# ارزیابی و مقایسه کمیت و کیفیت ترکیبات مواد موثره گیاه دارویی *Zataria multiflora* و دو گونه از جنس *Thymus* در شرایط یکنواخت محیطی

رویا مطلبی*[۱]، سعد اله هوشمند[۲]، بهروز شیران[۲]، حسین فلاحی[۳]، رودابه راوش[٤]

[۱]دانشجوی دکتری، گروه اصلاح نباتات، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

[۲]استاد، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

[۳]استادیار،گروه زیست‌شناسی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران

[٤]استادیار، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

تاریخ دریافت: ۹٦/۰۹/۰٤ تاریخ پذیرش: ۹۷/۱۰/۱۸

**چکیده**

گیاهان دارویی *Thymus* و *Zataria* به دلیل داشتن متابولیت های ثانویه از جمله تیمول و کارواکرول، به صورت گسترده مصرف داروئی دارند. این تحقیق به منظور ارزیابی و مقایسه کمیت و کیفیت ماده موثره سه ژنوتیپ گونه آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*)، آویشن دنایی (*Thymus daenensis*)و آویشن آرمنیاکوس(*Thymus armeniacus*)در شرایط یکنواخت محیطی در دانشگاه شهرکرد انجام گردید. در این راستا در شرایط گلدانی و در مرحله ۵۰ درصد گلدهی سرشاخه های گلدار هر ژنوتیپ از بوته های دو ساله و از فاصله پنج سانتی متری سطح خاک برداشت و با استفاده از روش فضای فوقانی- کروماتوگرافی- طیف سنجی جرمی، آنالیز ترکیب‌های ماده موثره انجام شد. نتایج نشان داد غالب ترکیب‌های شناسایی شده از نوع ترکیب های منوترپنی بود. میانگین میزان تیمول و کارواکرول سه ژنوتیپ *Zataria multiflora* بیش از گونه‌های *Thymus* بود. ترکیبات آلفا-پینن و بتا-پینن تنها در سه گونه آویشن شیرازی مشاهده گردید. ترکیباتی همچون آلفا-ترپینول، لینالول و ترپینولن گونه آویشن شیرازی بیش از دو گونه *Thymus* می‌باشد. در مقابل ترکیبات بتا-بیسابولن، آلفا-ترپینن و پاراسمین تنها در گونه های *Thymus* وجود داشتند و در سه ژنوتیپ آویشن شیرازی دیده نشد.

***واژه‌های کلیدی:*** آویشن، اسانس، تنوع طبیعی، مواد موثره، *Thymus armeniacus*، *Thymus daenensis*، *Zataria multiflora*

*نویسنده مسئول: roya.motallebi@gmail.com

**مقدمه**

در طول تاریخ انسان محصولات طبیعی حاصل از گیاهان را به‌منظور تغذیه، حفظ سلامتی و یا مقابله با بیماری بطور گسترده‌ای مورد استفاده قرار داده است. در حال حاضر، دو سوم از جمعیت جهان بر درمان با طب سنتی و استفاده از عصاره‌های خام گیاهی تاکید دارند. از طرف دیگر داروسازی صنعتی هنوز در طبیعت ریشه دارد و تقریبا دو سوم از ۹۰۰ مولکول دارویی ساخته شده بین سال‌های ۱۹۸۱ و ۲۰۱۰ شبیه یا برگرفته از ترکیب‌های طبیعی هستند. به عبارت دیگر این داروها الگو گرفته از ترکیب‌های طبیعی یا مشتقات آنها می‌باشند (Pateraki et al., 2015).

جنس آویشن (*Thymus*) متعلق به تیره نعنا (Lamiaceae) و راسته Lamiales می‌باشد. در ایران ۱۸ گونه آویشن وجود دارد که برخی از آنها انحصاری ایران می‌باشند (Makizadehtafti et al., 2010). گیاهانی در جنس‌ها و خانواده‌های دیگر همچون *Zataria multiflora* نیز در ایران به‌عنوان آویشن شناخته می‌شوند که احتمالا دلیل این نامگذاری وجود مواد موثره و عطر و طعم مشابه در این گیاهان می‌باشد (Ghahraman, 1988). اهمیت داروئی هر گیاهی ناشی از ترکیبات مواد موثره آن می‌باشد. در آویشن مهم‌ترین ترکیبات اسانس شامل تیمول و کارواکرول می‌باشند و بسته به گونه شرایط محیطی و زمان برداشت این دو ماده به ترتیب از ۳۰ تا ۷۰ درصد و از ۱۵ تا ۳۰ درصد اسانس راتشکیل می‌دهند. همچنین ترکیباتی همچون تانن، فلاونوئید، ساپونین و نیز مواد تلخ در اسانس آویشن شناسایی شده اند (Deans, 1993؛ Bisset, 2001؛ Yazdani et al., 2006). در بررسی تاثیر زمان برداشت بر میزان اسانس و مواد موثره (Karimi et al., 2017)، مرحله ۱۰۰ درصد گلدهی بهترین زمان برای دستیابی به کمیت بیشتر اسانس بوده است، در حالی که بیشترین میزان تیمول (٦٢/٤٣) و کارواکرول (٤٥/٢١) مربوط به مرحله شروع گلدهی مشاهده گردیده است. هر چند در مطالعه‌ای بر روی گیاه آویشن دنایی، بالاترین درصد اسانس در مرحله گلدهی کامل بدست آمد (Hadipanah et al., 2011). علاوه بر مراحل مختلف برداشت، روش‌های مختلف اسانس‌گیری نیز بر بازده اسانس آویشن تأثیر معنی‌داری دارد (Sefidkon et al., 2009). بررسی تاثیر سه روش تقطیر شامل آب، آب و بخار، بخار آب بر میزان اسانس حاصل از اندام‌های هوایی آویشن کوهی درسه مرحله رشد گیاه (قبل از گلدهی، اوایل‌گلدهی، گلدهی کامل) نشان داده است که بیشترین بازده در مرحله گلدهی کامل و روش تقطیر با آب حاصل می گردد (Rahimibidgoli, 1999). مقایسه بین ترکیبات مختلف در گیاه تازه و گیاه خشک شده در دمای محیط و به روش انجماد نشان داده است که به طور معمول خشک کردن کاهش اندکی در این مواد را ایجاد میکند و به جز بتاکاریوفیلین وتیمول مقدار سایر ترکیباتدر گیاه خشک نسبت به گیاه تازه بیشتر بوده است (Venskutonis et al., 1996).

