/۵۰	۲۶/۳۶	۱۸	۴۶/۳۷	۲۰/۲۱	۲۸/۹۴
۵	۵۱/۱۸	۱۷/۹۳	۲۷/۲۷	۱۹	۴۶/۶۷	۱۹/۸۵	۲۸/۸۴
۶	۴۴/۶۳	۲۱/۳۳	۲۹/۶۶	۲۰	۴۶/۸۵	۲۰/۱۴	۲۸/۹۵
۷	۵۲/۱۸	۱۶/۴۶	۲۴/۳۹	۲۱	۴۵/۵۹	۲۰/۴۰	۲۸/۸۰
۸	۵۲/۹۴	۱۷/۷۰	۲۴/۶۵	۲۲	۴۵/۹۲	۲۰/۰۳	۲۹/۵۰
۹	۴۷/۳۲	۲۰/۱۸	۲۸/۳۳	۲۳	۴۵/۸۱	۱۹/۸۹	۲۷/۵۵
۱۰	۴۶/۹۵	۱۹/۶۲	۲۸/۸۵	۲۴	۴۶/۴۶	۲۰/۳۸	۲۸/۹۰
۱۱	۴۶/۶۷	۲۰/۲۳	۲۹/۰۴	۲۵	۴۴/۹۱	۲۰/۸۹	۲۹/۸۰
۱۲	۴۵/۸۰	۲۰/۲۸	۲۸/۴۱	۲۶	۴۹/۵۶	۱۸/۰۹	۲۴/۹۷
۱۳	۴۷/۳۳	۱۹/۴۷	۲۷/۵۹	۲۷	۴۶/۰۹	۲۰/۲۸	۲۹/۱۰

جدول ۴: مقایسه ترکیبات اسانس‌هایی که بیشترین تغییر در میزان تیمول را داشته‌اند با نمونه کنترل

