

بِسْمِ اللّٰهِ الرَّحْمٰنِ الرَّحِيْمِ



دانشگاه الزهرا (س)

دانشکده علوم پایه

پایان نامه

جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد

رشته زیست شناسی - گرایش فیزیولوژی گیاهی

عنوان

بررسی خواص آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی گیاه مرزنگوتن *(Origanum majorana L.)*

استاد راهنما

دکتر عذر ا صبورا

استاد مشاور

دکتر پریسا محمدی

دانشجو

فاطمه پوربرات

۹۰ اسفند

کلیه دستاوردهای این تحقیق متعلق به  
دانشگاه الزهرا (س) است.



تَعْدِيمُهُ

خدايی که آفرید

جهان را، انسان را، عقل را، معرفت را، عشق را

و به کسانی که عشقشان را در وجودم دمیدند

و به ره پویان علم و آگاهی

تقدیم به روح پاک پدرم

که جلوه‌های راستین انسانیت را در وجودم پروراند

با قلبی آرام و مهتابی، یک‌نگاه و صداقت را به ساحل روح آورد

و جام زنگی ام را از زلال می‌آش آسمانی سرشار کرد

وبه مادرم

دیای بی کران فداکاری و عشق

که وجودم برایش همه نج بود و وجودش برایم همه مر

با آسمان پیشانش، شوره زار قلبم را پاک کرد

و کلبه محبتش را در دشت نگاهم ساخت

وبه خواهرانم طیه وزینب و برادرم حسین

ومجا

که وجودشان آرامش جانم بود

سپاس و ستایش خداوندی را سنراست که در دست هایم بذرگانی دانستن را رویانه و دیده را به نور معرفت روشن کردند. خداوند بلند مرتبه را سپاس می گوییم که در محظوظه زندگی یاور م بوده و پرتو لایزال هستی وجودش روشن گر را هم بوده و هست در اینجا برخود لازم می دانم که از استاد راهنمای بزرگوارم و آموزگار خوبی ها سرکار خانم دکتر عذر اصبور اکه الفبای تحقیق، صبوری و پشتکار را در این راه از ایشان آموختم.

استاد مشاور ارجمند، سرکار خانم دکتر پریسا محمدی که با همی و تلاش های وصف نلذیرش مرادر پیشبرد این پروژه میاری کردند. سرکار خانم پروین فلاحتی، مسئول آزمایشگاه میکروویلوزی دانشکده زیست شناسی، که با همی و تلاش های بی دینگشان مرادر انجام این پروژه مساعدت نمودند.

آقای دکتر حسن فلاح حسینی و موسسه کیا هان دارویی باریج انسان کاشان که همکاری لازم را در این پروژه مبذول داشتند. و دوستان عزیزم خدیجه دادمر، ناهید امیری، سیده عامری، سون عباسیان، محبوبه سکری، الله ام احمدی و سایر دوستان عزیزم که حاضره خوشی را در ذهنم بیاد گار کذاشته اند، کمال مشکر و قردادی را داشته باشم.

## فصل اول

۱	.....	۱-۱ تاریخچه
۳	.....	۲-۱ خصوصیات گیاه شناسی
۴	.....	۳-۱ پراکنش جغرافیایی
۵	.....	۴-۱ ترکیبات شناسایی شده در گیاه مرزنگوش
۸	.....	۵-۱ مروری بر پژوهش های انجام شده در گیاه مرزنگوش
۸	.....	۵-۱-۱ کاربردهای پزشکی مرزنگوش
۱۰	.....	۵-۱-۲ کاربرد های دارویی و بهداشتی گیاه مرزنگوش
۱۲	.....	۵-۱-۳ اثر ترکیبات موجود در گیاه در صنعت غذایی
۱۴	.....	۵-۱-۴ ترکیبات فنلی با خاصیت آنتی اکسیدانی
۱۶	.....	۵-۱-۵ اسیدهای فنلی
۱۶	.....	۵-۱-۶-۱ پلی فنل ها
۱۹	.....	۵-۱-۷-۱ نقش فنل و فلاونوئید ها در گیاهان
۲۱	.....	۵-۱-۸-۱ نقش فنل و فلاونوئید ها در سایر موجودات
۲۴	.....	۵-۱-۹-۱ تشکیل رادیکال های آزاد و فعالیت آنتی اکسیدان ها
۲۶	.....	۵-۱-۱۰-۱ چگونگی عملکرد آنتی اکسیدان ها
۲۸	.....	۵-۱-۱۱-۱ عوامل ضد میکروبی و مکانیسم عمل آنها
۲۹	.....	۵-۱-۱۲-۱ اهمیت استفاده از عوامل ضد میکروبی طبیعی
۳۰	.....	۵-۱-۱۳-۱ میکروب های بیماری زای مورد مطالعه در این پژوهش
۳۶	.....	۵-۱-۱۴-۱ هدف از پژوهش
۳۸	.....	فصل دوم مواد و روش ها
۳۸	.....	۶-۱ تهییه نمونه گیاهی
۳۸	.....	۶-۲ استخراج ترکیبات موجود در گیاه با روش های مختلف عصاره گیری