اغلب مطالعات انجام شده بر روی ترکیبات اسانس آویشن شیرازی نشان دهنده آن است که کارواکرول و تیمول اصلی‌ترین ترکیب اسانس می‌باشند (Sajed et al., 2013). در مطالعه علیزاده و شعبانی (Alizadeh and Shabani, 2014) طی آنالیز GC/MAS اسانس آویشن شیرازی ٤٨ ترکیب شناسایی شد که قسمت اعظم آن را کارواکرول با نسبت ٦٣/٥١ درصد و اینالول با نسبت ٥/٧٨ درصد تشکیل می‌داد. محمودی و همکاران (Mahmoodi et al., 2012) گزارش کردند مونوترپن فنولیک کارواکرول با نسبت ٧١/١ درصد و γ-terpinone با نسبت ٧/٣٤ درصد مهم‌ترین ترکیبات اسانس آویشن شیرازی هستند. ساعی و همکاران (Saei et al.,

2010) اسانس آویشن شیرازی از پنج منطقه مختلف ایران را مورد تجزیه و تحلیل قرار دادند. داده های حاصل از GC-MS نشان داد هر چند مهم‌ترین ترکیبات اسانس آویشن‌های مناطق مختلف جغرافیایی تقریبا مشابه بوده است اما مقادیر نسبی این ترکیبات میان گیاهان مناطق مختلف جمع آوری متفاوت بود. در این مطالعه تیمول اصلی‌ترین جزء تشکیل دهنده ترکیبات اسانس در تمامی نمونه‌ها بوده است. در مقایسه‌ای بر روی کمیت و کیفیت ماده موثره گونه *T. daenensis* با استفاده از GC-MS، مشخص شد که مهم‌ترین ترکیبات تشکیل دهنده ماده موثره به ترتیب شامل تیمول، گاماترپینن، پاراسیمن و کارواکرول بودند (Hasani, 2013). همچنین در مطالعه‌ای دیگر (Teimouri, 2011) تیمول،کارواکرول، بورنئول و پاراسیمن به عنوان ترکیبات اصلی ماده موثره گونه *T. daenensis* معرفی شدند. یوسف‌زاده و همکاران (Yosefzadeh et al., 2016) با استخراج اسانس گونه *Thymus armeniacus* در شرایط تنش خشکی ۵۰ درصد و ۷۵ درصد، دریافتند ترکیبات اصلی تشکیل دهنده اسانس این گونه گیاهی به‌ترتیب شامل تیمول، کارواکرول، بتا کاریوفیلن، سینئول، گاماترپینن و پاراسیمن در مرحله ۵۰ درصد تنش خشکی و همچنین تیمول، کارواکرول، بتا کاریوفیلن، سینئول، گاماترپینن و پاراسیمن در مرحله ۷۵ درصد تنش خشکی بودند. کریمی و همکاران (Karimi et al., 2017) با بررسی ترکیبات اسانس دو گونه *Thymus armeniacus* و *Thymus lancifolius* دریافتند که ترکیب‌های آلفا-توجن، بتا-پینن، سابینن، میرسن، آلفا-ترپینن، ترانس-سابینن هیدرات وآلفا -ترپینئول مختص گونه *T. armeniacus* بوده و در گونه T. *lancifolius* دیده نشدند. ترکیبات مواد موثره گیاهان دارویی از جمله آویشن عمده‌ترین عامل در تعیین اثرات آن می‌باشد. این مواد تحت تاثیر شرایط رشد و زمان برداشت قرار می‌گیرد (Yosefzadeh et al., 2016; Karimi et al., 2017). عمده مطالعات صورت پذیرفته بر روی آویشن از طریق نمونه برداری در رویشگاه‌های طبیعی بوده است. با توجه به موارد ذکر شده هدف از این پژوهش، مقایسه مواد موثره آویشن شیرازی، آویشن دنایی و آرمنیاکوس در شرایط یکنواخت رشدی بود.

## مواد و روش‌ها

**تهیه نمونه گیاهان:** مواد گیاهی مورد بررسی در این پژوهش شامل یک ژنوتیپ از گونه *Thymus armeniacus*، یک ژنوتیپ از گونه *Thymus daenensis* و سه ژنوتیپ از گونه *Zataria multiflora* بود. بذور دو گونه*T. armeniacus* و *T. daenensis* از بخش گیاهان دارویی سازمان تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی اصفهان دریافت گردید. این بذور در سینی نشا در بستری با ترکیبی از پیت‌ماس، ماسه و کوکوپیت به نسبت۱:۲:٤ کشت گردیدند و آبیاری همزمان بصورت اسپری سطحی و نشتی از کف انجام شد. پس از رشد مناسب، نشاها جهت رشد رویشی به گلدان منتقل شدند. به منظور تکثیر گیاهان و با هدف یکنواختی کلیه تکرارها، پس از رشد مناسب قلمه‌گیری از یک بوته هر گونه انجام و به تعداد واحد آزمایشی مورد نیاز به گلدان منتقل گردیدند. بوته‌های گونه *Z. multiflora* از سه منطقه شمال شرق، غرب و جنوب شرقی شهرستان آباده استان فارس جمع‌آوری شدند. این بوته ها از لحاظ خصوصیات مرفولوژیکی با هم متفاوت بودند. گیاهان جمع آوری شده به صورت تک بوته به عنوان پایه مادری در گلدان کشت شده و به گلخانه منتقل شدند. سپس به منظور تکثیر گیاهان و با هدف یکنواختی ژنتیکی تکرارها، از ساقه های بوته مادری قلمه‌گیری گردید. قلمه‌ها در جعبه‌های پلاستیکی با ابعاد

۱۵×۴۰×۶۰ سانتی‌متر حاوی بستر ماسه کشت شدند و تا ریشه دار شدن در دمای ۲۰ درجه و سایه با یک لایه پوشش نایلونی جهت حفظ رطوبت و ریشه‌دار شدن قلمه‌ها به مدت ۴۵-۳۰ روز نگهداری شدند. پس از ریشه‌دار شدن قلمه‌ها، به گلدان‌های پلاستیکی با ابعاد ۳۰×۲۵ سانتی‌متر حاوی ترکیب خاک- ماسه- کود حیوانی با نسبت‌های حجمی ۴:۲:۱ منتقل و در گلخانه نگهداری شدند. در سال دوم و در مرحله ۵۰ درصد گلدهی، سرشاخه‌های گلدار هر واحد آزمایشی از ارتفاع پنج سانتی‌متری سطح گلدان برداشت شدند. سپس مخلوط یکنواختی از کلیه واحدهای آزمایشی هر ژنوتیپ جهت آنالیز اجزای مواد موثره مورد استفاده قرار گرفت.

**آنالیز ماده موثره گونه‌های مورد بررسی:** آنالیز ماده موثر گونه‌های مورد بررسی در پژوهشگاه مرکزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اصفهان (خوراسگان) به روی نمونه های تازه برگ و توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC) اجیلنت ۷۸۹۰ و طیف سنج جرمی (MS) اجیلنت ۵۶۷۳ و به روش نمونه برداری از فضای فوقانی (Headspace) انجام شد. ستون HP-5MS (پنج درصد قطبی) به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰,۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه ۰,۲۵ میکرومتر برای جداسازی استفاده شد. دمای آون با ۳ دقیقه توقف در ۴۰ درجه سانتی‌گراد، تا ۷۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۷ درجه سانتی‌گراد در دقیقه با ۵ دقیقه توقف، تا ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۷ درجه سانتی‌گراد در دقیقه و نهایتا تا ۲۹۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۴۰ درجه سانتی‌گراد در دقیقه با ده دقیقه توقف برنامه ریزی گردید. دمای اتاقک تزریق ۲۹۰ درجه سانتی‌گراد و از گاز هلیم با سرعت جریان ۱/۲ میلی‌لیتر بر دقیقه به عنوان گاز حامل استفاده شد. ولتاژ منبع یونیزاسیون طیف سنج جرمی ۷۰ الکترون ولت، دمای منبع یونیزاسیون ۲۳۰ درجه سانتی‌گراد و دمای چهار قطبی ۱۵۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم و روش یونیزاسیون EI انتخاب شد. محدوده‌ی اسکن طیف‌ها از ۵۰ تا ۵۵۰ دالتون تنظیم شد. جهت شناسایی و تایید طیف‌ها، شاخص بازداری (RI) آنها با استفاده از طیف‌های جرمی مخلوط آلکان‌های نرمال محاسبه (Kovats, 1958) و شاخص‌های موجود در کتب مرجع (Adams, 2001) و اطلاعات موجود در کتابخانه‌های Weilly و NIST مورد استفاده قرار گرفت. درصد هر یک از ترکیب‌ها نیز با توجه به سطح زیر منحنی طیف کروماتوگرام بدست آمده از دستگاه GC/MS بدست آمد.

