Journal of Birjand University of Medical Sciences

Birjand University of Medical Sciences

Original Article

Assessmentof phytochemical characteristics of two medicinal plants species, *Ziziphora tenuir* and *Teucrium polium*, collected from Sarbisheh region

Hamid Bagherpour[1], Mohammad Javad Seghatoleslami[2]*, Ali AllahResani[3], Gholamreza Mousavi[2]

ABSTRACT

Background and Aims: *Ziziphora tenuir* and *Teucrium polium* belong to the Labiatae family. So far, 25 and 4 species of *Ziziphora tenuir* have been reported in the world and Iran, respectively, which are used for novel digestive disorders, common cold, depression, and migraine. A total of 200 species of *Teucrium polium* have been identified in the world, and 12 species exist in Iran. The historical use of this herb dates back to the time of Hippocrates and Galen. The present study aimed to investigate some of phytochemical characteristics of two medicinal species of *Ziziphora tenuir* and *Teucrium polium* in Sarbisheh region of South Khorasan Province.

Materials and Methods: In this in vitro study, the aerial parts of *Ziziphora tenuir* and *Teucrium polium*, including leaves, flowers, and flowering branches, were collected from the region at the end of July 2019, and after drying, the samples were distilled using a Clovnjer machine. The identification of the constitutive compounds of the obtained essential oils was performed using GC and GC/MS devices.

Results: The main composition of the essential oil in *Ziziphora tenuir* in the study area was Pulegone, with 92.55%, including eight types of essential oil composition. The highest amount of effective substances was reported for phenol and antioxidant, while tannin and flavonoid had the lowest amount. 23 essential oil compounds, including Camphor (43.72) and Artemisia alcohol (18.61%) were identified as the highest amounts for *Teucrium polium*, while Cymene (0.42) and a-Thujone (0.24%) were reported as the lowest amounts. The effective ingredients of *Teucrium polium*, including Phenol and antioxidant, in contrast with flavonone and flavonoid, were respectively reported as the highest and lowest amounts.

Conclusion: The high amount of Phenol in both species indicated the inhibitory power and is related to the Terpinen compounds in the essential oil of both species. On the other hand, the lower the IC50 value, the higher the inhibition of free radicals and, as a result, the higher the antioxidant property.

Keywords: Camphor, GC/M, Pulegone, Sarbisheh, *Teucrium polium*, *Ziziphora tenuir*

Citation: bagherpour Hamid, Seqatoleslami Mohamadjavad, Allaresani Ali, Mousavi Golamreza. [The study Assessment of phytochemical characteristics of two medicinal plants species, Ziziphora tenuir and Teucrium polium, collected from Sarbisheh region]. J Birjand Univ Med Sci. 2022; 30(1): 67-78. [Persian]

DOI http://doi.org/10.32592

Received: October 4, 2022 **Accepted:** June 13, 2023

[1] PhD Student in Medicinal and spices and beverage plants, Birjand branch, Islamic Azad University, Birjand, Iran
[2] Faculty of Agriculture, Birjand branch, Islamic Azad University, Birjand, Iran
[3] Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Birjand, Birjand, Iran

***Corresponding author:** Faculty of Agriculture, Islamic Azad University, Birjand branch, Birjand, Iran
Tel: +989153624983 Fax: +985632218094 E-mail: Hamidbagherpour846@yahoo.com

مقاله اصیل پژوهشی

بررسی خصوصیات فیتوشیمیایی دو گونه گیاه دارویی کاکوتی و کلپوره جمع‌آوری شده از منطقه شهرستان سربیشه

حمید باقرپور[۱]، محمدجواد ثقه الاسلامی[۲]*، علی الله‌رسانی[۳]، غلامرضا موسوی[۲]

چکیده

زمینه و هدف: دو گونه دارویی کاکوتی *Ziziphora.tenuir* و کلپوره (مریم نخودی) *Teucrium.polium* متعلق به خانواده نعناعیان *Labiatae* هستند. تاکنون تعداد ۲۵ گونه از جنس کاکوتی در دنیا و ۴ گونه در ایران گزارش شده است که برای درمان اختلالات گوارشی، سرماخوردگی، میگرن و افسردگی کاربرد دارد. کلپوره به تعداد ۲۰۰ گونه در دنیا و ۱۲ گونه در ایران شناسایی شده و قدمت استفاده از آن به زمان بقراط و جالینوس برمی‌گردد. هدف از این مطالعه بررسی ویژگی‌های فیتوشیمیایی این دو گونه دارویی در منطقه شهرستان سربیشه خراسان جنوبی است.

روش تحقیق: در این مطالعه اندام‌های هوایی کاکوتی و کلپوره شامل برگ، گل و سرشاخه‌های گل‌دار در اواخر تیرماه ۱۳۹۹ از منطقه جمع‌آوری و پس از خشک کردن، به روش تقطیر با آب و با استفاده از دستگاه کلونجر اسانس‌گیری شد. شناسایی ترکیبات ترکیبات تشکیل دهنده اسانس به دست آمده با استفاده از دستگاه‌های GC/MS/ انجام گرفت. علاوه بر اسانس و ویژگی‌های آن، ترکیبات فلاونوئیدی، فلاونون، تانن، کربوهیدرات و فعالیت آنتی‌اکسیدانی این گیاهان دارویی نیز تعیین شد.

یافته‌ها: در اسانس گیاه کاکوتی ۸ نوع ترکیب مهم شناسایی شد که عمده آن پولگون (Pulegone) با ۹۲/۵۵ درصد بود. ترکیبات فنلی و فلاونون بیشترین میزان و کربوهیدرات و فلاونویید کمترین مقدار را داشتند. ترکیبات فنلی و فلاونوییدها خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارند. در اسانس کلپوره نیز ۲۳ ترکیب مهم شناسایی گردید که در این بین کامفور Camphor و آرتیمیزیا الکل Artemisia alcohol به ترتیب با ۴۳/۷۲ و ۱۸/۶۱ درصد بیشترین و پی–سیمنP-Cymene و آلفا– توژن αThujone– با ۰/۴۲ و ۰/۲۴ درصد کمترین میزان را داشت. مواد مؤثر آن شامل فنل بیشترین و فلاونون و فلاونویید نیز کمترین مقدار را به‌خود اختصاص دادند.

نتیجه‌گیری: میزان فنل بالا در هر دو گونه نشان دهنده قدرت مهارکنندگی بالا است و این عامل به ترکیبات ترپینن Terpinen در اسانس هر دو گونه مربوط می‌باشد. از طرفی هر چه مقدار IC_{50} کمتر باشد میزان مهار رادیکال‌های آزاد بیشتر و در نتیجه خاصیت آنتی‌اکسیدانی بیشتر خواهد بود.

واژه‌های کلیدی: کامفور، کلپوره، سربیشه، پولگون، کاکوتی

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند. ۱۴۰۱؛ ۳۰(۱): ۶۷-۷۸.

