

بررسی اجزای روغن فرار گیاه *Stachys athorecalyx* C. Koch جمع آوری شده از منطقه ارسباران

شمسعلی رضازاده^{۱*}، مرتضی پیرعلی همدانی^۲، عباس حاجی آخوندی^۳، داراب یزدانی^۴، امیرحسین جمشیدی^۵،
میترا تقی زاده^۶

۱- استادیار پژوهش شیمی دارویی و عضو هیأت علمی پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی

۲- دانشیار، گروه شیمی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

۳- دانشیار، گروه فارماکونوزی، دانشکده داروسازی و مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

۴- استادیار پژوهش کشاورزی و عضو هیأت علمی پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی

۵- استادیار پژوهش فارماکونوزی و عضو هیأت علمی معاونت غذا و داروی وزارت بهداشت، درمان و

آموزش پزشکی و پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی

۶- پژوهشیار گیاه‌شناسی و عضو هیأت علمی پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی

* آدرس مکاتبه: تهران، خیابان انقلاب اسلامی، خیابان قدس، خیابان بزرگمهر غربی، شماره ۹۷

صندوق پستی: ۱۴۴۶-۱۳۱۴۵، تلفن: ۶۶۹۵۰۴۴۷، ۶۶۴۶۲۱۷۹ (۰۲۱)، نامبر: ۶۶۴۶۵۵۵۴ (۰۲۱)

پست الکترونیک: shrezazadeh@yahoo.com

تاریخ تصویب: ۸۴/۱۰/۲۶

تاریخ دریافت: ۸۴/۲/۲۶

چکیده

مقدمه: جنس *Stachys* شامل بیش از ۳۰۰ گونه می‌باشد که در کشور ایران تعداد ۳۴ گونه از این جنس رویش دارد و ۱۳ گونه از این تعداد بومی ایران می‌باشند. تاکنون بر روی اجزای تشکیل‌دهنده روغن فرار گونه *Stachys athorecalyx* مطالعه‌ای انجام نشده است.

هدف: انگیزه انجام این تحقیق، مطالعه اجزای تشکیل‌دهنده روغن فرار گونه *Stachys athorecalyx*

روش بررسی: در این مطالعه گیاه فوق از محل رویش خود در ارتفاعات منطقه ارسباران جمع‌آوری و پس از خشک کردن در سایه به روش اسانس‌گیری با آب جوش، اسانس‌گیری و توسط دستگاه کروماتوگرافی متصل به دتکتور جرمی اجزای آن شناسایی گردید.

یافته‌ها: بازدهی روغن فرار ۰/۲ درصد حجمی / وزنی بود. در روغن فرار گیاه تعداد ۳۶ ترکیب با مجموع ۹۸/۱ درصد از کل ترکیبات شناخته شد که ترکیب *Spathulenol* یک سزکویی‌ترین اکسیژنه با ۲۲/۱ درصد، فراوان‌ترین ترکیب این روغن فرار بود. ترکیبات اکسیژنه با ۷۱/۱۵ درصد اکثر ترکیبات را تشکیل می‌دادند. هیجده ترکیب مونوترپن با مجموع ۴۷/۹۱ درصد، سیزده ترکیب سزکویی‌ترین با مجموع ۴۲/۹۲ درصد و دو ترکیب آروماتیک با مجموع ۱/۵۶ درصد شناخته شدند.

نتیجه‌گیری: با توجه به اینکه در گونه‌های دیگر نیز به نوعی ترکیبات اصلی شناسایی شده در این گونه گزارش گردیده است بستگی این گونه‌ها به جنس *Stachys* از نظر مشابهت ترکیبات اصلی قابل تایید می‌باشد.

کل واژگان: *Stachys athorecalyx*، *Spathulenol*، روغن فرار



مقدمه

زخم و جراحت و *S. lavandulifolia* برای درمان دردهای گوارشی و آرام‌بخش به کار می‌رود [۹]. همچنین گونه *S. inflata* به دلیل اثرات ضد التهاب، در درمان بیماری‌های تنفسی و آرتريت مصرف می‌گردد که بررسی‌های فارماکولوژیک اثرات فوق را تایید می‌کند [۴].

[۲۰] *Stachys athorecalyx* C. Koch.

گیاه *Stachys athorecalyx* C. Koch. از نظر خصوصیات بسیار مشابه گونه *S. recta* است. اما برگ‌ها در آن دارای ابعاد $7-10 \times 50-60$ میلی‌متر، خطی یا نیزه‌ای با دندانه‌های هلالی - اره‌ای تیز است. کاسه گل به طول ۱۰-۱۳ میلی‌متر و دندانه آن نباید بیشتر از یک میلی‌متر پهنا داشته باشد. کاسبرگ به صورت خطی - نوک‌تیز و به طول لوله می‌باشد. بیشتر در مناطق خشک می‌روید.