## نتایج

با توجه به نتایج حاصل از تجزیه ماده موثره توسط دستگاه GC/MS، ترکیباتی که بیشترین درصد را حداقل در یک ژنوتیپ داشتند به نحوی که مجموع درصد مواد حداقل به ۸۰ درصد در هر ژنوتیپ برسد انتخاب شدند (جدول ۱، شکل‌های یک تا پنج). در یک دید کلی این اطلاعات نشان می دهد غالب ترکیب های شناسایی شده از نوع ترکیب های منوترپنی بود و ترکیب های او-سیمن، آلفا پینن، گاما-ترپینن، تیمول، آلفا-پینن، پارا-سیمن و ام-سیمن از مهم ترین اجزای تشکیل دهنده ماده موثره ژنوتیپ‌های مورد بررسی بودند. هر چند برای برخی ترکیبات همچون میرسن و ترپینولن دامنه تغییرات محدود و به عبارتی در پنج ژنوتیپ مورد بررسی تقریبا مشابه بود، اما در اغلب مواد موثره بین ژنوتیپ‌ها تفاوت مشاهده گردید. بیشترین مقدار پارا-سیمن(۱۷/۷۰) متعلق به گونه‌ی *T. armeniacus*، گاما-ترپینن (۲۷/۲۴) متعلق به گونه‌ی *T. daenensis*، آلفا-پینن (۱۷/۱۴) متعلق به گونه‌ی *Z. multiflora* (ژنوتیپ ۱) ، تیمول (۱۶/۴۲) و ام- سیمن (۲۰/۵۸) متعلق به گونه‌ی *Z. multiflora* (ژنوتیپ ۲) و او-

سیمن (۲۱/٦۲) متعلق به گونه *Z.multiflora* (ژنوتیپ ۳) مشاهده شد (جدول ۱، شکل‌های یک تا پنج). در بین ترکیب های مورد اشاره ، تنها ترکیبات کامفن، میرسن، ۱و۸- سینئول، گاما- ترپینن، تیمول، بتا- کاریوفیلن، لینالول و ترپینولن در تمام گونه‌ها وجود داشتند و سایر ترکیبات در بعضی گونه‌ها وجود داشتند. وجود و یا عدم وجود هر یک از این ترکیبات و همچنین میزان هر یک از آنها تحت تاثیر نوع گونه تغییر کرده است.

نتایج (جدول ۱، شکل‌های یک تا پنج) نشان می‌دهد از لحاظ تیمول و کارواکرول، به عنوان مواد موثره اصلی دارویی آویشن، هر چند میانگین سه ژنوتیپ گونه آویشن شیرازی (*Z. multiflora*) بیش از دو گونه *Thymus* است، اما این تفاوت قابل ملاحظه نمی باشد. به نحوی که مقدار تیمول در آویشن آرمنیاکوس و دنایی به ترتیب ۱۰/۲٤ و ۱۲/۵۸ درصد مواد موثره را تشکیل داده اند و در آویشن شیرازی دامنه تغییرات این ماده از ۱۱/٤۰ تا ۱٦/٤۲ درصد (میانگین ۱۳/۲۳ درصد) بود. میزان کارواکرول مشاهده شده در تمامی ژنوتیپ های مورد بررسی کم (حدکثر۱/٤۲ درصد در آویشن دنایی) بود. از بین ترکیبات ذکر شده، آلفا- پینن با میانگین ۱۳/۷۲ درصد و بتا-پینن با میانگین ٤/۳۵ درصد ترکیباتی هستندکه تنها در سه ژنوتیپ آویشن شیرازی وجود دارند و در دو گونه *Thymus*دیده نمی شوند. همچنین موادی همچون آلفا-ترپینول ، لینالول و ترپینولن گونه آویشن شیرازی بطور نسبی بیش از دو گونه *Thymus* می‌باشد. در مقابل موادی همچون بتا-بیسابولن، آلفا- ترپینن و پاراسمین تنها در گونه های *Thymus* وجود دارند و در سه ژنوتیپ گونه آویشن شیرازی دیده نمی شوند.

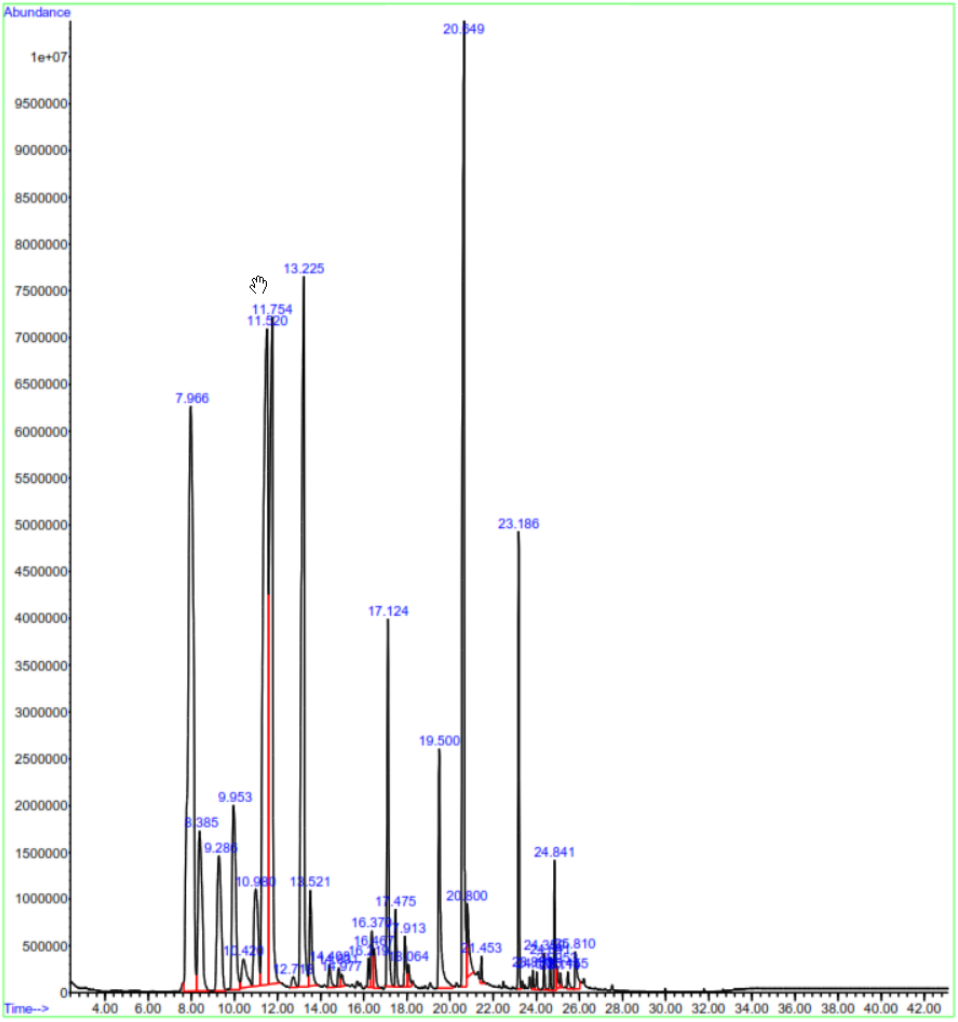
مقایسه بین ترکیبات مواد موثره در سه ژنوتیپ آویشن شیرازی بیانگر تنوع بین آنها می‌باشد(جدول ۱، شکل‌های سه تا پنج). به نوعی که برخی مواد فقط در یک ژنوتیپ آن مشاهده گردید. به عنوان مثال آلفا- توجین (۰/٤۳ درصد)، سابینن (۱/۷۸ درصد) و ام- سیمن (۲۰/۵۸ درصد) فقط در ژنوتیپ دوم مشاهده گردیدند. همچنین بین دو گونه *Thymus* نیز در برخی مواد تفاوت ها قابل ملاحظه می باشد، به نوعی که آلفا- توجین (۵/۸۱ درصد) واو-سیمن (۱۰/۰٤ درصد) تنها در آویشن دنایی دیده می شود و پاراسیمین به میزان ۱۷/۷ درصد تنها در گونه آرمنیاکوس مشاهده گردید.