دریافت: ۱۴۰۱/۰۷/۱۲ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۳/۲۳

[۱] دانشجوی دکتری گیاهان دارویی، ادویه ای و نوشابه ای، واحد بیرجند، دانشگاه آزاد اسلامی، بیرجند، ایران

[۲] دانشکده کشاورزی، واحد بیرجند، دانشگاه آزاد اسلامی، بیرجند، ایران

[۳] گروه شیمی، پردیس علوم، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران

***نویسنده مسئول:** دانشکده کشاورزی، واحد بیرجند، دانشگاه آزاد اسلامی، بیرجند، ایران

آدرس: بیرجند- خیابان غفاری- دانشگاه آزاد اسلامی واحد بیرجند- دانشکده کشاورزی

تلفن: ۰۹۱۵۳۶۲۴۹۸۳ نمابر: ۰۵۶۳۲۲۱۸۰۹۴ پست الکترونیکی: mjseghat@yahoo.com

مقدمه

اسانس‌های روغنی (Essential oils) جزو ترکیبات (GRAS[1]) افزودنی مجاز بوده و توجه بسیاری را در عرصه صنعت غذا به خود جلب کرده‌اند. این موضوع به دلیل وضعیت نسبتاً ایمن، پذیرش گسترده توسط مصرف‌کنندگان و امکان بهره‌برداری از آن‌ها به‌عنوان عوامل فراسودمند چند منظوره می‌باشد (۱). خواص ضد باکتریایی، ضد ویروسی، ضد قارچی، آنتی اکسیدانی و ویژگیهای ضد تولید سم (Antitoxigenic) این ترکیبات در فرآورده های غذایی ثابت شده است (۳ و۲).

گیاه کاکوتی با نام علمی (*Ziziphora tenuir*) و نام انگلیسی Feild basil جزو خانواده نعناعیان (Labiatae/Lamiaceae) است. جنس *Ziziphora* دارای گونه‌های دارویی و معطر بسیار ارزشمندی است که تاکنون بالغ بر ۲۵ گونه از این جنس در جهان و ۴ گونه یک‌ساله یا چند ساله در ایران گزارش شده است.

کاکوتی در معالجه امراض معده و به عنوان ضدعفونی کننده برای رفع سرماخوردگی استفاده می‌شود (۴). کاکوتی، منبعی سرشار از مواد متنوعی است که به عنوان آرام بخش، مقوی معده، رفع اختلالات قلبی، اسهال، دل پیچه و تب مورد استفاده قرار می‌گیرد. جوشانده گیاه کامل برای درمان تب تیفوسی به کار می‌رود (۵).

در طب سنتی ترکیه به صورت چای برای رفع اختلالات معدی- روده‌ای و به عنوان ضد نفخ، ضدعفونی کننده و التیام دهنده زخم‌ها استفاده می‌شود (۶). گونه‌های کاکوتی در کنار ترکیبات اسانسی، منبع خوبی از فلاونوییدها، مشتقات کافئیک اسید، اسیدهای چرب، تری‌ترپن‌ها و استرول‌ها می‌باشد (۷).

پژوهشگران طی مطالعات متعددی اسانس استحصالی از گونه‌های کاکوتی را مورد ارزیابی قرار داده و وجود ترکیب پولگون و پیپریتنون را در آن گزارش کردند (۸). در پژوهشی دیگر و در ارزیابی اسانس استحصالی از گیاه کاکوتی، دو ترکیب پولگون (Pulegone) و پیپریتنون (Piperitenone) به عنوان ترکیب شاخص گزارش شد (۹).

تحقیقات انجام شده توسط متخصصان علوم تغذیه روی این گیاه حاکی از وجود ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مانند فنل و فلاونویید به میزان زیاد است (۱۰)

کلپوره یا مریم نخودی با نام علمی *Teucrium polium* از خانواده نعناع Labiatae با نام انگلیسی Water germander بوده و به نام محلی زابلگ (Zabelg) معروف است. جنس *Teucrium* دارای ۲۰۰ گونه در دنیا است که در ایران ۱۲ گونه از آن وجود دارد (۵).

مصرف دارویی این گیاه به زمان بقراط و جالینوس باز می‌گردد. بخش دارویی آن، سرشاخه‌های گلدار می‌باشد. این گیاه دارای اثرات قلبی- عروقی بوده و در برخی از نقاط ایران به صورت سنتی نیز برای رفع درد قلب و همچنین کاهش کلسترول و تری گلیسرید استفاده می‌شود (۱۱). خواص دیگر آن از جمله ضد اسپاسم و ضد التهاب نیز مورد تحقیق و تأیید قرار گرفته است (۱۲). در بررسی‌های انجام شده روی گیاه کلپوره مشخص شد که این گیاه حاوی مقادیری از گلیکوزید، تانن و ترپنویید می‌باشد که دارای خواص آنتی‌اکسیداتیو سلولی و التیام گوارشی است (۱۳). مهم‌ترین ترکیبات در اسانس سرشاخه گل‌دار کلپوره آلفاتوژن و آلفاپینن گزارش شده است (۱۴ و ۱۵).

با توجه به موارد فوق و به لحاظ اهمیت دو گیاه دارویی کاکوتی و کلپوره در دانش بومی منطقه سربیشه و مصرف آن در طب سنتی منطقه، مطالعه حاضر با هدف بررسی برخی ویژگی‌های فیتوشیمیایی این دو گیاه و تعیین مواد مؤثر مختلف آن‌ها از جمله ترکیبات فنلی، فلاونویید، فلاونون، کربوهیدرات، تانن و خواص آنتی‌اکسیدانی انجام شد.

روش تحقیق

جمع‌آوری و آماده‌سازی گیاهان

گیاهان کاکوتی و کلپوره پس از بررسی میدانی و شناسایی رویشگاه‌های دو گونه مذکور در سطح منطقه سربیشه در اواخر تیر ماه ۱۳۹۹ جمع‌آوری شد. در نهایت با ارسال به بخش هرباریوم دانشکده علوم دانشگاه فردوسی مشهد شناسایی و تأیید و کد

[1] Generally Recognized As Safe (GRAS)

هرباریومی برای گونه کلپوره به شماره ۱۴۰۹۷ و برای گونه کاکوتی به شماره ۱۴۰۹۸ اخذ گردید. در ادامه گونه مذکور در شرایط کاملاً طبیعی، در دمای اتاق (۲۵-۲۲ درجه سانتی‌گراد) خشک شدند. به منظور انجام آنالیزهای مختلف و شناسایی ترکیبات، ۱۰۰ گرم نمونه گیاهی از هر کدام از این دو گیاه به‌وسیله آسیاب برقی پودر شد.

دستگاه‌ها و مواد مورد استفاده

مواد شیمیایی مورد استفاده از شرکت مرک تهیه شده و مورد استفاده قرار گرفتند. آنالیز نمونه‌ها با دستگاه کروماتوگراف گازی Agilent 7890 A (GC) متصل به طیف‌سنج جرمی Agilent 5975C از نوع چهار قطبی (ساخت آمریکا)، مجهز به ستون DB-5 (طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه فاز ساکن برابر ۰/۲۵ میکرون) انجام شد. شیکر ورتکس مدل Confido-S50 ساخت کارخانه (Finepcr) و اسپکتروفتومتر مدل ۲۰۱۶/۶ ساخت کارخانه (Labnics) نیز استفاده شد.