۳۹	.....	۳-۲ استخراج ترکیبات با استفاده از حلال های مختلف
۴۰	.....	۴-۲ ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره گیاه مرزنگوش
۴۰	.....	۱-۴-۲ فعالیت جاروب کنندگی رادیکال های آزاد DPPH
۴۰	.....	۲-۴-۲ روش $\beta$ -کاروتون / لینولئیک اسید
۴۱	.....	۳-۴-۲ سنجش ترکیبات فنلی تام
۴۲	.....	۴-۴-۲ سنجش ترکیبات فلاونوئیدی تام
۴۲	.....	۵-۴-۲ سنجش رزمارینیک اسید با روش اسپکتروفوتومتری
۴۳	.....	۵-۲ سنجش میزان پلی ساکاریدی
۴۳	.....	۱-۵-۲ استخراج پلی ساکاریدی
۴۴	.....	۲-۵-۲ روش سنجش پلی ساکاریدها
۴۵	.....	۶-۲ اثر زمان بر میزان پایداری ترکیبات آنتی اکسیدانی عصاره
۴۵	.....	۷-۲ اثر دما بر میزان پایداری ترکیبات آنتی اکسیدانی عصاره
۴۶	.....	۸-۲ سنجش های بیوشیمیایی گیاه مرزنگوش در شرایط در زیوه ( <i>in vitro</i> )
۴۶	.....	۱-۸-۲ مراحل استریل بذر های گیاه مرزنگوش جمعیت کاشان
۴۸	.....	۲-۸-۲ تهیه محیط کشت موراشیک- اسکوگ (MS) پایه
۴۸	.....	۳-۸-۲ نگهداری محیط های کشت حاوی بذر مرزنگوش
۴۸	.....	۹-۲ کروماتوگرافی لایه نازک TLC
۴۸	.....	۱-۹-۲ کروماتوگرافی لایه نازک یک بعدی
۴۹	.....	۲-۹-۲ کروماتوگرافی لایه نازک دو بعدی
۵۰	.....	۳-۹-۲ آشکارسازی لکه های فنل و فلاونوئید
۵۰	.....	۴-۹-۲ کروماتوگرافی لایه نازک برای تأیید اثر آنتی اکسیدانی عصاره گیاه
۵۰	.....	۱۰-۲ کروماتوگرافی ستونی عصاره های گلیکوزیدی و آگلیکونی گیاه مرزنگوش
۵۰	.....	۱۰-۲ آماده سازی ستون کروماتوگرافی

۵۱	..... ۲-۱۰-۲ آماده سازی عصاره های گلیکوزیدی و آگلیکونی
۵۱	..... ۲-۱۰-۳ کروماتوگرافی ستونی عصاره اتیل استاتی (عصاره آگلیکونی)
۵۲	..... ۲-۱۰-۴ کروماتوگرافی ستونی عصاره آبی (گلیکوزیدی)
۵۳	..... ۲-۱۱-۱ بررسی اثرات ضد باکتریایی و ضد قارچی عصاره گیاه
۵۳	..... ۲-۱۱-۲ تهیه نمونه های باکتریایی و قارچی
۵۴	..... ۲-۱۱-۳ تهیه کشت از نمونه ها
۵۴	..... ۲-۱۱-۴ تهیه و آماده سازی عصاره گیاهی
۵۴	..... ۲-۱۱-۵ سنجش حساسیت نسبت به عصاره گیاهی
۵۵	..... ۲-۱۱-۶ تعیین حساسیت با روش انتشار در آگار
۵۵	..... ۲-۱۱-۷ تعیین کمترین غلظت بازدارنده (MIC)
۵۷	..... ۲-۱۱-۸ تعیین حداقل میزان کشنده باکتریایی (MBC) و قارچ (MFC)
۵۷	..... ۲-۱۲-۱ بررسی اثر عصاره گیاه بر جلوگیری از تولید پیوسینین
۵۸	..... ۲-۱۲-۲ تجزیه و تحلیل آماری
۵۹	..... ۲-۱۳-۱ فصل سوم نتایج
۵۹	..... ۳-۱-۱ مقایسه خاصیت آنتی اکسیدانی مرزنگوش در روش های مختلف عصاره گیری
۵۹	..... ۳-۱-۲ مقایسه با روش $\beta$ -کاروتون / لینولئیک اسید
۶۱	..... ۳-۱-۳ مقایسه با روش جاروب کنندگی رادیکال های آزاد DPPH
۶۳	..... ۳-۱-۴ نتایج حاصل از سنجش فلاونوئید تام طی عصاره گیری روش های مختلف
۶۵	..... ۳-۱-۵ نتایج حاصل از سنجش فنل تام در روش های مختلف عصاره گیری
۶۷	..... ۳-۱-۶ مقایسه اثر حللهای مختلف در استخراج ترکیبات آنتی اکسیدانی
۶۷	..... ۳-۱-۷ نتایج حاصل از روش سنجش $\beta$ -کاروتون / لینولئیک اسید
۶۹	..... ۳-۱-۸ نتایج حاصل از مقایسه میزان فعالیت جاروب کنندگی رادیکال های آزاد DPPH
۷۱	..... ۳-۱-۹ مقایسه محتواهای ترکیبات فلاونوئیدی تام استخراج شده با حللهای مختلف