**بحث**

نتایج این مطالعه نشان دادکه کمیت و کیفیت ترکیبات مواد موثره گونه‌های مورد بررسی تحت تاثیرگونه مورد بررسی قرار می‌گیرد. همچنین مطالعات انجام شده توسط لورنس ( Lawrence, 1993) وشو و لورنس (Shu and Lawrence, 1997) نشان داد که ترکیبات اسانس وابسته به گونه‌های گیاهی، شیموتیپ‌ها و شرایط اقلیمی کشت می‌باشد. این تفاوت ترکیبات همچنین امکان استفاده‌های داروئی مختلف گونه‌های گیاهی مشابه کشت شده در مناطق مختلف جغرافیائی را در برمی‌گیرد (Mohagheghzadeh et al., 2000). کاملاً مشخص است که تفاوت جغرافیایی، تفاوت‌های کولتیواری،مرحله رشدی گیاه، فرآیندهای آماده سازی وفاکتورهای دیگرممکن است ترکیبات اسانس را هم از لحاظ کمی و هم از نظر کیفیت تحت تاثیر قرار دهد (Sajed et al., 2013).

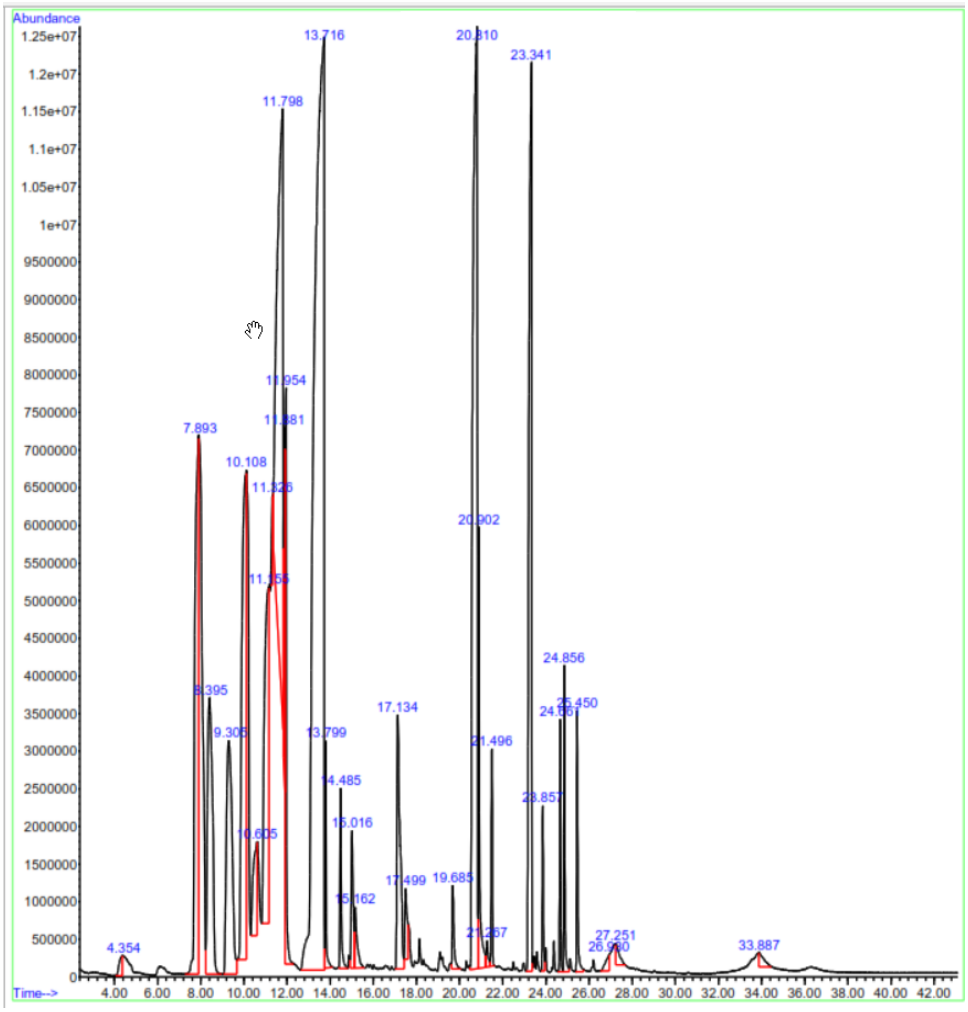
**جدول ۱:** مقایسه ترکیبات مواد موثره آویشن آرمنیاکوس، دنایی و سه ژنوتیپ آویشن شیرازی در شرایط یکنواخت محیطی