اندازه‌گیری درصد ماده خشک

برای اندازه‌گیری ماده خشک گیاه مقدار ۵ گرم از گیاه دقیقاً توزین و به پلیت منتقل شده و در آون در دمای ۵±۱۰۵ درجه سلسیوس به میزان ۵ ساعت در آون نگهداری شد. بعد از زمان فوق نمونه توزین و دوباره به آون منتقل شد. زمانی که در مرتبه دوم تغییری در وزن نمونه مشاهده نشد، نمونه توزین و درصد ماده خشک طبق فرمول زیر محاسبه شد:

$$D_M = \frac{M_2}{M_1} \times 100$$

D_M : ماده خشک

M_1: وزن اولیه ماده

M_2: وزن ماده بعد از گرم‌خانه‌گذاری

اندازه‌گیری درصد اسانس و اجزای آن

استخراج اسانس از نمونه گیاهی پودر شده با روش تقطیر با آب و به‌وسیله دستگاه کلونجر ابزاری است که برای استخراج اسانس با استفاده از بخار استفاده می شود. در این روش از دما برای جدا کردن روغن معطر از یک منبع آلی استفاده می شود و این کار به مدت دو ساعت انجام گرفت. درصد اسانس به‌صورت وزنی بر اساس فرمول زیر محاسبه شد:

درصد اسانس= {مقدار گیاه خشک(gr)/ میزان اسانس (gr)} × ۱۰۰

سپس اسانس حاصله پس از آب‌گیری با استفاده از سولفات سدیم بدون آب (Na_2SO_4) و تا زمان تزریق به دستگاه گاز کروماتوگرافی در ظروف شیشه‌ای تیره رنگ و در بسته در یخچال (در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شد. برای تعیین درصد و همچنین جداسازی و شناسایی اجزای متشکله اسانس‌های موجود در گیاهان فوق از دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC) و کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنجی جرمی (GC/MS) استفاده شد. در هر مورد پس از تزریق مقادیر بسیار جزئی اسانس، کروماتوگرام حاصله و طیف‌های جرمی، ترکیبات مختلف موجود در آن بررسی شد و با توجه به خروج آلکان‌های نرمال، شاخص بازداری و اندیس کواتس که برای شناسایی ترکیبهای متشکله اسانسها به منظور کاربرد صحیح در صنایع مختلف ازاهمیت ویژه ای برخوردار است. و تطبیق آن‌ها با الگوهای کتابخانه‌ای، طیف‌های مربوط به هر جسم تفسیر و ترکیبات عمده تشکیل دهنده اسانس شناسایی و با توجه به سطح زیر منحنی هر یک از پیک‌های کروماتوگرام GC و مقایسه آن با سطح کل زیر منحنی، درصد نسبی هر یک از اجزا تشکیل دهنده اسانس تعیین شد (۱۶).

آنالیز کمی اسانس با استفاده از دستگاه کروماتوگراف گازی (GC)

برای آنالیز گیاهان فوق، کروماتوگراف گازی با آشکارساز FID مدل Thermo-UFM ایتالیا (ساخت ایتالیا) مورد استفاده قرار گرفت. ستون DB-5 غیر قطبی (به‌طول ۱۰ متر، قطر داخلی ۰/۱ میلی‌متر و ضخامت لایه فاز ساکن برابر ۰/۴ میکرون) به‌کار برده شد. دمای محفظه تزریق ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد و همچنین دمای آشکارساز ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. برنامه‌ریزی حرارتی ستون شامل افزایش دما از ۶۰ تا ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد با

سرعت افزایش ۱۰ درجه بر دقیقه بوده، سپس تا دمای ۲۸۵ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۴۰ درجه در دقیقه افزایش یافته و نهایتاً به مدت ۵ دقیقه در این دما نگه داشته شد. گاز حامل به کار رفته هلیوم با سرعت جریان ۰/۵ میلی‌لیتر بر دقیقه بود.

آنالیز کیفی اسانس با استفاده از دستگاه GC/MS

آنالیز نمونه‌ها با دستگاه کروماتوگراف گازی Agilent 7890 A متصل به طیف‌سنج جرمی Agilent 5975C از نوع چهارقطبی (ساخت آمریکا)، مجهز به ستون DB-5 (طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه فاز ساکن برابر ۰/۲۵ میکرون) انجام شد. برنامه‌ریزی حرارتی ستون عبارت بود از افزایش درجه حرارت از ۶۰ تا ۲۲۰ درجه سانتی گراد با سرعت افزایش ۳ درجه سانتی‌گراد در دقیقه و سپس افزایش به ۲۴۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت افزایش ۲۰ درجه سانتی‌گراد در دقیقه و نهایتاً سه دقیقه در این دما نگه داشته شد. درجه حرارت محفظه تزریق ۲۶۰ درجه سانتی‌گراد و دمای ترانسفرلاین ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. گاز حامل هلیوم بود که با سرعت ۳۰/۶ سانتی‌متر بر ثانیه در طول ستون حرکت می‌کرد. زمان اسکن برابر یک ثانیه، انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت و اسکن ناحیه جرمی از ۳۰ تا ۳۴۰ بود.

اندازه‌گیری ترکیبات فنلی

به منظور تعیین میزان این ترکیبات، ابتدا ۲۰ میکرولیتر از عصاره تهیه شده گیاه را با ۱/۱۶ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط کرده و سپس، ۱۰۰ میکرولیتر معرف فولین سیوکالتو[1] به محلول فوق اضافه نموده و پس از گذشت ۵ دقیقه ۳۰۰ میکرولیتر محلول کربنات سدیم ۲۰ درصد به محلول اضافه نموده و نمونه بعد از هم زدن به مدت ۳۰ دقیقه در بن ماری با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. سپس به کمک دستگاه اسپکتروفتومتر میزان جذب نمونه در طول موج ۷۶۰ نانومتر قرائت شد. با استفاده از منحنی کالیبراسیون اسید گالیک و معادله به‌دست آمده میزان فنل بر حسب اکی‌والان گالیک اسید در یک گرم عصاره خشک گیاهی تعیین شد (۱۷).

[1] Folin.Ciocalteu

اندازه‌گیری فلاونویید

به منظور تعیین میزان فلاونویید ابتدا ۰/۵ سی‌سی از عصاره متانولی گیاه با ۱/۵ میلی‌لیتر متانول، ۰/۱ میلی‌لیتر آلومینیوم کلراید ۱۰ درصد، ۰/۱ میلی‌لیتر استات پتاسیم یک مولار و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شد. برای تهیه محلول شاهد به‌جای عصاره متانولی از متانول خالص استفاده شد. مخلوط حاصل به مدت نیم ساعت در تاریکی قرار داده شد و بلافاصله میزان جذب نمونه به کمک دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۲۵ نانومتر قرائت شد. میزان واقعی فلاونویید با رجوع به منحنی استاندارد کوئریستین و بهره‌گیری از معادله به‌دست آمده و جای‌گذاری اعداد قرائت شده بر حسب میلی‌گرم کوئریستین در گرم عصاره به‌دست آمد (۱۸).