نام ترکیب	شاخص بازداری (RI)	درصد (%)								
		کنترل	۱	۲	۳	۴	۵	۷	۸	
۱	<i>α</i> -Thujene	۹۲۶	۰/۱۹	۰/۱۲	۰/۰۷	۰/۱۲	۰/۱۶	۰/۱۶	۰/۱۶	۰/۱۴
۲	<i>α</i> -Pinene	۹۳۳	۰/۳۰	۰/۲۰	۰/۱۲	۰/۲۰	۰/۲۶	۰/۲۵	۰/۲۶	۰/۲۴
۳	Camphene	۹۴۸	۰/۰۵	۰/۰۴	۰/۰۲	۰/۰۴	۰/۰۵	۰/۰۴	۰/۰۵	۰/۰۴
۴	<i>β</i> -Pinene	۹۷۷	۱/۲۹	۰/۹۵	۰/۶۱	۱/۰۱	۱/۱۷	۱/۱۶	۱/۲۰	۱/۱۰
۵	<i>β</i> -Myrcene	۹۸۸	۰/۵۶	۰/۳۵	۰/۲۱	۰/۳۴	۰/۴۵	۰/۴۷	۰/۴۷	۰/۴۵
۶	<i>δ</i> -3-Carene	۱۰۱۰	۰/۰۵	tr	tr	۰/۰۳	tr	tr	۰/۰۴	۰/۰۴
۷	<i>α</i> -Terpinene	۱۰۱۶	۰/۱۶	tr	۰/۰۷	۰/۱۰	tr	tr	۰/۱۲	۰/۱۲
۸	<i>p</i> -Cymene	۱۰۲۶	۲۹/۸۰	۲۶/۵۹	۱۷/۳۳	۲۱/۶۸	۲۶/۳۶	۲۷/۲۷	۲۴/۳۹	۲۴/۶۵
۹	<i>β</i> -Phellandrene	۱۰۲۹	۰/۴۳	tr	۰/۰۴	۰/۰۲	tr	۰/۰۱	tr	tr
۱۰	<i>γ</i> -Terpinene	۱۰۶۰	۲۱/۲۴	۱۴/۰۲	۸/۴۶	۱۲/۸۷	۱۶/۵۰	۱۷/۹۳	۱۶/۴۶	۱۷/۷۰
۱۱	<i>α</i> -Terpinolene	۱۰۸۷	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۲	۰/۰۲	tr	tr	۰/۰۱	۰/۰۱
۱۲	cis-4-Thujanol	۱۰۹۷	۰/۰۸	۰/۰۵	۰/۰۴	۰/۰۵	۰/۰۶	۰/۰۷	۰/۰۷	۰/۰۷
۱۳	Camphor	۱۱۴۶	۰/۰۵	۰/۰۱	۰/۰۳	۰/۰۳	tr	tr	tr	۰/۰۱
۱۴	Isomenthone	۱۱۵۳	۰/۰۷	tr	tr	tr	tr	tr	۰/۰۱	۰/۰۱
۱۵	Menthol	۱۱۷۲	۰/۱۱	۰/۱۲	۰/۰۶	۰/۰۴	۰/۰۷	۰/۰۷	۰/۰۶	۰/۱۰
۱۶	4-Terpineol	۱۱۷۶	۰/۴۷	tr	۰/۴۹	tr	۰/۳۹	۰/۳۷	۰/۱۴	۰/۰۷
۱۷	<i>α</i> -Terpineol	۱۱۹۰	۰/۰۷	۰/۰۳	۰/۱۲	۰/۰۲	۰/۱۰	۰/۰۸	tr	۰/۰۳
۱۸	<i>m</i> -Thymol	۱۲۸۲	۰/۰۴	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
۱۹	Thymol	۱۲۹۴	۴۴/۳۷	۵۵/۴۶	۷۰/۱۸	۶۰/۴۷	۵۳/۳۶	۵۱/۱۸	۵۲/۱۸	۵۲/۹۴
۲۰	Carvacrol	۱۲۹۵	۰/۰۸	۰/۵۲	۰/۰۱	۰/۷۵	۰/۱۲	۰/۱۰	۰/۶۲	۰/۰۱
۲۱	<i>p</i> -Thymol	۱۲۹۹	۰/۲۳	tr	۰/۱۵	۰/۰۱	tr	tr	۰/۰۱	۰/۰۹
۲۲	Apiol	۱۶۲۲	۰/۰۳	۰/۰۳	۰/۰۵	۰/۰۴	۰/۰۴	۰/۰۳	۰/۰۴	۰/۰۴

جدول ۴ به مقایسه ۲۲ ترکیب شناسایی شده در نمونه اسانس‌هایی که بیشترین تغییر در میزان تیمول را داشته‌اند (۱ الی ۵، ۷ و ۸) پرداخته است. همانطور که در بخش مقدمه و شکل ۱ بیان شد، بیوستنز تیمول در گیاه آویشن بسته به حضور گاما-ترپین و پارا-سیمن دارد (Poulose and Croteau, 1978). بنابراین، گاما-ترپین از ژرانیل دی‌فسفات و طی مراحل مختلف و در نهایت توسط آنزیم *vtTPS1* تولید و طی واکنش آروماتیزاسیون به پارا-سیمن و در نهایت با هیدروکسیلاسیون به تیمول تبدیل می‌شود (Crocoll, 2011). لذا با توجه به نتایج بدست آمده در این پژوهش، به نظر می‌رسد با اعمال امواج فراصوت در شرایط بهینه، توانسته‌ایم مشابه مسیر بیوستنزی گیاه، در مخلوط پیچیده ترکیبات اسانسی و در شرایط آزمایشگاهی، ترکیب ارزشمند تیمول را از گاما-ترپین بدست آوریم و مقدار این ترکیب را در اسانس آویشن از حدود ۴۴ درصد به بیش از ۷۰ درصد افزایش دهیم. بنابراین نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که بر خلاف ادعای برخی مطالعات قبلی، اعمال امواج اولتراسونیک بعد از استخراج اسانس، می‌تواند طی واکنش‌های شیمیایی، درصد ترکیبات اسانسی را تغییر دهد.