۴-۲-۳	مقایسه محتوای ترکیبات فنلی تام استخراج شده با حلال های مختلف ..... ۷۲
۳-۳	نتایج حاصل از بررسی اثر زمان بر میزان پایداری ترکیبات آنتی اکسیدانی ..... ۷۴
۱-۳-۳	۱- بررسی ماندگاری فعالیت جاروب کنندگی رادیکال های آزاد DPPH عصاره ها ..... ۷۵
۲-۳-۳	۲- مقایسه تغییر محتوای فلاونوئید تام طی دوره نگهداری یا انبارداری ..... ۷۶
۳-۳-۳	۳- بررسی تغییر محتوای فنل تام طی دوره انبارداری ..... ۷۸
۴-۳	۴- اثر دما بر میزان پایداری ترکیبات آنتی اکسیدانی ..... ۷۹
۱-۴-۳	۱- اثر دما بر میزان فعالیت جاروب کنندگی رادیکال های آزاد DPPH ..... ۸۰
۲-۴-۳	۲- تاثیر تیمار دما بر میزان پایداری ترکیبات فلاونوئیدی تام ..... ۸۱
۳-۴-۳	۳- اثر دما بر میزان پایداری ترکیبات فنلی تام ..... ۸۲
۴-۳	۴- بررسی برخی خصوصیات بیوشیمیابی گیاهان حاصل از کشت بذر مرزنگوش در محیط کشت MS پایه ..... ۸۴
۱-۵-۳	۱- فعالیت آنتی اکسیدانی و محتوای فنل و فلاونوئید تام اندام هوایی ..... ۸۴
۲-۵-۳	۲- فعالیت آنتی اکسیدانی و محتوای فنل و فلاونوئید تام ریشه ها ..... ۸۶
۳-۶	۳- نتایج حاصل از بررسی محتوای پلی ساکاریدی نمونه های جمع آوری شده از مزرعه و کشت بافت ..... ۸۸
۳-۷	۷- نتایج حاصل از بررسی رزمارینیک اسید نمونه های جمع آوری شده از مزرعه و کشت بافت ..... ۸۹
۳-۸	۸- کروماتوگرافی لایه نازک (TLC) ..... ۹۱
۱-۸-۳	۱- کروماتوگرافی لایه نازک یک بعدی ..... ۹۱
۳-۸-۳	۲- نتایج حاصل از کروماتوگرافی لایه نازک دو بعدی ..... ۹۵
۳-۸-۳	۳- تائید فعالیت آنتی اکسیداری با کروماتوگرافی لایه نازک (TLC) ..... ۹۹
۴-۸-۳	۴- کروماتوگرافی ستونی ..... ۱۰۰
۳-۹	۹- اثر ضد میکروبی گیاه مرزنگوش ..... ۱۰۴
۳-۹	۱- نتایج اثر ضد میکروبی عصاره ها به روش انتشار دیسک ..... ۱۰۴
۳-۹	۲- تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) عصاره آبی و اتیل استاتی ..... ۱۰۸
۳-۹-۱	۳- ۱- تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) عصاره آبی و اتیل استاتی علیه ۸ سویه باکتری ..... ۱۰۸