اندازه‌گیری فلاونون

میزان فلاونون بر اساس رنگ سنجی کلرید آلومینیوم بر حسب روتین اندازه‌گیری شد. روتین گلیکوزیدی است که فلاونول کوئرستین و دی‌ساکارید روتینوز را ترکیب می‌کند. این ماده، در طیف گسترده‌ای از گیاهان از جمله مرکبات یافت می‌شود. برای این منظور، به یک میلی‌لیتر از عصاره، دو میلی‌لیتر کلرید آلومینیوم دو درصد، شش میلی‌لیتر استات سدیم ۵ درصد و یک میلی‌لیتر حلال استخراج اضافه شد. سپس، میزان جذب نمونه‌ها پس از ۲/۵ ساعت قرار گرفتن در دمای اتاق با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۴۵ نانومتر خوانده شد. از روتین به عنوان استاندارد استفاده شد (۱۹).

اندازه‌گیری تانن

برای این منظور، محلول‌های کلریدآهن ۰/۱ مولار، فروسیانید پتاسیم ۰/۰۰۸ مولار، اسید کلریدریک ۰/۱ مولار و گالیک اسید با غلظت یک میلی‌گرم در لیتر تهیه گردید. برای رسم منحنی استاندارد گالیک اسید، محلول پایه‌ای از این ماده با غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تهیه و مقادیر مختلف از آن برداشته شده و به حجم رسانده شد. سپس، به هر یک از نمونه‌ها ۲ میلی‌لیتر از مخلوط فروسیانید پتاسیم، کلرید آهن و اسید کلرید اضافه گردید. سپس میزان جذب

محلول‌ها توسط اسپکتروفتومتر در طول موج ۳۹۵ نانومتر اندازه‌گیری شد (۲۰).

اندازه‌گیری کربوهیدرات

مقدار کربوهیدرات با روش اسچیگل[1] اندازه‌گیری شد. در هر نمونه، کربوهیدرات با استفاده از اتانول ۹۵ درصد و بر اساس روش اسیدسولفوریک استخراج شد. ۰/۲ گرم از بافت تر برگ به همراه ۱۰ سی سی اتانول ۹۵ درصد به مدت یک ساعت در حمام بن ماری در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد. به یک سی سی از این نمونه، یک سی‌سی فنل ۰/۵ درصد و ۵ سی‌سی اسیدسولفوریک ۹۸ درصد اضافه شده و میزان جذب نور توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۸۳ نانومتر قرائت گردید (۲۱).

اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی ۲(DPPH)

برای سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره از رادیکال‌های پایدار ۲، ۲- دی فنیل – ۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH) استفاده شد. به این منظور یک میلی‌لیتر از محلول متانولی یک میلی‌مولار DPPH با یک میلی‌لیتر محلول عصاره تام در متانول با غلظت‌های ۱/۲، ۱/۴، ۱/۱۶ و ۱/۳۲ مخلوط شده و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق در تاریکی نگه داشته شد. سپس میزان جذب آن در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد. میزان درصد مهار رادیکال آزاد با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد: در این فرمول A_C جذب کنترل و A_S جذب نمونه می‌باشد.

$$Inhibition(\%) = [(A_C - A_S)/A_C] \times 100$$

و

DPPH%= (درصد جذب کنترل- درصد جذب نمونه)]/درصد جذب کنترل×۱۰۰به‌دست آمد (۱۸).

دستگاه طیف‌سنج جرمی، اندازه‌گیری جرم دقیق اتم‌ها را بر عهده دارد بدین روش که ابتدا نمونه وارد شده، تبخیر (Vaporized Sample) و توسط پرتوهای الکترونی بمباران و اتم‌های آن به یون‌های یک بار مثبت یا دو بار مثبت تبدیل می‌شود که این فرآیند را یونش (Ionization) گویند و سپس یون‌ها توسط یک میدان الکتریکی شتاب می‌گیرد و در ادامه مسیر توسط یک میدان مغناطیسی منحرف و توسط یک آشکارساز (دتکتور) شناسایی و بر اساس نسبت جرم به بار از یکدیگر جدا می‌شوند.

به‌طوری که هر چه نسبت $\frac{M}{Z}$ بزرگتر باشد انحراف یون‌ها در میدان مغناطیسی کمتر خواهد بود و بر اساس پیک‌های حاصل برای هر ایزوتوپ، فراوانی نسبی آن مشخص می‌گردد (شکل ۱و۲).

یافته‌ها

نتایج بررسی فیتوشیمیایی دو گونه کلپوره و کاکوتی نشان داد تنوع قابل ملاحظه‌ای در مقادیر اجزای اسانس وجود دارد. در مجموع ۲۳ ترکیب در کلپوره و ۸ ترکیب در کاکوتی شناسایی شد (جدول ۱ و ۲).

در کلپوره میزان کامفور Camphor با فرمول شیمیایی C10H16O که یک ترکیب ترپنوییدی می‌باشد با ۴۳/۷۲ درصد بیشترین و آلفا- توژن α-thujene که یک ترکیب مونوترپنی با فرمول C10H16O با ۰/۲۴ درصد کمترین میزان اجزای اسانس را به خود اختصاص داد (جدول۱).