### بحث

در طول تاریخ از گیاه آویشن باغی به عنوان دارویی موثر در درمان بیماری‌های تنفسی، به‌ویژه سرفه مزمن، برونشیت و آسم و همچنین مشکلات عروقی، بیماری‌های دستگاه اداری، دندان درد، سوء هاضمه و عفونت‌های مزمن استفاده شده است (Hossain et al., 2022). تیمول به عنوان اصلی‌ترین ماده موثره آویشن می‌باشد و مطالعات متعددی نقش مستقیم ترکیب تیمول را در اکثر اثرات دارویی این گیاه به اثبات رسانده‌اند (Escobar et al., 2020). در صنعت داروسازی از اسانس آویشن جهت تولید

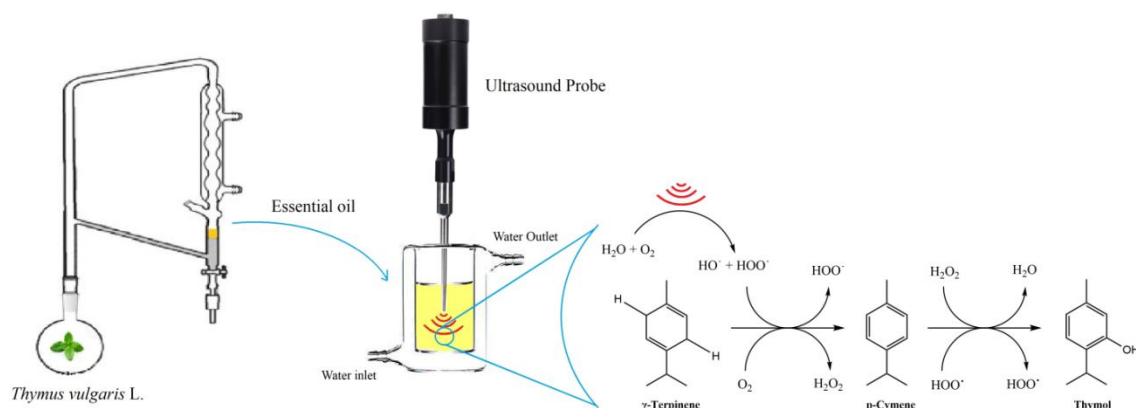
محصولات متنوعی که اکثراً مرتبط با درمان بیماری‌های عفونی و تنفسی هستند تولید می‌شوند (Hossain et al., 2022). لذا درصد ماده موثره تیمول در اسانس آویشن یکی از شاخص‌های اصلی کیفیت آن در صنعت داروسازی می‌باشد و طبق مطالعات صورت گرفته هر چه میزان آن بالاتر باشد اثرات درمانی بهتری بدست می‌آید (Kachur and Suntres, 2020). مطالعات متعددی اثرات ضد میکروبی، ضداسایشی، ضد برونشیت و ضد انگل این ترکیب را اثبات کرده‌اند. همچنین داروها و مکمل‌های بسیاری در جهان تولید می‌شوند که حاوی این ترکیب با ارزش هستند. طبق مطالعات صورت گرفته، افزایش میزان آن در اسانس، سبب افزایش اثرات دارویی مذکور می‌شود (Kowalczyk et al., 2020). لذا افزایش عملکرد تولید تیمول در گیاه و یا در فرآیند استخراج اسانس آویشن حائز اهمیت فراوانی است.

تاکنون تحقیقات بسیاری جهت معرفی روش‌های جدید استخراج اسانس گیاهان دارویی، با هدف افزایش بازده استخراج، عدم تخریب ترکیبات حساس و بخصوص افزایش میزان مواد موثره، انجام شده است (Jafarazad et al., 2019; Ramak et al., 2019). اخیراً استفاده از تکنیک امواج فراصوت جهت افزایش بازده اسانس گیری رایج شده است. در مطالعات قبلی، مشخص شد که ترکیب اسانس تقطیر شده به کمک فراصوت با ترکیب اسانس تقطیر شده با روش‌های معمول متفاوت است. نویسندگان این مطالعات علت این تغییرات را اثر فیزیکی امواج فراصوت بر فرآیند استخراج و افزایش تراوایی برخی ترکیبات از ساختارهای ترشحي گیاهان نسبت دادند (Pingret et al. 2013). اما امواج فراصوت می‌توانند باعث انجام واکنش‌هایی نظیر ایزومریزاسیون، اکسیداسیون و پلیمریزاسیون شوند (McKenzie et al., 2019). در سال ۲۰۱۹ مطالعه ای در راستای بررسی