۱۱۰	۲-۲-۹-۳- اثرات ضد قارچی و ضد مخمری عصاره آبی و اتیل استاتنی گیاه مرزنگوش
۱۱۳	۳-۹-۳- اثر عصاره گیاه بر تولید پیوسینانین در <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
۱۱۶	فصل چهارم بحث
۱۱۶	۴-۱- تاثیر روش های مختلف عصاره گیری در استخراج ترکیبات آنتی اکسیدانی
۱۲۰	۴-۲- ضرورت استفاده از روش های مختلف سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی
۱۲۳	۴-۳- تاثیر نوع بافت در فعالیت آنتی اکسیدانی آنها
۱۲۷	۴-۴- مقایسه کیفی فعالیت آنتی اکسیدانی با استفاده از کروماتوگرافی لایه نازک
۱۲۷	۴-۵- تاثیر استخراج ترکیبات آنتی اکسیدانی با استفاده از حلal های مختلف
۱۳۰	۴-۶- تاثیر زمان بر میزان پایداری ترکیبات آنتی اکسیدانی
۱۳۲	۴-۷- تاثیر دما بر پایداری ترکیبات آنتی اکسیدانی
۱۳۴	۴-۸- میزان پلی ساکاریدهای موجود در گیاه
۱۳۵	۴-۹- مقایسه محتوای رزمارینیک اسید موجود در گیاهان دو جمعیت تهران و کاشان و گیاهان کشت شده در محیط MS پایه
۱۳۶	۴-۱۰- مقایسه فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره گیاه مرزنگوش در شرایط کشت بافت
۱۳۸	۴-۱۱- کروماتوگرافی عصاره و تفکیک اجزاء موجود در آن
۱۴۱.	۴-۱۲- اثرات ضد میکروبی عصاره گیاه مرزنگوش
۱۴۷	۴-۱۳- نتیجه گیری کلی
۱۴۸	۴-۱۴- پیشنهادات
۱۴۹	فصل پنجم منابع

## ۱-۱- تاریخچه

امروزه غذاهای سنتی و گیاهی با استقبال خوبی در بین عموم مواجه شده است و با توجه به طیف رو به افزایش مصرف کنندگان، آینده روشنی در انتظار تجارت بازار جهانی است. همچنان که امروزه داروهای گیاهی به عنوان یک منبع بزرگ اقتصادی در سراسر جهان محسوب می‌شوند و وجود تنوع وسیعی از گیاهان در گستره زمین در پیشبرد آن کمک شایانی کرده است. از طرف دیگر، دریچه‌ای به سوی شناخت بیشتر ترکیبات موجود در گیاهان گشوده شده است. کاربرد ترکیبات موجود در گیاهان معطر از قدیم مورد توجه بوده است. این ترکیبات علاوه بر معطر کردن غذا، نقش حفاظت مواد غذایی را نیز بر عهده داشته‌اند (Sahin *et al.*, 2004; Joshi *et al.*, 2009).

بیماری‌های ایجاد شده با عفونت باکتریایی و قارچی دلیل اصلی مرگ و میر در انسان‌ها بوده است. داروشناسی، گیاه پزشکی، میکروبیولوژی بالینی، گیاه درمانی و حفاظت مواد غذایی زمینه‌هایی است که امروزه گیاهان نقش گستردگی را در آنها ایفا می‌کنند.

اخیراً مطالعات زیادی در زمینه اهمیت گیاهان در مهار فعاليت میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا صورت گرفته است (Vagi *et al.*, 2005; Bendahou *et al.*, 2008; Joshi *et al.*, 2009). در واقع ترکیبات ضدمیکروبی مشتق شده از گیاهان منبع وسیع دست نخورده‌ای است که می‌تواند مقدمه کشف داروها و آنتی‌بیوتیک‌های جدید شود. امروزه تلاش‌ها برای پیشرفت در زمینه شناخت ترکیبات موثره و استفاده از این گیاهان در درمان بسیاری از بیماری‌ها رو به افزایش است.

در مصر و روم مرزنگوش را نماد شادی می‌دانستند و اعتقاد آنها بر این بود که روییدن این گیاه بر روی قبر مردگانشان باعث آمرزش آنها تا ابد می‌شود. همچنین در مراسم ازدواج از آن برای تزئین تاج عروس استفاده می‌شد. به دلیل معطر بودن این گیاه از آن در خوشبو کردن اسباب خانه استفاده می‌کردند. در قرون وسطی به عنوان دارو در درمان بسیاری از بیماری‌ها مورد استفاده قرار می‌گرفت. مرزنگوش قادر است سمیت ایجاد شده توسط جانوران سمی و مسمومیت حاصل از شوکران و خشخش را از بین ببرد. ارسطو ادعا کرد که لاک پشت‌ها بعد از بلع مار برای جلوگیری از مرگ حاصل از سم آن، گیاه مرزنگوش می‌خورند، بنابراین این گیاه خاصیت ضدسمی دارد (Meyers, 2001 و Peter, 2005).

سال‌ها قبل ارگانو و مرزنگوش (*Origanum majorana* L.) هر دو به نام *marjoram* شناخته می‌شدند اما بعد از آن مرزنگوش یک عضو جدایگانه از خانواده نعنایان در نظر گرفته و با عنوان *Majorana hortensis* M. نام گذاری شد (Peter, 2001). مرزنگوش رابطه نزدیکی با گیاه ارگانو که در واقع مرزنگوش وحشی (*Origanum vulgare*) است، دارد و از آنجا که عطر این گیاه مشابه با مرزنگوش است، حتی گاهی به اشتباه در بازار نیز به فروش می‌رسد. هر دو گیاه در تریکومهای غده‌ای خود دارای روغن‌های فرار هستند که شامل ترپن‌وئیدهای فرار، الکل‌ها، استرها و ترکیبات معطر مختلف است (Baranska et al., 2005).