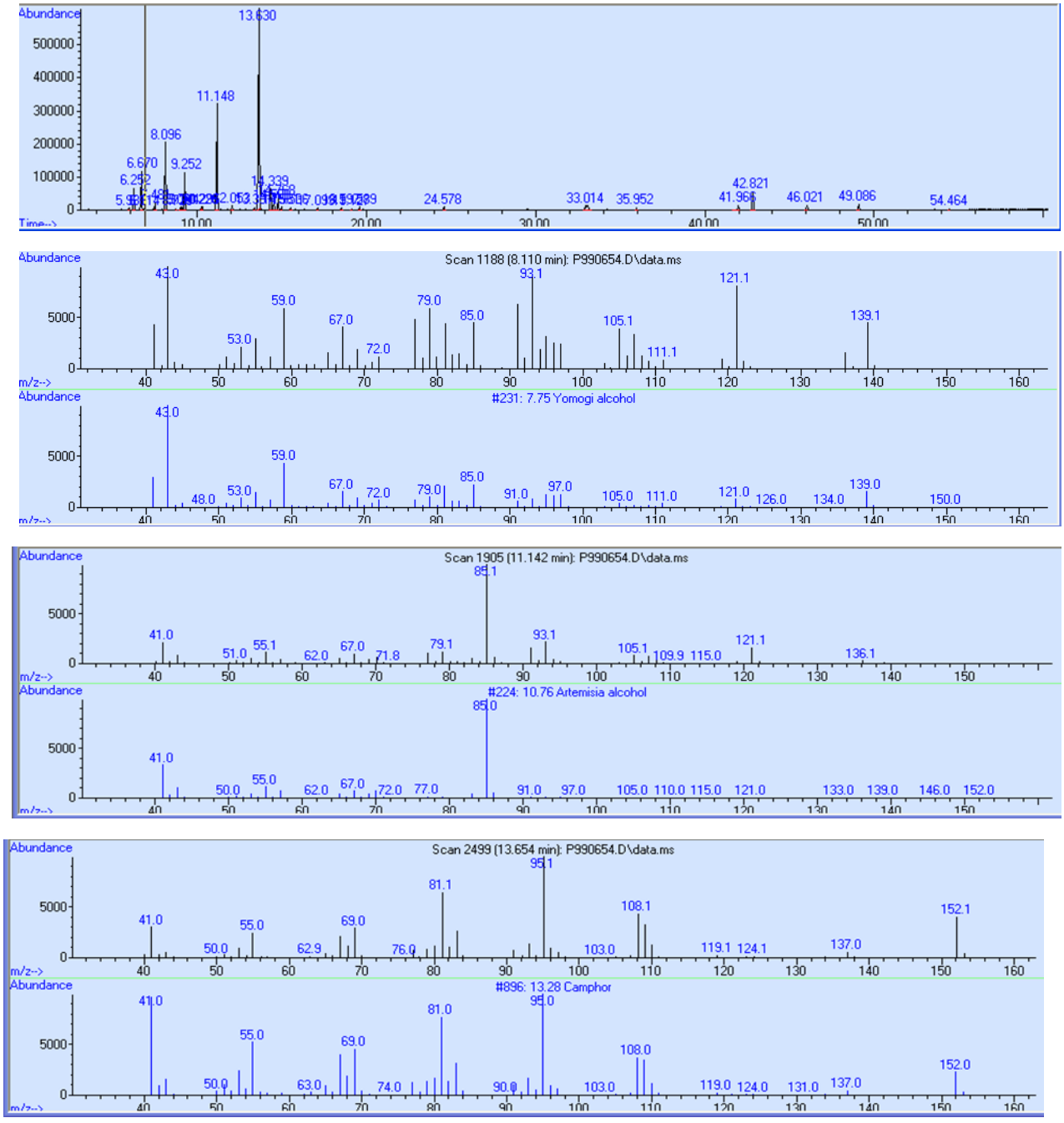
در کاکوتی میزان پولگون (Pulegone) با فرمول C10H16O، یک مونوترپن اکسیژن‌دار حلقوی و نوعی ترکیب کتونی، با ۹۲/۵۵ درصد، بیشترین و بتا-پینن(B-Pinene) با ۰/۲۱ درصد کمترین میزان ترکیب اسانس را به خود اختصاص داد (جدول ۲).

نتایج نشان داد که درصد و زمان بازدارندگی ترکیبات موجود در اسانس دو گونه کلپوره و کاکوتی با یکدیگر متفاوت است، به‌طوری که در کلپوره بیشترین و کمترین مقادیر به ترتیب با ۴۳/۷۲ درصد و زمان بازدارندگی آن ۷/۲۴ دقیقه و با ۰/۲۴ درصد و زمان بازدارندگی ۳/۶ دقیقه و در کاکوتی با ۹۲/۵۵ درصد و زمان بازدارندگی آن ۸/۵۶ دقیقه و با ۰/۲۱ درصد و زمان بازدارندگی ۴/۴۴ دقیقه مربوط می‌شود (جدول ۱و۲).

همچنین نتایج نشان داد که میزان ترکیبات فنل و فلاونون در دو گیاه با یکدیگر مطابقت دارد. سایر ترکیبات شناسایی شده در

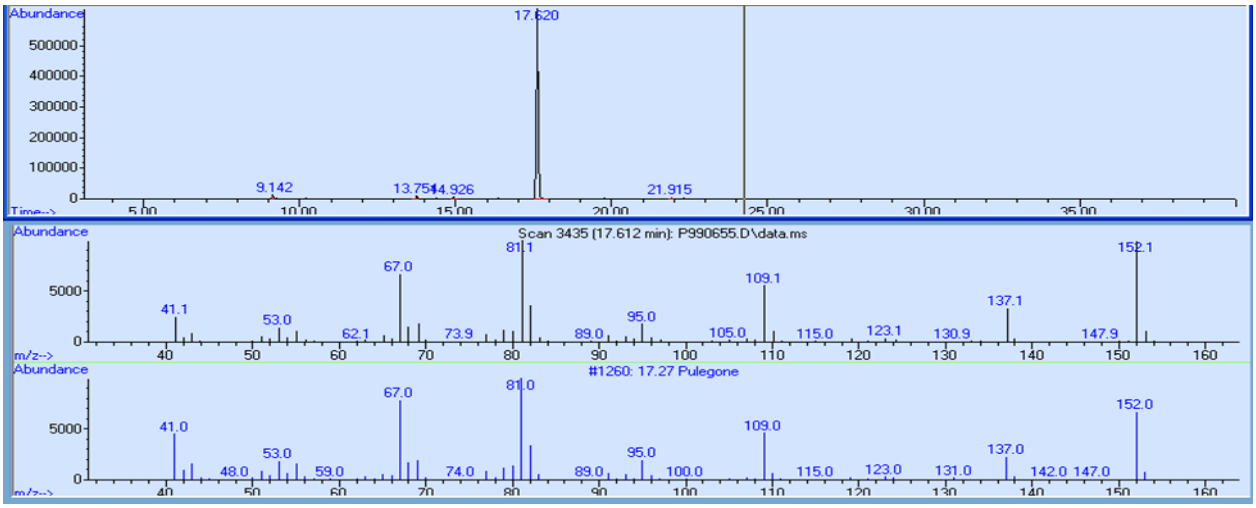
[1] Scott Schiegel
[2] -DPPH= ۲،۲ – دی فنیل- ۱- پیکریل هیدرازیل

اسانس گیاهان کلپوره و کاکوتی نشان از اختلاف می‌باشد، بدین صورت که میزان فلاونویید، کربوهیدرات و تانن در گیاه کلپوره بیشتر و همچنین درصد آنتی‌اکسیدان و در نهایت IC_{50} در گونه کلپوره کاهش قابل توجهی را نشان داد (جدول ۳). با توجه به نتایج به‌دست آمده، گیاه کلپوره میزان مهار کنندگی بیشتری نسبت به کاکوتی دارد.