( $\text{HOO}^\cdot$ ) تبدیل و در ادامه سبب انجام واکنش‌های اکسایشی نظیر آروماتیک شدن ۱،۴-سیکلودی‌ان و هیدروکسیلاسیون حلقه بنزن شود (Yamada et al., 2019; Baschieri et al., 2016). بنابراین به‌طور خلاصه مکانیزم پیشنهادی می‌تواند شامل تولید رادیکال هیدروکسیل و رادیکال هیدروپروکسیل در حضور اکسیژن، سپس اکسایش گاما-تریپنین در حضور رادیکال هیدروپروکسیل و تبدیل آن به پارا-سیمن و در نهایت هیدروکسیلاسیون پارا-سیمن به تیمول در حضور رادیکال هیدروپروکسیل باشد (شکل ۷). با توجه به اینکه اسانس مورد استفاده در این پژوهش دارای رطوبت (۵ درصد) بوده است. لذا میزان کمی آب در نمونه‌های با نسبت ۱:۰ از اسانس و آب وجود داشته است و مکانیزم تولید رادیکال آزاد هیدروکسیل ( $\text{OH}^\cdot$ ) از آب و اکسیژن و بر اثر امواج فراصوت در این موارد نیز پیشنهاد می‌شود. البته با توجه به نقش پارامترهای مختلف، از جمله وجود سایر ترکیبات در اسانس، انجام مطالعات بیشتر و بررسی واکنش تبدیل گاما-تریپنین و پارا-سیمن به تیمول، خارج از مخلوط پیچیده اسانسی، در دستور مطالعات بعدی می‌باشد.

اثر امواج التراسونیک بر روی ترکیب درصد اسانس برخی گیاهان دارویی، نظیر بادرنجبویه، ریحان، بابونه، زوفا، رزماری، نعناع فلفلی و مرزنجوش در حلال هگزان و متانول صورت گرفت (Kowalski et al., 2019). نتایج این مطالعه نشان داد که اعمال امواج فراصوت بر اسانس‌های مذکور در محیط هگزان و متانول اثر قابل ملاحظه‌ای بر روی ترکیب درصد ترکیبات موثره این اسانس‌ها نداشته است. اما نتایج پژوهش حاضر نشان داد که اعمال امواج فراصوت به اسانس گیاه آویشن باغی، در محیط آبی و همچنین به صورت خالص، سبب تغییر ترکیب درصد اسانس می‌شود. به طوری که در شرایط بهینه شاهد افزایش میزان تیمول به عنوان ماده موثره اصلی و کاهش دو ترکیب پارا-سیمن و گاما-تریپنین هستیم. لذا در ادامه به بحث در رابطه با چگونگی اثر امواج بر روی ترکیبات اسانس آویشن و مکانیزم آن می‌پردازیم.

مطالعات پیشین اثبات می‌کنند که امواج فراصوت در محیط‌هایی که دارای آب و اکسیژن هستند سبب تولید رادیکال آزاد هیدروکسیل ( $\text{OH}^\cdot$ ) می‌شود (Miyaji et al., 2017). رادیکال هیدروکسیل می‌تواند در حضور اکسیژن به رادیکال هیدروپروکسیل



شکل ۷: مکانیزم پیشنهادی تبدیل گاما-تریپنین و پارا-سیمن به تیمول در اثر اعمال امواج فراصوت

می‌توان به چند مورد محدود اشاره کرد. برای مثال، در سال ۲۰۱۱ آشنمن و همکارانش طی یک واکنش

در رابطه با واکنش‌های مشابه، که با هدف سنتز تیمول از پارا-سیمن و گاما-تریپنین طراحی شدند،

ارزش این اسانس به مراتب بیشتر شده است.