| نام ترکیب | شاخص کواتز | درصد ترکیب | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | *Thymus armeniacus* | *Thymus daenensis* | *Zataria multiflora* | | |
| | | | | ژنوتیپ ۱ | ژنوتیپ ۲ | ژنوتیپ ۳ |
| α-Thujene | ۹۲۷ | ۰ | ۵/۸۱ | ۰ | ۰/۴۳ | ۰ |
| Camphene | ۹۴۲ | ۳/۶۶ | ۴/۲۵ | ۰/۵۲ | ۱/۳۰ | ۰/۳۱ |
| Sabinene | ۹۷۰ | ۳/۱۴ | ۴/۰۹ | ۰ | ۱/۷۸ | ۰ |
| Myrcene | ۹۹۵ | ۳/۸۶ | ۶/۴۶ | ۴/۸۸ | ۴/۰۶ | ۴/۲۳ |
| α-Terpinene | ۱۰۱۹ | ۲/۲۸ | ۴/۵۸ | ۰ | ۰ | ۰ |
| o-Cymene | ۱۰۳۲ | ۰ | ۱۰/۰۴ | ۱۸/۹۴ | ۳/۱۶ | ۲۱/۶۲ |
| 1,8-Cineol | ۱۰۳۶ | ۱۲/۴۷ | ۲/۲۲ | ۱/۱۲ | ۱/۷۳ | ۱/۱۶ |
| γ-terpinene | ۱۰۷۳ | ۱۱/۵۵ | ۲۷/۲۴ | ۱۹/۶۲ | ۱۸/۹۲ | ۲۳/۲۲ |
| Borneol | ۱۱۶۷ | ۳/۳۲ | ۲/۴۴ | ۰ | ۰ | ۰ |
| Thymol | ۱۳۰۵ | ۱۰/۲۴ | ۱۲/۵۸ | ۱۱/۸۶ | ۱۶/۴۲ | ۱۱/۴۰ |
| Carvacrol | ۱۳۱۰ | ۰ | ۱/۴۲ | ۰/۸۰ | ۱/۰۰ | ۰/۷۹ |
| β-Caryophyllene | ۱۴۲۸ | ۲/۵۹ | ۷/۷۰ | ۵/۴۶ | ۷/۵۶ | ۵/۵۲ |
| β-bisabolene | ۱۵۰۹ | ۰/۸۶ | ۱/۰۰ | ۰ | ۰ | ۰ |
| α-Pinene | ۹۲۹ | ۰ | ۰ | ۱۷/۱۴ | ۱۰/۰۹ | ۱۳/۸۹ |
| para-Cymene | ۱۰۲۷ | ۱۷/۷۰ | ۱/۱۱ | ۰ | ۰ | ۰ |
| thymolquinone | ۱۲۵۲ | ۲/۷۲ | ۰/۴۵ | ۰ | ۰ | ۰ |
| β-Pinene | ۹۷۲ | ۰ | ۰ | ۴/۸۳ | ۱/۰۱ | ۷/۲۴ |
| Linalool | ۱۱۰۵ | ۰/۱۴ | ۰/۸۱ | ۲/۲۷ | ۲/۳۱ | ۲/۰۴ |
| α-terpineol | ۱۲۰۴ | ۰/۵۲ | ۰ | ۱/۱۳ | ۱/۴۹ | ۱/۴۱ |
| m-Cymene | ۱۰۲۸ | ۰ | ۰/۳۰ | ۰ | ۲۰/۵۸ | ۰ |
| Trans-Sabinenehydrate | ۱۰۸۰ | ۰ | ۰/۶۰ | ۰ | ۱/۷۳ | ۱/۰۸ |
| Terpinolene | ۱۰۹۲ | ۰/۳۰ | ۰/۷۵ | ۰/۹۸ | ۱/۰۹ | ۱/۲۱ |
| (جمع ترکیب‌ها ٪ | | ۸۲/۳۵ | ۹۲/۷۴ | ۸۹/۵۵ | ۹۳/۶۵ | ۹۵/۱۲ |




شکل ۱: کروماتوگراف مواد موثره در ژنوتیپ *Thymus armeniacus*

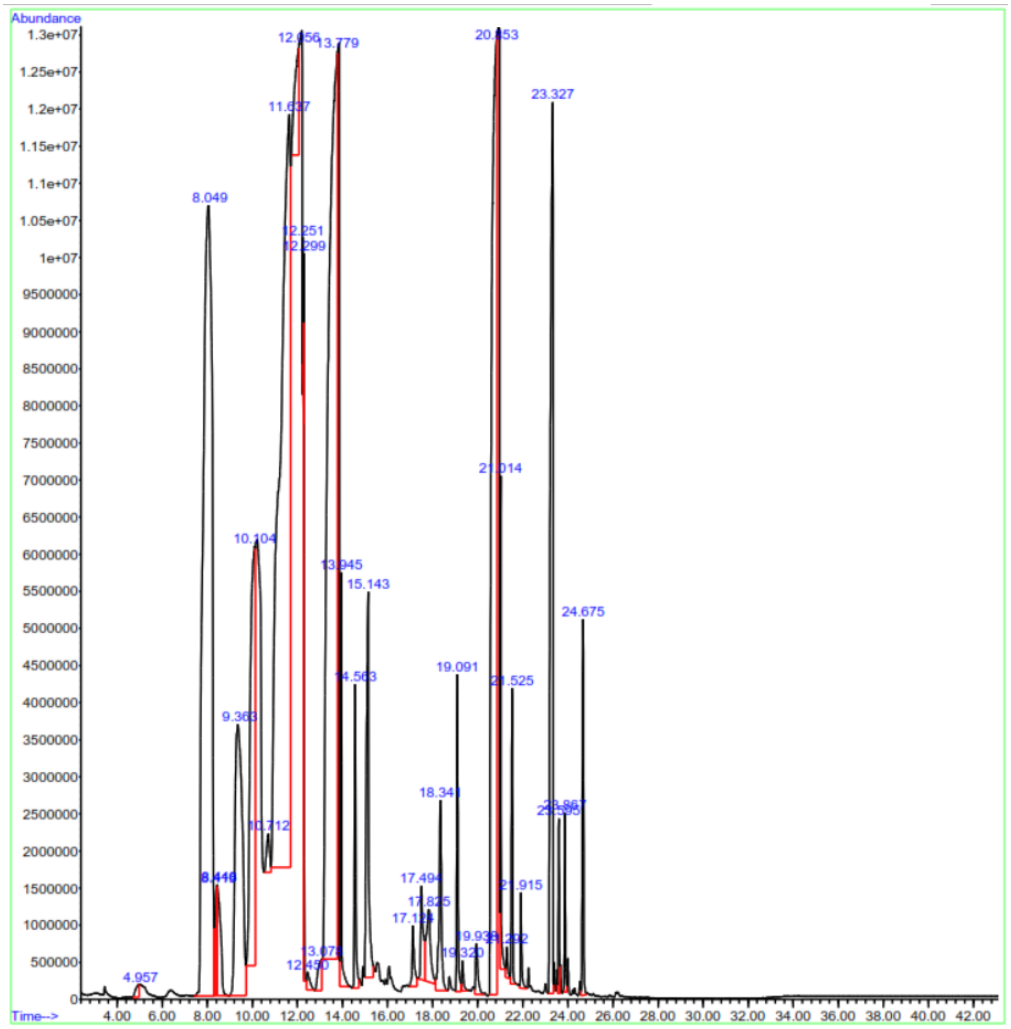
همچنین این سه ژنوتیپ آویشن شیرازی به طور کلی فاقد ترکیب های آلفا- ترپینن، بورنئول، بتا- بیزابولین، پارا- سیمن و تیمولکوئینین می‌باشند. در مطالعه‌ای که ساعی و همکاران (Saei et al., 2010) بر روی گونه‌های مختلف آویشن شیرازی جمع‌آوری شده از پنج منطقه مختلف ایران انجام دادند، تیمول اصلی ترین ترکیب تشکیل دهنده اسانس بود. علیزاده و شعبانی(Alizadeh and Shaabani, 2014)، دهکردی وهمکاران (Dehkordi et al., 2010) گزارش کردند مونوترپن تیمول مهم‌ترین ترکیب اسانس آویشن شیرازی می‌باشند. علی‌پور و اسکندری (Alipour and Eskandari., 2011) اعلام کردند بخش اعظم اسانس آویشن شیرازی جمع‌آوری شده از استان فارس را کارواکرول با نسبت ۷۱/۱ درصد تشکیل می‌دهد. رستگار و همکاران (Rastegar et al., 2011) گزارش کردند تیمول با نسبت ۳۰/۷۲ درصد و کارواکرول با نسبت ۲۹/۹۵ درصد مهم‌ترین ترکیبات اسانس آویشن شیرازی می‌باشند.