شکل ۱- طیف ترکیبات یوموجی الکل[1]،آرتمیزیا الکل۱ و کامفور۲ موجود در اسانس حاصل از گیاه کلپوره با استفاده از طیف GC MS

[1] Yomogi alcohol



شکل ۲- طیف ترکیب پولگون ۱ موجود در اسانس حاصل از گیاه کاکوتی با استفاده از طیف GC MS

جدول ۱- ترکیبات شناسایی شده در اسانس کلپوره

ردیف	ترکیب	زمان نگهداری (دقیقه)	درصد	شاخص کواتس (KI)
۱	α-توژن	۳/۶	۰/۲۴	۹۳۱
۲	α-پینن	۳/۷۴	۲/۲	۹۳۹
۳	کامفن	۴/۰۳	۴/۲۹	۹۵۵
۴	بتا پینن	۴/۴۴	۰/۹۱	۹۷۶
۵	الکل یوموگی	۴/۵۵	۹/۱۶	۱۰۰۱
۶	p-cymene	۵/۱۴	۰/۴۲	۱۰۲۰
۷	لیمونن	۵/۱۸	۰/۵	۱۰۳۳
۸	1/8-سینئول	۵/۲۷	۴/۸۳	۱۰۳۶
۹	γ-ترپینن	۵/۵۶	۰/۵۸	۱۰۶۳
۱۰	درمنه کتون	۵/۶۱	۰/۴۹	۱۰۶۵
۱۱	الکل درمنه	۵/۹۱	۱۸/۶۱	۱۰۸۵
۱۲	α-توژون	۶/۴۶	۰/۸۵	۱۱۰۵
۱۳	ترانس پینوکاروئول	۷/۰۴	۱/۹۲	۱۱۴۲
۱۴	ترانس سابینول	۷/۱۱	۰/۶۳	۱۱۴۵
۱۵	کافور	۷/۲۴	۴۳/۷۲	۱۱۴۸
۱۶	سیس کریزانتنول	۷/۳	۴/۱	۱۱۷۶
۱۷	بورنئول	۷/۴۱	۰/۵۹	۱۱۷۳
۱۸	آرتمیزیل استات	۷/۴۸	۰/۶۵	۱۱۷۵
۱۹	*terpinen-4-ol*	۷/۵۴	۰/۷۲	۱۱۸۰
۲۰	α-ترپینئول	۷/۶	۰/۹۵	۱۱۹۰
۲۱	سیترونلول	۸/۵۷	۰/۶۱	۱۲۲۸
۲۲	سیس کریزانتنیل استات	۹/۰۱	۰/۷۳	۱۲۶۲
۲۳	متیل اوژنول	۱۰/۶۴	۰/۶۴	۱۴۰۵

[1] Artemisa alcohol
[2] camphor

جدول ۲- ترکیبات شناسایی شده در اسانس کاکوتی

ردیف	ترکیب	زمان نگهداری (دقیقه)	درصد	شاخص کواتس (KI)
۱	بتا پینن	۴/۴۴	۰/۲۱	۹۷۶
۲	لیمونن	۵/۱۷	۱/۵۵	۱۰۳۳
۳	سینئول-1/8	۵/۲۷	۰/۳۹	۱۰۳۶
۴	ترپینن-۷	۵/۶۱	۰/۳	۱۰۶۳
۵	ایزوپولگل	۷/۰۸	۱/۲۸	۱۱۴۶
۶	(Z)-ocimenone	۸/۰۶	۰/۴۷	۱۲۳۴
۷	پولگون	۸/۵۶	۹۲/۵۵	۱۲۴۰
۸	پیپریتنون	۱۰/۰۱	۰/۵۶	۱۳۴۵

جدول ۳- میزان و درصد ترکیبات شناسایی شده در اسانس کلپوره و کاکوتی

نام گیاه	فنل μg/mL	فلاونون mg/g dry	فلاونویید μg/mL	کربوهیدرات ggolo/g dryμ	تانن mg galic/g	آنتی‌اکسیدان (DPPH)	IC50
	میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره	میلی‌گرم در گرم وزن خشک	میکروگرم در میلی‌لیتر عصاره	میکروگرم گلوکز در گرم وزن خشک	میلی‌گرم گالیک‌اسید در گرم	درصد مهار رادیکال آزاد	میکروگرم بر میلی‌لیتر
کلپوره	۷/۲۱	۱/۴۸	۰/۵۲	۴/۴۰	۵/۴۵	۹/۷۸	۷/۱
کاکوتی	۶/۵۵	۱/۵۹	۰/۰۷	۰/۵۲	۱/۲۴	۵۱/۳۳	۴۷/۳

بحث

بررسی‌ها روی خواص دارویی گیاه کلپوره نشان داد که عصاره آن خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضد سرطانی بالایی دارد، از این رو در صنعت داروسازی و تغذیه کاربرد وسیعی دارد (۲۲). عصاره حاصل از گیاه کلپوره دربردارنده اپیژنین[1] و روتین[2] است که به دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی، اثر حفاظتی روی سلول‌های نوع بتا لوزالمعده دارد (۲۳).

میزان فنل بالا قدرت مهار کنندگی را نشان می‌دهد و این اثر را می توان به وجود ترکیبات ترپینن (Terpinen) در اجزای اسانس هر دو گونه نسبت داد. پژوهش‌های گذشته نشان داد که نتایج فیتوشیمیایی ممکن است به دلیل عواملی از جمله روش اسانس‌گیری، زمان جمع‌آوری، تفاوت‌های اکولوژیکی محل‌های جمع‌آوری متفاوت باشد (۲۴). تأثیر عواملی همچون موقعیت جغرافیایی، دما، مرحله رشد، زمان برداشت گیاه، نوع حلال جهت استخراج ترکیبات و به‌طور کلی عوامل محیطی و ژنتیکی، تفاوت‌هایی را در نوع ترکیبات اسانس ایجاد می‌کند (۲۵).

صادقی و زارعی در سال ۱۳۹۰ نشان داند که عصاره هگزانی گل گیاه خاکشیر و برگ گیاه شاه‌تره حاوی مقدار بالایی از فنول و فلاونوئید هستند و همچنین به‌دلیل مقادیر EC_{50} پایین، مهار رادیکال آزاد بیشتری داشتند. بنابراین اندام‌های فوق فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی نسبت به سایر اندام‌های هوایی داشتند (۲۶).

نتایج بررسی اسانس و خواص آنتی‌اکسیدانی گیاه کاکوتی کوهی نشان داد که قدرت بازداری عصاره‌ها با بوتیلات هیدروکسی تولوئن که یک آنتی‌اکسیدان سنتزی می‌باشد و به عنوان کنترل مثبت در آزمایش استفاده شد، قدرت آنتی‌اکسیدانی بالای این گیاه را تأیید کرد (۲۷).

گیاهان خانواده نعناعیان انعطاف اکولوژیکی بسیار زیادی نسبت به اقلیم متنوع دارند و تغییرپذیری ترکیبات شیمیایی گونه‌های یکسان گیاهی را می‌توان علاوه بر سن گیاه، به اکوتیپ (Ecotype) و سایر عوامل محیطی نسبت داد (۲۸). عوامل محیطی

[1] Epigenin
[2] Routine

سبب تغییراتی در رشد گیاهان دارویی و نیز کمیت و کیفیت مواد مؤثر آن‌ها نظیر آلکالوییدها، گلیکوزیدها، استروییدها، اسانس‌ها و امثال آن‌ها می‌گردد (۲۹). از نظر سه دیدگاه، کمی، کیفی و ساختار شیمیایی، ترکیبات اسانس دو گونه قابل بیان است که در کاکوتی ۸ ترکیب و در کلپوره ۲۳ ترکیب و از نظر کیفی، کاکوتی با یک جزء (پولگون Pulegone) و کلپوره با دو جزء (کامفور Camphor و آرتیمزیا الکل Artemisia alcohol) به عنوان شاخص معرفی شدند که حکایت از فراوانی مونوترپن‌های اکسیژن‌دار و هیدروکربن‌های مونوترپنی دارد.