### نتیجه‌گیری نهایی

نتایج بدست آمده نشان می‌دهد که امواج فراصوت در محیط دارای آب، اکسیژن و اسانس آویشن باغی، سبب تولید رادیکال آزاد هیدروکسیل و در ادامه سبب واکنش‌هایی در راستای تولید ترکیب تیمول از پیش سازهای بیوسنتتیک خود، یعنی گاما-ترپینن و پاراسیمین می‌شود. با بهینه سازی شرایط دمایی، زمانی و نسبت‌های مختلف آب به اسانس، مشخص شد که میزان تیمول در همه شرایط افزایش پیدا می‌کند و البته بیشترین میزان ترکیب تیمول با ۷۰/۱۸ درصد، در اعمال امواج فراصوت در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد، زمان ۱۰ دقیقه و نسبت اسانس به آب ۰:۱ بدست آمد. بنابراین ما در این مطالعه موفق شدیم تنها با اعمال امواج فراصوت به مخلوط پیچیده اسانس آویشن، ماده موثره تیمول را از حدود ۴۴ درصد به بیش از ۷۰ درصد افزایش دهیم. نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که امواج فراصوت علاوه بر کمک به افزایش راندمان استخراج اسانس از بافت گیاهی می‌تواند با تحریک واکنش‌های رادیکالی و اکسایشی، سبب تغییر در ماهیت و نسبت ترکیبات فیتوشیمیایی در اسانس گردد.

### سپاسگزاری

بدینوسیله از همکاری و حمایت‌های دانشگاه آزاد اسلامی و دانشگاه شاهد تقدیر و تشکر می‌گردد.

رادیکالی، ترکیب پاراسیمین را از افزودن رادیکال هیدروکسیل (OH<sup>·</sup>) به ترکیب گاما-ترپینن و پس از حذف اتم هیدروژن از گروه‌های CH<sub>2</sub> حلقه سیکلوهگزادی آن، با راندمان مولی ۱۳/۶ درصد، سنتز کرد (Aschmann et al., 2011). فیلیس و گیس در سال ۱۹۲۰ ترکیب تیمول را طی چند مرحله (نیتراسیون، احیای گروه نیترو، سولفوناسیون، هیدرولیز و ذوب قلیایی) از پاراسیمین سنتز کردند (Phillips and Gibbs, 1920). در صورتی که ما در این مطالعه موفق شدیم تنها با اعمال امواج فراصوت به مخلوط پیچیده اسانس آویشن ترکیب تیمول را از پیش سازهای بیوسنتتیک خود، یعنی گاما-ترپینن و پاراسیمین تولید کنیم و مقدار آن را از حدود ۴۴ درصد به بیش از ۷۰ درصد افزایش دهیم.

طبق مطالعات قبلی افزایش ماده موثره تیمول در اسانس آویشن تاثیر مستقیم در افزایش میزان اثرات دارویی این اسانس دارد (Kowalczyk et al., 2020). به طوری که طبق گزارش گان و همکارانش، اثر آنتی‌بیوتیکی تیمول با افزایش دوز و میزانش در اسانس افزایش می‌یابد (Gan et al., 2023). همچنین در مطالعه‌ای دیگر اثبات شد که اثر ضد سرطانی تیمول علیه سلول‌های سرطانی گلیوبلاستوما بدخیم انسانی U-87 وابسته به دوز و غلظت تیمول است (Qoorchi Moheb Seraj, et al., 2022). لذا با توجه به دستاورد این پژوهش مبنی بر افزایش بیش از ۲۵ درصدی میزان این ترکیب در اسانس آویشن می‌توان انتظار داشت که اثرات بیولوژیک و دارویی به طبع آن

### References

- Amoozegaran, A., Dehghan, H., Homami, S.S., and Hashemi, S.A. 2022. Efficacy of an edible coating, containing thyme essential oil, to control *Fusarium oxysporum* and the quality of tomato fruits. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 16(5): 3760-3767.
- Aschmann, S.M., Arey, J., and Atkinson, R. 2011. Formation of p-cymene from OH<sup>+</sup> γ-terpinene: H-atom abstraction from the cyclohexadiene ring structure. *Atmospheric Environment*, 45(26): 4408-4411.