**شکل ۲:** کروماتوگراف مواد موثره در ژنوتیپ *Thymus daenensis*

نتایج بررسی ترکیب‌های شیمیایی اسانس گیاه آویشن شیرازی در چهار استان مختلف نشان داد که دو ترکیب تیمول و کارواکرول در چهار منطقه مورد بررسی مقدارشان متفاوت می‌باشد. بیشترین میزان کارواکرول به ترتیب در اسانس مربوط به جمعیت‌های اصفهان (۷۵/۱ درصد)، یزد (۶۲/۲ درصد) وهرمزگان (۵۲/٤ درصد) و بیشترین میزان ترکیب تیمول مربوط به اسانس جمعیت یزد گزارش گردید (NajafpourNavaei and Mirza, 2015).

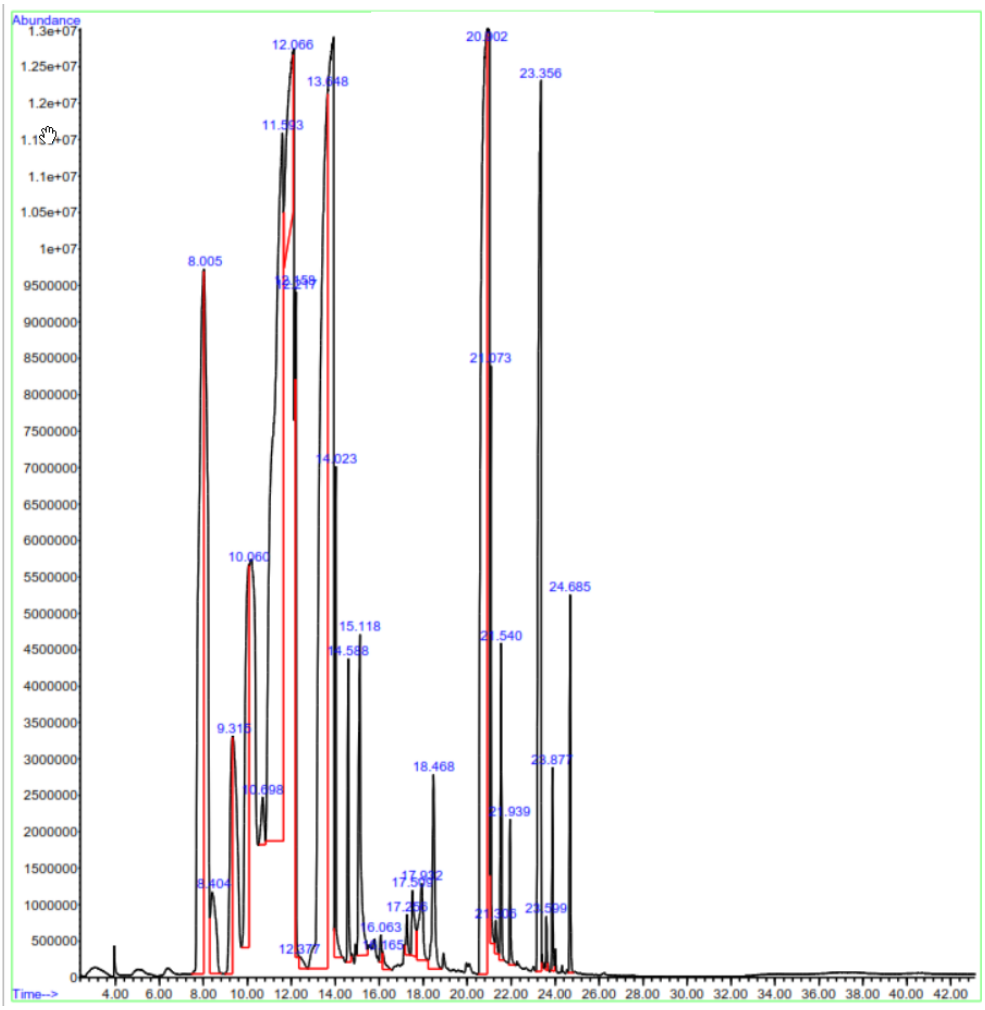
تیمول نوعی فنل است و در فرآورده‌های دارویی به‌عنوان ماده ثابت کننده مصرف می‌شود. در بررسی فیتوشیمیایی از عصاره اتانولی آویشن شیرازی فلاوونوییدها وجود دارند که عمدتاً تیمول، کارواکرول، پارا-سیمن، لینالول و گاما- ترپینن می‌باشند (Martinez- Vazquez et al., 1996). در روغن فرار سرشاخه هوایی آویشن شیرازی،تیمول (۳۸ درصد)، کارواکرول (۳٤/۹٦ درصد)، پارا-سیمن (۷/۱۷ درصد) و بتا- کاریوفیلن (۷۱/۲ درصد) شناسایی شد. این نتایج نشان می‌دهد قسمت اعظم ترکیبات روغن فرارآویشن شیرازی را ترپنوئیدهای اکسیژنه تشکیل داده است (Khanavi et al., 2010).




**شکل ۳**: کروماتوگراف مواد موثره در ژنوتیپ شماره یک *Zataria multiflora*

در تحقیقی دیگر بر روی آویشن شیرازی ترکیبات اصلی اسانس به‌ترتیب شامل تیمول، کارواکرول، پارا-سیمن، گاما-ترپینن و بتاکاریوفیلن بودند (Moshafi et al., 2007). در تحقیقات انجام شده بر گونه آویشن، بالاترین میزان تیمول و کارواکرول در مرحله بذردهی به‌دست آمد (Safaei et al., 2013). اثرات ضد درد عصاره آویشن دنایی ناشی از ترکیب‌های پارا-سیمن،بتا-کاریوفیلن، کارواکرول و به‌خصوص تیمول می‌باشد (Zandi Esfahan et al., 2015). درگونه‌ای از آویشن با افزایش ارتفاع از سطح دریا درصد ترکیب‌هایی مثل تیمول و کارواکرول در اسانس افزایش معنی‌داری داشت (Mohammadian et al., 2014).

در گونه آویشن دنایی (*Thymus daenensis*) مشاهده می‌شود که مقادیرتیمول و کارواکرل کم می‌باشد و در عوض گاماترپینن (۲۷/۲٤درصد) ترکیب غالب اسانس می‌باشد. گاماترپینن به عنوان پیش ماده بیوسنتزتیمول و همچنین کارواکرول شناخته شده است. عمده‌ترین ترکیبات ماده موثره این گونه به ترتیب شامل گاما- ترپینن (۲۷/۲٤)، تیمول (۱۲/۵۸) و او- سیمن (۱۰/۰٤) می‌باشند. در این گونه ترکیبات آلفا- پینن، پارا- سیمن، بتا- پینن و آلفا- ترپینئول به‌طور کلی وجود نداشتند.