مرزنگوش (L.). از خانواده *Origanum*، جنس *Lamiaceae* است. که در طبقه بندي گذشته به عنوان *Majorana hortensis* Moench نام‌گذاری شده بود (Vage et al., 2002). این جنس دارای ۳ گروه، ۱۰ بخش، ۴۳ گونه، ۱۸ هیبرید است و به طور عمده در نواحی مدیترانه‌ای انتشار یافته‌اند که ۸۰٪ آنها در شرق مدیترانه رشد می‌کنند (Skoula et al., 1999).

در کشورهای خاورمیانه این گیاه با نام متراوف ارگانو و هم‌چنین Sweet marjoram و Knotted marjoram کار می‌رود. در فرانسه قدیم majorane، و لاتین قرون وسطی majorana نامیده می‌شد که ریشه لغوی آن از لغت maior (maj) است. در کشورهای دیگر اسامی گیاه فوق به شرح زیر می‌باشد:

مصر: (Boulos, 1983) za ater bardaqoush ،rayhan dawoud ،mardaqoush

انگلیس: .knotted marjoram ،sweet marjoram ،marjoram

عربی: .mizunjuske ،mardqouch ،barsagusha ،bardagoush

هلند: marjolein

فرانسه: origane ،marjolaine

آلمان: wurstkraut ،meiran ،echter majoran ،gartendost

پرتغال: Manjerona

ایتالیا: Maggiorana

اسپانیا: Mejorana (Peter, 2001; Jirovetz et al., 2008)

## ۱- خصوصیات گیاه شناسی

شرح جنس: این گیاه بوته‌ای، یا علف‌هایی پایا، ساقه خیزان، یا ایستاده و غالباً منشعب است. برگ‌ها بیضی، تخم مرغی، قلی شکل، یا مدور، کرک دار و یا بدون کرک هستند. گلهای در چرخه هایی دارای ۲ گل یا بیشتر واقع‌اند که سنبله‌هایی کم و بیش متراکم و انشعاباتی را به صورت خوش‌گزین تشکیل می‌دهند. برگ‌ها گاهی تا سه برابر بلندتر از کاسه، غشایی، به رنگ های ارغوانی و زرد مایل به سبزند. کاسه گل به شکل های گوناگون، تقریباً نامنظم، دارای ۵ دندانه ناهمقد، یا تقریباً دو لبه، جام ارغوانی، صورتی، یا سفید، دارای لبه‌ای دو شکافی به صورت دو لب ناهمسان و لوله‌ای راست است. پرچم‌ها ۴ عدد و دو بدو همقد، دو پرچم پایینی همقد جام و یا بلندتر از آن‌اند و کم و بیش از جام خارج شده و یا به طور خیزان در زیر آن قرار می‌گیرند. فندقه کوچک، تخم مرغی و رنگ آنها مایل به قهوه‌ای است. این جنس در ایران دارای ۳ گونه است که اخیراً آنها را به عنوان زیر گونه‌های گونه *vulgare*<sup>۷</sup> نوشتند اند البته با صفات مشخصی که دارند باید آنها را سه گونه مستقل دانست (قهرمان، ۱۳۷۳).

شرح گونه *L.* *Origanum majorana* انبوه، به ندرت چند ساله، و اغلب به صورت ۱ ساله رشد می‌کند. برگ‌ها کامل و آنهایی که بزرگ هستند همیشه به صورت تک تک هستند. برگ‌ها سبز- خاکستری روشن و تخم مرغی در قطبین بیضی، حاشیه کامل، ۲۱ mm طول و ۱۱ mm عرض. گلهای کوچک و ریز، سفید یا صورتی یا قرمز هستند و کمتر از ۰/۳ cm طول دارند. ساقه در تماس با خاک تولید ریشه می‌کند و تشکیل توده انبوهای را می‌دهد. اگر در گلدان پرورش یابند ساقه‌ها همانند آبشاری از شاخ و برگ سبز- خاکستری می‌شوند. برگ‌های بیضی مشخصه خانواده آن است برگ‌ها تا ۲/۵ cm بلندی دارند. روغن‌های فرار بسیار قوی دارند که درصد بیشتری از آن در برگ‌ها وجود دارد، در حالی که تنها عناصر کم مصرف<sup>۱</sup> در گلهای ساقه وجود دارند (Gunther, 1974; Parry, 1969).