- Badrkhani, N., Khajenoori, M., and Haghghi Asl, A. 2013. Subcritical water extraction of thymol from ajowan seeds by Taguchi experimental design. *Applied Chemistry*, 7(25): 51-58.
- Baschieri, A., Amorati, R., Valgimigli, L., and Sambri, L. 2019. 1-methyl-1, 4-cyclohexadiene as a traceless reducing agent for the synthesis of catechols and hydroquinones. *The Journal of Organic Chemistry*, 84(21): 13655-13664.
- Commission, B. P. 2008. *British pharmacopoeia 2009*: Stationery Office (UK).
- Crocoll, C. 2011. Biosynthesis of the phenolic monoterpenes, thymol and carvacrol, by terpene synthases and cytochrome P450s in oregano and thyme. Jena, Friedrich-Schiller-Universität Jena, Diss., 2011.
- Darabad, A. H., Rahimi, M., and Rafati, H. 2022. Continuous hydrodistillation-ultrasonication flow batch-mode operation system to enhance essential oil extraction from *Satureja khuzistanica* and evaluation of in vitro anti-inflammatory activity. *Industrial Crops and Products*, 188: 115540.
- Dehghan, H., Sarrafi, Y., and Salehi, P. 2015. Chemical composition of the essential oil of *Convolvulus persicus* L. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 18(3): 592-595.
- Ekoh, S. N., Akubugwo, E. I., Ude, V. C., and Edwin, N. 2014. Anti-hyperglycemic and anti-hyperlipidemic effect of spices (*Thymus vulgaris*, *Murraya koenigii*, *Ocimum gratissimum* and *Piper guineense*) in alloxan-induced diabetic rats. *International Journal of Biosciences*, 4(2): 179-187.
- Escobar, A., Perez, M., Romanelli, G., and Blustein, G. 2020. Thymol bioactivity: a review focusing on practical applications. *Arabian Journal of Chemistry*, 13(12): 9243-9269.
- Gan, C., Langa, E., Valenzuela, A., Ballester, D., and Pino-Otín, M. R. 2023. Synergistic activity of thymol with commercial antibiotics against critical and high WHO priority pathogenic bacteria. *Plants*, 12(9), 1868.
- Hammoudi Halat, D., Krayem, M., Khaled, S., and Younes, S. 2022. A focused insight into thyme: Biological, chemical, and therapeutic properties of an indigenous Mediterranean herb. *Nutrients*, 14(10): 2104.
- Hossain, M.A., Alrashdi, Y.B.A., and Al Touby, S. 2022. A review on essential oil analyses and biological activities of the traditionally used medicinal plant *Thymus vulgaris* L. *International Journal of Secondary Metabolite*, 9(1), 103-111.
- Hoseini, S. M., and Yousefi, M. 2019. Beneficial effects of thyme (*Thymus vulgaris*) extract on oxytetracycline-induced stress response, immunosuppression, oxidative stress and enzymatic changes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Nutrition*, 25(2): 298-309.
- Jafarazad, J., Sadeghi, B., Moslemin, M. H. 2019. Study on the effect of extraction method on the quantity, quality, chemical composition and antioxidant nature of *Ferulago angulata* (Schlecht) Boiss. essential oil. *Ecophytochemistry Journal of Medicinal Plants*, 7(3): 28-42.
- Kachur, K., and Suntres, Z. 2020. The antibacterial properties of phenolic isomers, carvacrol and thymol. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(18), 3042-3053.
- Khaje Nouri, M., and Haghghiye Asl, A. 2016. Review of effective parameters on extraction of thymol from *Trachyspermum ammi* (*T. ammi*) seeds. *Applied Chemistry*, 11(38): 151-164.
- Khanjani, R., Dehghan, H., and Sarrafi, Y. 2021. Antifungal edible tomato coatings containing ajwain, neroli, and Rosemary essential oils. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15(6): 5139-5148.
- Kowalczyk, A., Przychodna, M., Sopata, S., Bodalska, A., and Fecka, I. 2020. Thymol and thyme essential oil—new insights into selected therapeutic applications. *Molecules*, 25(18), 4125.
- Kowalski, R., Gagoś, M., Kowalska, G., Pankiewicz, U., Sujka, M., Mazurek, A., and Nawrocka, A. 2019. Effects of ultrasound technique on the composition of different essential oils. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, 6782495.