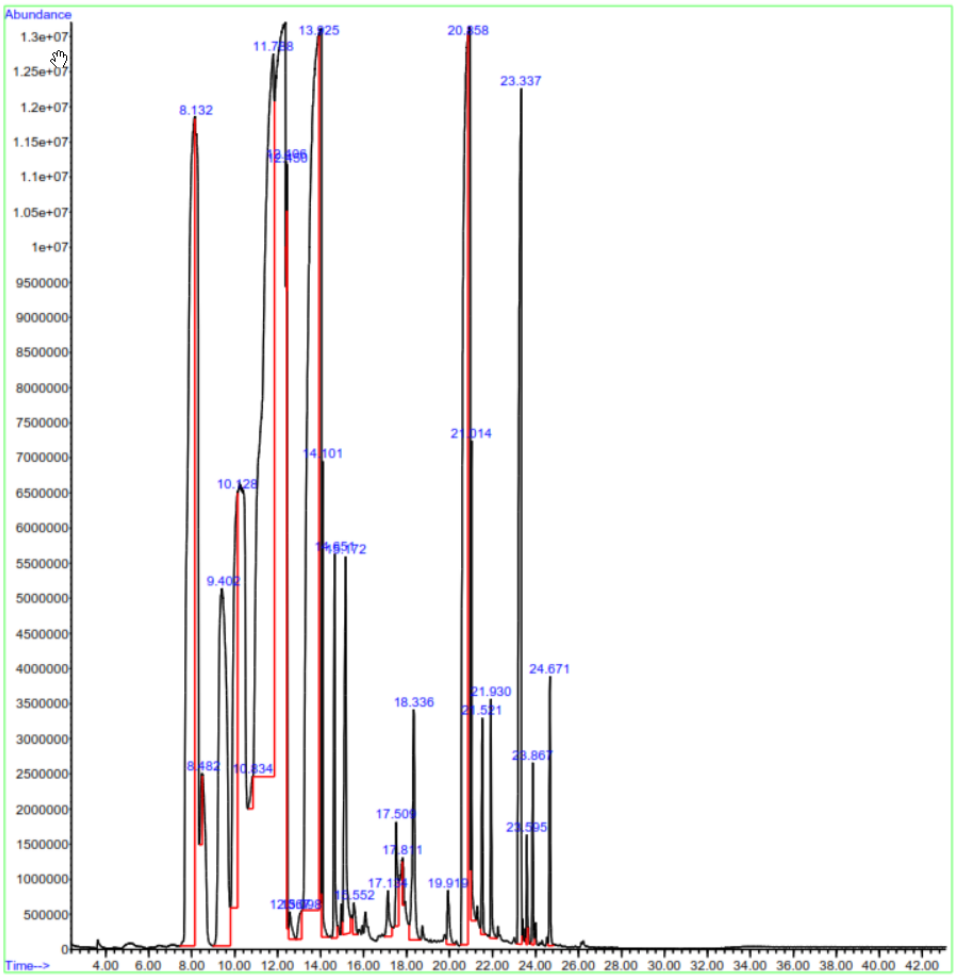



**شکل ٤:** کروماتوگراف مواد موثره در ژنوتیپ شماره دو *Zataria multiflora*

پورامینی و همکاران (PourAmini et al., 2014) با استخراج اسانس آویشن دنایی، ۳۳ ترکیب را جداسازی نمودند که در مجموع ۹٦/۱۹ درصد اسانس را تشکیل می‌دادند و عمده‌ترین ترکیب‌های شناسایی شده شامل تیمول،او-سیمین،گاما-ترپینن، لینالول و بورنئول بود. همچنین سجادی و همکاران (Sajjadi et al., 2003) از بین ٤۳ ترکیب آویشن دنایی تیمول، کارواکرول و پاراسیمن را ترکیبات غالب اسانس معرفی نمودند. امیری (Amiri, 2012) از میان ترکیبات شناسایی شده در اسانس گونه *T. daenensis*subsp کارواکرول، تیمول، گاما-ترپینن و پارا- سیمن را به عنوان ترکیبات عمده اسانس آویشن دنایی معرفی نمود.

در مطالعه حاضر، در گونه *T. armeniacus* ترکیبات پارا-سیمن (۱۷/۷۰)، ۱ و ۸- سینئول (۱۲/٤۷)، گاما- ترپینن (۱۱/۵۵) و تیمول (۱۰/۳٤) به‌ترتیب دارای بیشترین مقدار در ماده موثره بودند. همچنین این گونه به طور کلی فاقد ترکیبات او- سیمن، کارواکرول، آلفا- پینن، بتا- پینن، ام- سیمن و ترانس- سابینن هیدرات می‌باشد. در مطالعه یوسف‌زاده و همکاران (Yosefzadeh et al., 2016) بر روی گونه *T. armeniacus*،ترکیبات گاما-ترپینن و

پارا- سیمن از عمده‌ترین ترکیبات تشکیل دهنده اسانس در مراحل ۵۰ درصد و ۷۵ درصد تنش خشکی بودند. در مطالعه کریمی و همکاران (Karimi et al., 2017) بر روی گونه *T. armeniacus*، به ترتیب ترکیبات کارواکرول در سه مرحله شروع گلدهی، ۵۰ درصد گلدهی و ۱۰۰ درصد گلدهی، تیمول در مرحله ۵۰ درصد گلدهی، پارا-سیمن و ۱و۸- سینئول در مرحله ۱۰۰ درصد گلدهی مهم‌ترین اجزای تشکیل‌دهنده اسانس اینگونه بودند. مشخص است که تفاوت جغرافیایی، تفاوت‌های کولتیواری، مرحله رشدی گیاه، فرآیندهای آماده‌سازی و فاکتورهای دیگر ممکن است ترکیبات اسانس را هم ازلحاظ کمی و هم از نظر کیفیت تحت تاثیر قرار دهد (Sajed et al., 2013).




**شکل ۵**: کروماتوگراف مواد موثره در ژنوتیپ شماره سه *Zataria multiflora*

## نتیجه‌گیری نهایی

با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه، آویشن شیرازی در برخی از مواد موثره همچون بتا-بیسابولن، آلفا-ترپینن و پاراسمین بطور قابل ملاحظه‌ایی از آویشن *Thymus* متفاوت هستند. از لحاظ میزان مواد موثره تیمول و کارواکرول، به‌عنوان مواد موثره کلیدی آویشن، هر چند سه ژنوتیپ آویشن شیرازی میانگین بیشتری با دو گونه آویشن *Thymus* نشان می‌دهند، با

این حال این تفاوت قابل ملاحظه نمی‌باشد. احتمالاً وجود این دو ماده موثره، عطر و طعم و خواص مشابه ضدباکتری و ضدقارچ، اثرات دارویی مانند اثر ضد اسپاسم، درمان برونشیتبا گونه سایر گونه‌های آویشن در *Zataria multiflora* باعث گردیده است که از دیرباز این گیاه با عنوان آویشن شناخته شود.