در بررسی اثر آنتی‌باکتریالی اسانس گیاه کاکوتی منطقه خراسان شمالی روی باکتری گرم منفی سالمونلا تیفی موریوم در محیط in vitro که این اثر با آزمون‌های حداقل غلظت مهارکنندگی MIC[1] و حداقل غلظت کشندگی MBC[2] و به روش رقت لوله‌ای انجام شد، نتیجه آزمایشات نشان داد که اسانس گیاه کاکوتی کوهی اثر ضد باکتریایی دارد و می‌تواند رشد باکتری سالمونلا تیفی موریوم را مهار کند و به عنوان نگه‌دارنده طبیعی به مواد غذایی اضافه شود. حداقل غلظت مهارکنندگی MIC اسانس کاکوتی کوهی برای باکتری سالمونلا تیفی موریوم معادل ۱۲۵ میکرولیتر بر لیتر و حداقل غلظت کشندگی MBC اسانس کاکوتی کوهی برای باکتری سالمونلا تیفی موریوم معادل ۲۵۰ میکرولیتر بر لیتر به‌دست آمد (۳۰).

از سوی دیگر برداشت گیاهان دارویی خودرو در مناطق موردنظر از اواخر فروردین ماه شروع و تا آبان ماه ادامه پیدا می‌کند و بیشترین میزان برداشت در فصل بهار و در ماه‌های اردیبهشت و خرداد است که مربوط به خانواده‌های نعناعیان Lamiaceae/ Labiateae- بقولات Leguminosae / Papilionaceae / Fabaceae و چتریان یا Apiaceae / Umbelliferae) می‌باشد. این گیاهان معمولاً دارای شکل زیستی تروفیت و همی کریپتوفیت می‌باشند و قسمت‌های مورد استفاده اکثر آن‌ها گل برگ‌ها و ساقه‌های جوان می‌باشد و گیاهانی که در تیرماه برداشت می‌شوند اغلب دارای شکل زیستی فانروفیت و همی کریپتوفیت هستند و قسمت‌های مورد استفاده آنان میوه و دانه می‌باشد و گیاهانی که در پائیز برداشت می‌شوند ژئوفیت هستند که قسمت‌های زیرزمینی آن‌ها (ریشه-ریزوم-غدد) استفاده می‌شود. این تحقیق حکایت از آن دارد که حدود ۹۵٪ گونه‌های گیاهی که با عنوان گیاه دارویی توسط مردم در این منطقه شناسایی و معرفی می‌شود خودرو بوده و حدود ۵٪ اهلی می‌باشد (۳۱). به‌طور کلی آنالیز کمی اسانس با استفاده از نتایج GC و شناسایی ترکیبات با استفاده از GC-MS طبق روش‌های استاندارد انجام پذیرفت. جنس ستون به‌کار رفته در هر دو دستگاه کروماتوگرافی گازی یکسان بوده و از نوع 5DB می‌باشد.

نتیجه‌گیری

میزان فنل در دو گونه کلپوره و کاکوتی به ترتیب ۷/۲۱ و ۶/۵۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر به‌دست آمد و همچنین میزان IC_{50} در گونه کلپوره ۷/۱ و در کاکوتی ۴۷/۳میکرو گرم بر میلی‌لیتر نشان داد. میزان فنل بالا در هر دو گونه نشان دهنده قدرت مهارکنندگی بالا است این عامل به ترکیبات ترپینن Terpinen در اسانس هر دو گونه مربوط می‌باشد. از طرفی هر چه مقدار IC_{50} کمتر باشد میزان مهار رادیکال‌های آزاد بیشتر و در نتیجه خاصیت آنتی‌اکسیدانی بیشتر خواهد بود. با توجه به نتایج به‌دست آمده خاصیت آنتی‌اکسیدانی گیاه کلپوره بیشتر از گونه کاکوتی می‌باشد.

تقدیر و تشکّر

این مقاله حاصل پایان‌نامه تحت عنوان بررسی خصوصیات فیتوشیمیایی دو گونه گیاه دارویی کاکوتی و کلپوره جمع‌آوری شده از منطقه شهرستان سربیشه، در مقطع دکترا در سال ۱۴۰۲ اجرا شد.

تضاد منافع

نویسندگان مقاله اعلام می‌دارند که هیچ گونه تضاد منافعی در پژوهش حاضر وجود ندارد.

[1] Minimum Inhibitory Concenteration (MIC)
[2] Minimum Bactericidal Concentration (MBC)

منابع:

1- Smaoui S, Hsouna AB, Lahmar A, Ennouri K, Mtibaa-Chakchouk A, Sellem I, et al. Bio- Preservative effect of the essential oil of the endemic Mentha piperita used alone and in combination with BacTN635 in stored minced beef meat. Meat Sci. 2016; 117: 196-204. DOI: 10.1016/j.meatsci.2016.03.006

2- Kakaei S, Shahbazi Y. Effect of chitosan-gelatin film incorporated with ethanolic red grape seed extract and *Ziziphora clinopodioides* essential oil on survival of *listeria monocytogenes* and chemical/ microbial and sensory properties of minced trout fillet. LWT - Food Sci Technol. 2016; 72: 432-38. DOI: 10.1016/j.lwt.2016.05.021

3- Gharibzahedi SMT, Mohammadnabi S. Effect of novel bioactive edible coatings based on jujube gum and nettle oil-loaded nanoemulsions on the shelf-life of Beluga sturgeon fillets. Int J Biol Macromol. 2017; 95: 769-77. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2016.11.119

4- Batooli H, Akhbari M, Hosseinizadeh SMJ. Effect of different distillation methods on quantity and quality of essential oil of two *Ziziphora L.* Species. J Med Herb. 2012; 3(3): 135-46. [Persian]. URL: https://jhd.shahrekord.iau.ir/article_633221.html

5- Mozaffarian V. An Encyclopedia of plants, Plant classification. Tehran; Tehran university press. 1994 -750 pp.