- Kowalski, R., and Wawrzykowski, J. 2009. Effect of ultrasound-assisted maceration on the quality of oil from the leaves of thyme *Thymus vulgaris* L. Flavour and Fragrance Journal, 24(2): 69-74.
- McKenzie, T.G., Karimi, F., Ashokkumar, M., and Qiao, G.G. 2019. Ultrasound and sonochemistry for radical polymerization: sound synthesis. Chemistry—A European Journal, 25(21): 5372-5388.
- Miyaji, A., Kohno, M., Inoue, Y., and Baba, T. 2017. Hydroxyl radical generation by dissociation of water molecules during 1.65 MHz frequency ultrasound irradiation under aerobic conditions. Biochemical and Biophysical Research Communications, 483(1): 178-182.
- Noce, A., Di Lauro, M., Di Daniele, F., Pietroboni Zaitseva, A., Marrone, G., Borboni, P., and Di Daniele, N. 2021. Natural bioactive compounds useful in clinical management of metabolic syndrome. Nutrients, 13(2), 630.
- Phillips, M., and Gibbs, H. 1920. A Synthesis of thymol from p-cymene. Industrial & Engineering Chemistry, 12(8): 733-734.
- Pingret, D., Fabiano-Tixier, A.S. and Chemat, F. 2013. Degradation during application of ultrasound in food processing: a review. Food Control, 31(2): 593-606.
- Poulose, A., and Croteau, R. 1978. Biosynthesis of aromatic monoterpenes: Conversion of  $\gamma$ -terpinene to p-cymene and thymol in *Thymus vulgaris* L. Archives of Biochemistry and Biophysics, 187(2): 307-314.
- Prasanth Reddy, V., Ravi Vital, K., Varsha, P.V., and Satyam, S. 2014. Review on *Thymus vulgaris* traditional uses and pharmacological properties. Medicinal and Aromatic Plants, 3(164): 2167-0412.
- Qoorchi Moheb Seraj, F., Heravi-Faz, N., Soltani, A., Ahmadi, S.S., Shahbeiki, F., Talebpour, A., Afshari, A.R., Ferns, G.A. and Bahrami, A., 2022. Thymol has anticancer effects in U-87 human malignant glioblastoma cells. Molecular biology reports, 49(10), pp.9623-9632.
- Ramak, P., Karimian, V., Sepahvand A. 2019. Effects of supercritical fluid and distillation extraction methods on the yield, antioxidant and antifungal activities of *Artemisia persica* Boiss essential oil. Ecophytochemistry journal of Medicinal Plants, 7(2): 26-39.
- Saeed Masoum, N.G. 2016. Potentiality of multivariate calibration methods in assessment of the components responsible for antioxidant activity of medicinal herbs using gas chromatography-mass spectrometry technique. Applied Chemistry, 11(39): 165-186.
- Sonboli, A., Bahadori, M.B., Dehghan, H., Aarabi, L., Savehdroudi, P., Nekuei, M., Pournaghi N., and Mirzania, F. 2013. Chemotaxonomic importance of the essential-oil composition in two subspecies of *Teucrium stocksianum* Boiss. From Iran. Chemistry & Biodiversity, 10(4): 687-694.
- Villanueva Bermejo, D., Angelov, I., Vicente, G., Stateva, R.P., Rodriguez García-Risco, M., Reglero, G., Ibañez, E., and Fornari, T. 2015. Extraction of thymol from different varieties of thyme plants using green solvents. Journal of the Science of Food and Agriculture, 95(14): 2901-2907.
- Yamada, M., Karlin, K.D., and Fukuzumi, S. 2016. One-step selective hydroxylation of benzene to phenol with hydrogen peroxide catalysed by copper complexes incorporated into mesoporous silica-alumina. Chemical Science, 7(4): 2856-2863.