گیاهی چند ساله، به ارتفاع ۶۰-۳۰ سانتی‌متر است. ساقه‌ها متعدد، به صورت ساده یا منشعب با کرک‌های کوتاه صاف و جدا از هم می‌باشد. برگ‌های پایینی نیزه‌ای، نوک باریک و اره‌ای تیز است. برگ‌های قرار گرفته روی گل‌های پایینی به صورت فراهم و در هر دو طرف دارای کرک‌های ساده جدا از هم و با دم‌برگ کوتاه و بالایی‌ها بدون دم‌برگ می‌باشند. چرخه‌های گل دارای ۸-۱۰ گل با فواصل کوتاه از هم قرار دارند و بالایی‌ها نزدیک به هم قرار دارند. براکت‌ها خطی - منظم هستند. کاسه گل استکانی شکل با کرک‌های بلند، دندانه مثلثی شکل، نوک باریک، با نقاط ۱/۵ میلی‌متری است. جام گل زرد رنگ، در ناحیه گردن نارنجی رنگ، لوله جام در بالا کمی صاف است. لبه بالایی جام تخم‌مرغی - مسطح، کمی کوتاه‌تر از لبه پایینی است. لبه پایینی دارای لوب‌های متوسط نامنظم تخم‌مرغی - مسطح و لوب‌های تخم‌مرغی - مستطیلی شکل کوتاه‌تر می‌باشند. میله پرچم‌ها به صورت برآمده می‌باشد. این گیاه بیشتر در مناطق خشک و به صورت تیپ از منطقه برلین جمع‌آوری شده است [۲۰].

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

این گیاه در آخر خرداد ۱۳۸۲ از جاده اهر - کلیبر واقع در منطقه ارسباران جمع‌آوری و در موسسه تحقیقات جنگل‌ها و

جنس *Stachys* از خانواده لامیاسه با حدود ۳۰۰ گونه در سراسر جهان رویشی وسیع و اثرات درمانی متعددی را دربرمی‌گیرد. بیشترین پراکندگی این گیاه در اروپا و آمریکای شمالی می‌باشد. در آسیای میانه، آسیای جنوب‌شرقی همچنین خاورمیانه، گونه‌های متعددی از این گیاه دیده می‌شود [۱]. اسم‌های فارسی این جنس شاطرا، صوراسرافیل و سنبله‌ای می‌باشد. جنس *Stachys* گیاهانی یک‌ساله، دوساله و یا به صورت بوته‌های چوبی و درختچه‌ای پوشیده از کرک‌های گوناگون و کرک تارهای بلند را در خود جای می‌دهد. این گیاهان در نقاط مختلف ایران پراکنش داشته و به صورت بومی یافت می‌شوند. جنس *Stachys* گونه‌های دارویی نیز دارد و در طب سنتی استفاده می‌گردد. در طب سنتی گونه‌هایی مثل *S. inflata* و *S. schtschegleevii* با نام محلی پولک در آذربایجان شرقی به عنوان داروی ضد عفونت‌های ریوی و بیماری‌های التهابی استفاده می‌گردد. این جنس در ایران ۳۴ گونه دارد که به طور پراکنده در بیشتر نقاط می‌رویند [۲].

Stachys از واژه *Chistets* به معنی تمیزکننده و بهبوددهنده زخم گرفته شده است که نشانگر استفاده وسیع اسانس و یا عصاره گونه‌های این جنس به عنوان آنتی‌سپتیک و درمان‌کننده بیماری‌های پوستی می‌باشد [۳]. بررسی اثرات ضد درد و التهاب در برخی از گونه‌های جنس فوق (*S. candida*, *S. inflata*, *S. chrysantha*) منجر به مشاهده خواص درمانی مشابه یا قوی‌تر از داروهای گروه NSAIDs گردید که احتمال مصرف و کاربرد درمانی آنها را مورد توجه قرار می‌دهد [۴، ۵]. از طرفی گونه *S. seiboldi* که گونه خاص آسیای جنوب شرقی و خصوصاً ژاپن می‌باشد به دلیل اثرات قابل توجه در درمان بیماری‌های کلیوی، پوستی و غیره بسیار مورد توجه محققین دنیا قرار گرفته است [۶، ۷].

همچنین در طب سنتی جهان دو گونه *S. palustris* و *S. sylvatica* به عنوان بهبوددهنده زخم، درمان دردها و اسپاسم‌های شکمی، ضد عفونی کننده، درمان بیماری‌های مجاری ادراری و ضد تب تایید شده‌اند [۸]. در طب سنتی ایران نیز گونه *S. recta* به عنوان یک داروی موثر در درمان



در این دما به مدت ۵ دقیقه، افزایش دما تا ۳۲۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۱۵ درجه سانتی‌گراد در دقیقه و سه دقیقه توقف در این دما. دمای اتاقک تزریق ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد بود و از گاز هلیوم به عنوان گاز حامل با سرعت جریان ۱/۲ میلی‌لیتر در دقیقه استفاده گردید. طیف نگار جرمی مورد استفاده مدل Hewlet Packard 5973N، با ولتاژ یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت، روش یونیزاسیون EI و دمای منبع یونیزاسیون ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد بود. شناسایی طیف‌ها به کمک شاخص بازداری آنها و مقایسه آن با شاخص‌های موجود در کتب مرجع و مقالات و با استفاده از طیف‌های جرمی ترکیبات استاندارد و استفاده از اطلاعات موجود در کتابخانه کامپیوتری صورت گرفت [۱۹،۲۱،۲۲].