**References**


1. Adams, R.P. 2001. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy: Carol Stream, IL Allured Publishing Co. 8(16): 76-81.
2. Alipour, M. and Eskandani, M. 2011. Effect of *Zataria multiflora* Boiss. essential oil on the growth of bacillus cereus in a commercial chicken soup. Book of proceedings, 6:389-392.
3. Alizadeh, A. and Shaabani, M. 2014. Essential oil composition, total phenolic content and antioxidant activities of Iranian *Zataria multiflora* Boiss. International Journal of Biosciences, 4(4):97-104.
4. Amiri, H. 2012. Essential oil composition and antioxidant properties of three *Thymus* species. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 1-8.
5. Bisset, N.G. and Wichtl, M. 2001. Herbal drugs and phytopharmaceuticals: a handbook for practice ona scientific basis; with reference to German Commission E monographs, 2nd ed. Taylor and Francis Group, 493-5.
6. Deans, S.G., Simpson, E., Noble, R.C., MacPherson, A. and Penzes, L. 1993. Natural antioxidants from *Thymus vulgaris* (Thyme) volatile oil: The beneficial effects upon mammalian lipid metabolism. Acta Horticulturae, 332: 177 - 82
7. Dehkordi, S., Moradi, H. and Sigaroodi, F. 2010. Chemical composition of essential oils in *Zataria multiflora* Boiss. from different parts of Iran and their radical scavenging and antimicrobial activity. Journal of Food chemtoxicology, 48(6):1562-1567.
8. Ghahraman, A. 1988. Color Flora of Iran. Institute of Forestry and Rangeland Research, Tehran University. 11(1375).
9. Hadipanah, A., Golparvar, A.R., Ghasemi Pirbalooti, A. and Zeinali, H. 2011. Determination of best harvest time to achieve the highest yield of essential oil and thymol in Thymus vulgaris in Isfahan condition. Quarterly Journal of Medicinal Plants, 2: 23-32.
10. Hasani, J. 2013. Comparison of the quantity and quality of essential oils of *Thymus fedtschenkoi* Ronniger and *Thymus daenensis* Celak. In natural habitats of Kurdistan. Journal Ecophytochemical of Medicinal Plants, 1(1): 25-35.
11. Karimi Dastgerdi, Z., Houshmand, S. and Mohammadkhani, A. 2017. Effect of harvesting time on the quality and quantity of essential oils of two species of *T. lancifolius* and *T. armeniacus*. Journal Ecophytochemical of Medicinal Plants, 5(1): 40-51.
12. Khanavi, M., Norouzi, M., Tabatabaee, H., Noudeh, A., Safavi, S. and Shafiee, A. 2010. Chemical compositions and antiviral effects of the essential oil of *Zataria multiflora* Boiss. And *Origanum majorana* L. Journal of Medical Plants, 9(33): 128-137.
13. Kovats, V.E. 1958. Gas-chromatographische charakterisierung organischer verbindungen. Teil 1: retentions indices aliphatischer halogenide, alkohole, aldehyde und ketone. Helvetica Chimica Acta, 41(7), 1915-1932.
14. Lawrence, B.M.A. 1993. Planning Planning scheme to evaluate new aromatic plants for the flavor and fragrance industries. New crops, 193: 620-627.
15. Mahmoodi, A., Roomiani, L., Soltani, M., Basti, A., Kamali, A. and Taheri, S. 2012. Chemical composition and antibacterial activity of essential oils and extracts from *Rosmarinus officinalis*, *Zataria multiflora*, *Anethum graveolens* and *Eucalyptus globulus*. Journal of Global Veterinarian, 9(1):73-79.

16. MakizadehTafti, M., Naghdibadi, H., Rezazadeh, SH., Ajani, Y. and Kadkhoda, Z. 2010. Evaluation of botanical characteristics and yield and essential components of *Thymus carmanicus* Jalasin Iran. Quarterly Journal of Medicinal Plants, 30: 57-65.
17. Martinez-Vazquez, M., Ramirez Apan, T.O., Aguilar, H. and Bye, R. 1996. Analgesic and antipyretic activities of an aqueous extract and of the flavonlinar in of Buddleia cordata. Planta Medicine. 62:137-140.
18. Mohagheghzadeh, A., Sham-Ardakani, M. and Ghannadi, A. 2000. Linalol-rich essential oil of *Zataria multiflora* Boiss. (Lamiaceae). Flavour and Fragrance Journal, 15: 119-122.
19. Mohammadian, A., Karamian, R., Mirza, M. and Sepahvand, A. 2014. Effects of altitude and soil characteristics on essential of *Thymus fallax* Fisch.et C.A. Mey. in different habitats of Lorestan province. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 30(4): 519-528.
20. Moshafi, M.H., Mansouri, SH., Sharififar, F. and Khoshnoodi, M. 2007. Antibacterial and antioxidant effects of the essential oil and extract of *Zataria multiflora* Boiss. Journal of Kerman University of Medical Sciences, 14(1): 33-43.
21. NajafpourNavaei, M. and Mirza, M. 2015. Investigation the chemical essential oils compound of flowering branches in four differrent provinces. Journal Ecophytochemical of Medicinal Plants, 8(2): 43-49.
22. Pateraki, I., Heskes, A.M. and Hamberger, B. 2015. Cytochrome P450 for terpene functionalization and metabolic engineering. in biotechnology of isoprenoids. springer international Publishing, 107-139.
23. PourAmini, Z., Moalemi, N. and Sadati, S., 2014. Comparison of the Effects of drought stress on proline and antioxidant enzyme activities in three varieties of olives. Iranian Journal of Biology, 27: 156-167.
24. Rahimibidgoli, A. 1999. Effect of different growth stages and essential methods on oil quality and quantity of essential oil of *Thymus vulgaris*. Msc. Thesis.
25. Rastegar, F., Moharamipour, S., Shojaei, M. and Abbasipour, H. 2011. Chemical composition and insecticidal activity of essential oil of *Zatari amultiflora*. (Lamiaceae) against *Callosobruchus maculates* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). Journal Integrated protection of Stored Products, 69:281-288.
26. Saei-Dehkordi, S.S., Tajik, H., Moradi, M. and Khalighi-Sigaroodi, F. 2010. Chemical composition of essential oils in *Zataria multiflora* Boiss. From different parts of Iran and their radical scavenging and antimicrobial activity. Food and Chemical Toxicology, 48:1562-1567.
27. Safaei, L., Sharifi Ashoorabadi, A., Zeinali, H., Afyouni, D. and Mirza, M. 2013. Study on essential oil content and composition of *Thymus caramanicus* Jalas. in different harvesting stages. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 29(2): 313-324.
28. Sajed, H., Sahebkar, A.H. and Iranshahi, M. 2013. *Zataria multiflora* Boiss. (Shirazi thyme) - An ancient condiment with modern pharmaceutical uses. Journal of Ethnopharmacol, 145: 686-698.
29. Sajjadi, S.E. and Khatamsaz, M. 2003. Composition of the essential oil of *Thymus daenensis* Celak ssp. *Lancifolius* (Celak) Jalas. Journal of Essential Oil Research, 15: 34-35.
30. Sefidkon, F. 2009. Effect of harvesting time and essential oil method on the quality and quantity of essential oil of *Thymus vulgaris*. Research of Iranian Medicinal and Aromatic Plants, 25 (3): 309-320.
31. Shu, C.K. and Lawrence, B.M. 1997. Reasons for the variation in composition of some commercial essential oils. In: Spices, Flavor chemistry and antioxidant properties. Eds Risch S.J. and C.T. Ho (Eds.), ACS Symposium Series, 660:138-159.
32. Teimouri, M. 2011. Antimicrobial activity and essential oil composition of *Thymus daenensis* Celac. from Iran. Journal of Medicinal Plant Research, 6 (4): 631-635.

33. Venskutonis, P.R., Poll, L. and Larsen, M. 1996. Influence of drying and irradiation on the composition of volatile compounds of thyme (*Thymus vulgaris* L.). Flavour and Fragrance Journal, 11:123-128.
34. Yazdani, D., Shahnazi, S., Jamshidi, A., Rezazadeh, S. and Mojab, F. 2006. Study on variation of essential oil quality and quantity in dry and freshherb of Thyme and Tarragon. Journal of Medical Plants, 5: 7-15.
35. Yosefzadeh, K., Houshmand, S., Shiran, B., Zeinali, H. and Hadiyan, J. 2016. Effects of long-term drought stress on quantity and quality of essential oil of Thymus spp. Journal Ecophytochemical of Medicinal Plants, 3(4): 1-14.
36. Zandi Esfahan, S., Saghaei, F., Ghasemi Pirbalooti, A. and Zandi Esfahan, A. 2015. Analgesic and anti-inflammatory effects of ethanolic extract of *Thymus daenensis* Celak. in mice. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 30(6): 977-984.