6- Alp S, Ercisli S, Dogan H, Temin E, Leto A, Zia-UL-Haq M, et al. Chemical Composition and antioxidant activity *Ziziphora clinopodioides* ecotypes from Turkey. Rom Biotechnol Lett. 2016; 21(2): 11298-303. URL: https://www.rombio.eu/rbl2vol21/6_Ercisli.pdf

7- Smejkal K, Malanik M, Zhaparkulova K, Sakipova Z Ibragimova L Ibadullaeva G, et al. Kazakh Ziziphora Species as sources of bioactive substances. Molecules. 2016; 21(7): 826. DOI: 10.3390/molecules21070826

8- Soltani-Nejad Sh. Chemical Composition and in vitro antibacterial activity of *Ziziphora clinopodioides* lam. Essential oil against some pathogenic bacteria. Afr J Microbiol Res. 2012; 6(7): 1504-8. DOI: 10.5897/AJMR11.1362

9- Masrournia M, Shams AR. Elemental determination and essential oil. Composition of *Ziziphora clinopodioides* and Consideration of its antibacterial effects. Asian J Chem. 2013; 25(12): 6553-6. DOI: 10.14233/ajchem.2013.14358

10- Zargari A. Medicinal plants. 4th ed. Tehran university press. Tehran; 1997. 103-4. https://www.scirp.org/(S(351jmbntvnsjt1aadkposzje))/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=894618

11- Niazmand S, Erfanian Ahmadpoor M, Moosavian M, Derakhshan M. The Positive inotropic and chronotropic effects of *Teucrium polium L.* extraction Guinea pig isolated heart. Pharmacologyonline. 2008; 2: 588-94. [Persian] URL: https://pharmacologyonline.silae.it/files/archives/2008/vol2/56_Niazmand.pdf

12- Mahmoudi R, Zare P, Nosratpour S. Application of *Teucrium Polium* essential oil and Lactobacillus Casein yoghurt. J Essent Oil-Bear Plants. 2015; 18(2): 477-81. DOI: 10.1080/0972060X.2014.935066

13- Amraei M, Ghorbani A, Seifinejad Y, Mousavi S.F, Mohamadpour M,Shirzadpour E. The effect of hydroalcolic extract of Teucrium Polium L. on the inflammatory markers and Lipid Profilein hypercholestrolemic rats. J Inflamm Res. 2018; 11: 265-72. DOI: 10.2147/JIR.S165172

14- Sabzeghabaie A, Asgarpanah J. Essential Oil Composition of *Teucrium. Polium* L. fruits. J Essent Oil Res. 2016; 28(1): 77-80. DOI: 10.1080/10412905.2015.1082947

15- Adams R.P. Identification of essential oil components by Gas chromatography/Mass spectromentry. Allured publishing corporation. carol stream. USA. 2007. URL: https://books.google.com/books/about/Identification_of_Essential_Oil_Componen.html?id=9ut3PQAACAAJ

16- Adams R.P. Identification of essential oil components by Gas chromatography/Mass spectromentry. 4th ed. Allured publishing corporation. carol stream. Illinois. 2017. URL: URL: http://www.juniperus.org/uploads/2/2/6/3/22639912/bk4frontisbnpreface-contents5thedonline2017.pdf.

17- Meshaikhi C, Atashi S. Guide to plant physiology tests. Agricultural Education Research. 2016. 317 pp.

18- Miliauskas G,Venskutonis P.R Van Beek T.A. Screening of radical Scavening activity of some medicinal and aromatic plant extracts. Food Chem. 2004; 85(2): 231-7. DOI: 10.1016/j.foodchem.2003.05.007

19- Krishnaiah D, Devi T, Bono A, Sarbatly R. Studies on phytochemical Constituents of six Malaysian medicinal plants. J Med Plant Res. 2009; 3(2): 67-72. DOI: 10.5897/JMPR.9001153

20- Schiegel H.G. Die verwertung organischer sauren durch chlorella in licht. Plata. 1956; 47: 510-26. DOI 10.1007/BF01935418

21- Dehghan Z, Sefidkon F, Emami S.M, Kalvandi R. The effects of ecological factors on essential oil yield and Composition of *Ziziphora clinopodioides* lam. Subsp. Rigida (Boiss). Rech. F. Journal of plant Researches (Iranian Journal of Biology). 2014; 27(1): 61-71. [Persian]. URL: https://plant.ijbio.ir/article_294.html?lang=en

22- Goulas V, Gomez-Caravaca AM, Exarchou V, Gerothanassis IP, Segura-Carretero A, Gutiérrez AF. Exploring the antioxidant potential of Teucrium polium extracts by HPLCSPE- NMR and on-line radical scavenging activity detection. LWT - Food Sci Technol. 2012; 46(1): 104-9. DOI: 10.1016/j.lwt.2011.10.019

23- Esmaeili MA, Sadeghi H. Pancreatic B-cell protective effect of rutin and apigenin isolated from Teucrium Polium. Pharmacology online. 2009; 2: 341-53. URL: https://pharmacologyonline.silae.it/files/archives/2009/vol2/033.Ali.pdf

24- Shahbazi Y, Shavisi N, Mohebi E. Potential application of *Ziziphora Clinopodioides* essential oil and niacinas natural preservatives against Bacillus cereus and *Escherichia coli* O157:H7 in Commercial barley soup. Journal of food safety. 2016; 36(4): 435-41. DOI: 10.1111/jfs.12257

25- Rondeh M, Valizadeh J, Kazemipour N, 2018. Investigation of the essential oil and antioxidant properties of the mountain kakuti plant. National Conference of Medicinal Plants. 45-51. https://www.sid.ir/paper/820623/fa

26- Sadeghi M, Zarei M.A. Evaluation of Antioxidant Activity and Determination of Phenol and Flavonoids in Hexane Extract of Aerial Plants Descurainia Sophia and Fumaria vaillantii. Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology), 2020; 33(2): 384-395. [Persian]. URL: https://plant.ijbio.ir/article_1531.html?lang=en

27- Mahdavi S.kh, Asghari P, Mazandarani M, Hosseini S.A, Human B. Evaluation of hypericinin *Hypericum. Perforatum* L. (Case study: Golestan National park and Ramian). Eco-phytochemical Journal of Medicinal plants. 2013; 1(2): 76-87. [Persian]. URL: https://ecophytochemical.gorgan.iau.ir/article_555365.html

28- Abtahi S.M, Bagherzadeh K. Essential Oil Composition of *Teucrium. Polium* L. in different ecological conditions (Isfahan province). Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants. 2014; 2(2): 30-8. [Persian]. URL: https://ecophytochemical.gorgan.iau.ir/article_555397.html, https://www.sid.ir/paper/247878/fa

29- Sadeghi H, Jamalpour S,Shirzadi M.H. Variability in essential oil of *Teucrium polium* L. of different Latitudinal Populations. Ind Crops Prod. 2014; 54: 130-4. [Persian]. DOI: 10.1016/j.indcrop.2014.01.015

30- Baygan A, Safaiyan Sh, Shahinfar R, Khushkho Zh. Evaluation of antibacterial effect of Ziziphora plant essential oil in North Khorasan region on Gram-negative Salmonella Typhimurium bacteria in vitro. J Food Sci Technol. 130(19), 355-70. [Persian]. https://fsct.modares.ac.ir/article-7-61678-fa.pdf

31- Sadat-Hosseinia M, Farajpour M, Boroomand N, Solaimani-Sardou F. Ethnopharmacological Studies of indigenous medicinal plants in the south of kerman, Iran. J Ethnopharmacol. 2017; 199: 194-206. DOI: 10.1016/J. jep-2017.02.006.