<sup>۱</sup> trace

### ۱-۳- پراکنش جغرافیایی

۳۸ گونه از *Origanum* در جهان شناخته شده که بومی قبرس و شرق مدیترانه هستند . . ۸۰٪ از آنها در ناحیه شرق مدیترانه قرار دارند و ۱۶ گونه از آن بومی ترکیه است (Novak *et al.*, 2000; Kulisic *et al.*, 2004). در گذشته مرزنگوش بومی مناطق مدیترانه ای بود . اما امروزه در آلمان مرکزی، مجارستان، جنوب فرانسه، ایالات متحده آمریکا، آسیای غربی، آمریکای شمالی و جنوبی، اسپانیا، پرتغال، آفریقای شمالی، مراکش، تونس، چین، روسیه و هند نیز رشد می کند (Peter, 2001). مرزنگوش بیشتر بر روی صخره ها و سراسبی ها و در کوه های پر از صخره در ارتفاعات وسیع (۴۰۰-۰۰ m) رشد می کند (Sahin, 2004).



شکل ۱-۱- تصویر سیستماتیکی گیاه *Origanum* spp.

محتوای مواد شیمیایی و ویژگی های آروماتیکی مرزنگوش به دلیل حضور در اکوتیپ های مختلف دچار تغییر می شوند. در مطالعات ق بلی ثابت شده است که فعالیت آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی و دیگر فعالیت های بیولوژیکی گیاه مرزنگوش ممکن است تحت تاثیر تفاوت در نحوه کشت، منطقه رویشی، مراحل رشد و نموی و فصل رشد تغییر کند (Kulisic *et al.*, 2004). این گیاه در خاک های مرطوب و سبک بهترین رشد را دارد. همچنین برای رشد نیاز به نور کامل خورشید دارد، البته در گرمترین روزهای تابستان باید در سایه قرار گیرد. رطوبت آنها باید کافی باشد (دکتر قهرمان، ۱۳۷۳).

#### ۴-۱- ترکیبات شناسایی شده دورزنگوش

گیاهان آوندی قادر به تولید مجموعه ای از مولکول های ترکیبات فیتوشیمی آلی هستند که دگرگوهره های ثانوی نامیده می شوند. این ترکیبات نقش های ساختاری و حفاظتی متنوعی در گیاهان دارند (Stalikas, 2007). ترپنوفئیدها و فنیل پروپانوفئیدها از دگرگوهره های اولی هستند که از مسیرهای مختلفی مشتق می شوند. ترپنوفئیدها از واحد های پنج کربنی ایزوپنتنیل پیروفسفات<sup>۲</sup> (IPP) و ایزومر خود، دی متیل آلیل پیروفسفات (DMAPP) سنتز می شوند (Sangwan *et al.*, 2001).

گیاهان معطر ترپن های C<sub>10</sub> و C<sub>15</sub> تولید می کنند که از واحدهای ایزوپرن مشتق شده اند، این مواد که انسان نامیده می شوند و از بخش های مختلف گیاه استخراج می شود شامل انواع هیدروکربن های ترپنی، حلقه ای و غیر حلقه ای، و ترکیبات ایزوپرنوفئید اکسیژن دار شده هستند (Daferera *et al.*, 2000). در کل ترپنوفئید ها (مونو ترپنوفئیدها و سیکوئی ترپن ها) جزء غالب انسان ها به شمار می آیند، اگرچه برخی از آنها از موارد شیمیایی دیگری مانند فنیل پروپانوفئیدها نیز تشکیل شده اند. فنیل پروپانوفئیدها مسئول عطر و طعم انسان ها هستند (كارنوسيک اسید<sup>۳</sup>). کارنوسيک اسید<sup>۳</sup> یک دی فنل دی ترپن است که ساختاری مشابه با رزمارینیک اسید<sup>۴</sup> دارد. هیدروکسیلاسیون کارنوسيک اسید منجر به تولید کارنوزول<sup>۵</sup> می شود که علاوه بر پایداری دارای

<sup>2</sup> Isopentenyl pyrophosphate

<sup>3</sup> Carnosic acid

<sup>4</sup> Rosmarinic acid

<sup>5</sup> Carnosol

خاصیت آنتی اکسیدانی نیز می باشد. همچنین ویژگی های ضد التهابی، ضد تومور این ترکیبات تأثیر داشته است .

ارسولیک اسید<sup>۶</sup> نیز یک ترکیب تری ترپنوفلورین پنج حلقه ای موجود در مرزنگوش است (Vagi et al., 2005).

در خانواده نعناعیان تما م روغن های فرار در غده هایی که در سطح برگ قرار دارند تجمع می یابند. اما فلاونوئیدهای آزاد در اطراف تریکوم های غده ای یا در ترکیب با مومنهای اپی کوتیکولار هستند. ترشح فلاونوئیدها اغلب با تولید دیگر محصولات طبیعی چربی دوست مرتبط است که ترپنوفلورین هستند (Wollenweber and Valent-Vetschera 1992 )

Novak و همکاران در سال ۲۰۰۰ ترکیب اصلی روغن های فرار گیاه مرزنگوش را الكل های مونوترپنی اپی مریک گزارش کردند که شامل (۱) ترانس سابینن هیدرات (۲) سیس- سابینن هیدرات (۳) و سیس- سابینن هیدرات استات است. شکل پیوندی این ترکیبات (Z)- سابینن هیدرات پیروفسفات و شکل آزاد آن (Z)- سابینن هیدرات استات است. اسکلت سابینن هیدرات، ساختار اولیه مونوترپن ها را در مرزنگوش نشان می دهد. سیس سابینن هیدرات ترکیب معطر مرزنگوش و ویژگی های دارویی را دارد در حالی که ترانس سابینن هیدرات هیچ کدام از ویژگی هایی موجود در گیاه مرزنگوش را ندارد. سنتز این دو ایزومر توسط سابینن هیدرات سنتاز از جرانیل پیروفسفات<sup>۷</sup> (GPP) صورت می گیرد. (Novak et al., 2000; Fischer et al., 1988)

بر اساس اطلاعات <sup>۸</sup>USDA (۲۰۰۳) ترکیبات موجود در گیاه مرزنگوش شامل: آسکوربیک اسید<sup>۹</sup>، بتا کاروتون<sup>۱۰</sup>، بتا- سیتو استرون<sup>۱۱</sup>، کافئیک اسید<sup>۱۲</sup>، کارواکرول<sup>۱۳</sup>، یوگنول<sup>۱۴</sup>، هیدروکوئینون<sup>۱۵</sup>، لینالیل- استات<sup>۱۶</sup>، میرسن<sup>۱۷</sup>، اولئونولیک اسید<sup>۱۸</sup>، فنل، رزمارینیک اسید، تانن<sup>۱۹</sup>، ترپین-۴-ال<sup>۲۰</sup>، ترانس- آرچول<sup>۲۱</sup> و اورسولیک اسید است (Suhaj, 2006)

<sup>6</sup> Ursolic acid

<sup>7</sup> Geranyl pyrophosphate

<sup>8</sup> U. S. DEPARTMENT OF AGRICULTURE

<sup>9</sup> Ascorbic acid

<sup>10</sup> β - carotene

<sup>11</sup> β -sitosterol

<sup>12</sup> Caffeic acid

<sup>13</sup> Carvacrol

<sup>14</sup> Eugenol

<sup>15</sup> Hydroquinone

<sup>16</sup> Linalyl acetate

<sup>17</sup> Myrcene

<sup>18</sup> Oleanolic acid

<sup>19</sup> Tannin

<sup>20</sup> Terpinen-4-ol

<sup>21</sup> Trans- anethole

مطابق با نتایج بدست آمده مرزنگوش حاوی ۳٪ روغن فرار است که شامل گلیکوزید فلاونوئیدی، تانن ها، استروئیدها ( $\beta$ -سیتواسترول) و تری ترپنوئید ها (اوئانولیک اسید و ارسولیک اسید) می باشد (Leung and Foster, 1996; Vage et al., 2002). ترکیبات شناسایی شده با فعالیت آنتی اکسیدانی در *O. majorana* شامل ترپن-۴-ال، گاما ترپین ۲۲، ترانس- سابینن هیدرات ۲۳، لینالول ۲۴، ترانس سابینن هیدرات استات، توجانول ۲۵، ترپینولن ۲۶ و تیمول ۲۷ است. این ترکیبات ۰.۸۰٪ از کل روغن های فرار موجود در گیاه را تشکیل می دهند منوترپنوئیدها ۹۰/۹۴ درصد اجزای تشکیل دهنده روغن فرار را شامل می شوند که از این مقدار ۳۳/۹۳ درصد منوترپنوئیدهای هیدروکربنی و ۵۷/۰۱ درصد منوترپنوئیدهای اکسیژنه می باشند (El-Ghorab et al., 2004; Vera and Chane-Ming, 1999).

Vagi و همکاران (۲۰۰۵) با استفاده از روش عصاره گیری فوق بحرانی و عصاره اتانولی بدست آمده به روش سوکسله از گیاه مرزنگوش ترکیباتی مانند  $\gamma$ -ترپین، لینالول،  $\alpha$ -ترپینولن ۲۹،  $\alpha$ -ترپین،  $\beta$ -ترپین، کاریوفیلن ۳۰، و اسپاتولزول ۳۱ و سیس- سابینن را شناسایی کردند. نتایج آنها نشان داد که می توان با استفاده از روش فوق بحرانی تمام ترکیباتی که در اسانس قابل شناسایی است به این روش استخراج کرد.

فلاونوئیدها بخش مهمی از آنتی اکسیدان های طبیعی این گیاه را در بر می گیرند، مهمترین ترکیبات دارویی مرزنگوش از گروه فلاونوئیدها کوئرستین ۳۲، لوئولین ۳۳، کاتکین ۳۴، آپی زنین ۳۵، دیوسметین ۳۶ و اسیدهای فنلی شامل رزمارینیک اسید ۳۷ و تری ترپنوئیدهایی مانند ارسولیک اسید ۳۸ و اولثانولیک اسید ۳۹ و ترپنوئیدهای فنلی

<sup>22</sup>  $\gamma$ - terpinen

<sup>23</sup> Trans- sabinene hydrate

<sup>24</sup> linalool

<sup>25</sup> thujanol

<sup>26</sup> terpinolene

<sup>27</sup> thymol

<sup>28</sup>  $\alpha$  -Terpineol

<sup>29</sup>  $\alpha$ - Terpinolene

<sup>30</sup>  $\beta$ - Caryophyllene

<sup>31</sup> Spathulenol

<sup>32</sup> Quercetin

<sup>33</sup> Luteolin

<sup>34</sup> Catechin

<sup>35</sup> Apigenin

<sup>36</sup> Diosmetin

<sup>37</sup> Rosmarinic acid

<sup>38</sup> Ursolic acid

<sup>39</sup> Oleanolic acid

مانند کارواکرول<sup>۴۰</sup> و تیمول<sup>۴۱</sup> و تانن ها، هیدروکوئینون ها، فنل های گلیکوزیدی مانند آربوتین<sup>۴۲</sup>، متیل آربوتین، ویتکسین<sup>۴۳</sup>، اورینتین<sup>۴۴</sup> و تیمونین<sup>۴۵</sup> می باشد (Qari, 2008; Skoula *et al.*, 2008; Roula *et al.*, 2010).

به طور کلی بر اساس مطالعات انجام شده، روغن های فرار گونه های *Origanum* به دو گروه تقسیم بندی شدند: گروه اول مونوترپن ها مانند ترپین-۴-ال و سابینن هیدرات به عنوان ترکیبات اصلی و گروه دوم فنل ها مانند تیمول و یا کارواکرول به عنوان ترکیبات غالب (Vera and Chane-Ming 1999).

#### ۱-۵- مروری بر پژوهش‌های انجام شده در گیاه‌مرزنگوش

##### ۱-۱- کاربردهای پزشکی مرزنگوش

Kawabata و همکاران (۲۰۰۳) گزارش کردند که عصاره مтанولی برگ های مرزنگوش حاوی ۶-هیدروکسی فلاونوئید، مانند ۶-هیدروکسی آپی ژنین، ۶-هیدروکسی آپی ژ نین-۷-O- $\beta$ -D- $\beta$ -O-۷- گلوکوپیرانوزید، ۶-هیدروکسی لوئولین- $\beta$ -D-O-۷- گلوکوپیرانوزید، ۶-هیدروکسی آپی ژنین-۷-O-۶-(فولویل)- $\beta$ -D- $\beta$ -O-۷- گلوکوپیرانوزید و ۶-هیدروکسیل لوئولین-۷-O-۶-(فولویل)- $\beta$ -D- گلوکوپیرانوزید است که این ترکیبات اثر مهار کننده بر آنزیم  $\alpha$ -گلوکوزیداز روده ای (۹۲٪ - ۲۵٪) دارد. با توجه به داده های بدست آمده نتیجه گرفته شد که فلاون هایی مانند آپی ژنین و لوئولین از اجزاء فعال مرزنگوش محسوب می شوند. با توجه به اثبات وجود ترکیبات موثره در گیاه مرزنگوش بررسی هایی در زمینه کاربرد این ترکیبات در مدل های حیوانی و در زیوه نیز صورت گرفته است.

Toghyani و همکاران (۲۰۱۰) اثر عصاره آپی مرزنگوش را به عنوان جایگزینی برای افزایش اثر آنتی بیوتیک بر اینمی بخشی ویژه لیپیدهای موجود در سرم خون جوچه های گوشتی مبتلا به آنفولانزا و نیوکاسل<sup>۴۶</sup> بررسی کردند. نتایج نشان داد که استفاده از ۰/۵٪ از عصاره آپی مرزنگوش باعث افزایش تولید آنتی بادی در برابر این بیماری شد در صورتی که تاثیری بر میزان تری گلیسیرید سرم، کلسترول و LDL- کلسترول نداشت. بنابراین

<sup>4۰</sup> Carvacrol

<sup>4۱</sup> Thymol

<sup>4۲</sup> Arbutin

<sup>4۳</sup> Vitexin

<sup>4۴</sup> Orientin

<sup>4۵</sup> Thymonin

<sup>4۶</sup> Newcastle