نتایج

تعداد ۳۶ ترکیب با مجموع ۹۸/۰۹ درصد از کل ترکیبات شناخته شد که اجزا در جدول شماره ۲ آمده است. ترکیب Spathulenol یک سزکویی‌ترین اکسیژنه با ۲۲/۰۸ درصد فراوان‌ترین ترکیب این روغن فرار بود. ترکیبات اکسیژنه با ۷۱/۱۵ درصد اکثر ترکیبات را تشکیل می‌دادند. هجده ترکیب مونوترپن با مجموع ۴۷/۹۱ درصد، سیزده ترکیب سزکویی‌ترین با مجموع ۴۲/۹۲ درصد و دو ترکیب آروماتیک با مجموع ۱/۵۶ درصد شناخته شدند. ترکیبات عمده این اسانس در جدول شماره ۱ آمده است.

مراتع توسط دکتر مظفریان شناسایی شد. نمونه هرباریومی آن با کد (TARI) ۸۳۷۷۵ نگهداری گردید.

جداسازی، استخراج و شناسایی اجزای روغن فرار

مقدار ۲۰۰ گرم از قسمت گل‌دار گیاه را که جدا کرده در یک بالن ۵ لیتری با دستگاه کلونجر به مدت سه ساعت پس از جوش آمدن آب درون بالن، اسانس‌گیری انجام شد. اسانس حاصل را با افزودن مقدار کمی سولفات سدیم بی آب، خشک نموده و تحت جریان گاز ازت، تا قبل از تزریق به دستگاه GC-MS در ظرف در بسته دور از نور و در یخچال نگهداری گردید.

تجزیه و شناسایی اجزای اسانس به روش GC-MS

تجزیه و شناسایی اجزای اسانس گیاهان موردنظر به روش کروماتوگرافی گازی کوپل شده به طیف‌سنج جرمی انجام گرفت.

مشخصات و برنامه دمایی دستگاه GC/MS

دستگاه کروماتوگرافی گازی استفاده شده از نوع Hewlet Packard 6890N با ستون به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه ۰/۲۵ میکرومتر از نوع HP-5MS بود. برنامه دمایی ستون به این نحو تنظیم گردید: دمای ابتدایی آن ۵۰ درجه سانتی‌گراد، دمای انتهایی ۱۵۰ درجه سانتی‌گراد و گرادیان حرارتی آن ۲/۵ درجه سانتی‌گراد در هر دقیقه، افزایش دما تا ۲۶۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۱۰ درجه در هر دقیقه و توقف

جدول شماره ۱ - ترکیبات اصلی روغن فرار *Stachys athorecalyx*

ردیف	اسم ترکیب	نوع ترکیب	درصد فراوانی (%)
۱	Spathulenol	سزکویی‌ترین	۲۲/۰۸
۲	β - Pinene	مونوترپن	۹/۶۰
۳	Linalool	مونوترپن	۹/۱۴
۴	Linalyl acetate	مونوترپن	۸/۸۶
۵	β - Bourbonene	سزکویی‌ترین	۵/۶۸
۶	α - Pinene	مونوترپن	۴/۸۲
۷	α - Terpineol	مونوترپن	۴/۳۰
۸	β - Ionone	سزکویی‌ترین	۳/۷۸



جدول شماره ۲ - ترکیبات و درصد مواد روغن فرار *Stachys athorecalyx*

درصد در روغن فرار	ضریب بازداری نسبی	ترکیب شیمیایی	ردیف
۴/۸۲	۹۳۶	α - Pinene	۱
۰/۸۲	۹۵۹	Benzaldehyde	۲
۹/۶۰	۹۷۸	β - Pinene	۳
۰/۳۲	۹۹۳	3- Octanols	۴
۰/۴۲	۱۰۱۱	δ -3- Carene	۵
۱/۱۰	۱۰۲۷	Limonene	۶
۰/۵۸	۱۰۴۰	<i>cis</i> - Ocimene	۷
۰/۷۴	۱۰۴۷	<i>cis</i> - Linalool oxide	۸
۱/۰۰	۱۰۸۸	<i>trans</i> - Linalool oxide	۹
۹/۱۴	۱۰۹۸	Linalool	۱۰
۳/۳۸	۱۱۱۰	1-Octen-3-yl-acetate	۱۱
۱/۴۳	۱۱۳۹	<i>trans</i> - Pinocarveol	۱۲
۰/۹۴	۱۱۴۴	<i>trans</i> - pino carveol	۱۳
۰/۵۲	۱۱۶۲	Pinocarvone	۱۴
۰/۶۶	۱۱۶۵	Borneol	۱۵
۴/۳۰	۱۱۸۹	α -Terpinol	۱۶
۱/۶۲	۱۱۹۴	Myrtenol	۱۷
۱/۰۲	۱۲۱۷	<i>trans</i> - Carveol	۱۸
۰/۴۲	۱۲۲۸	Nerol	۱۹
۰/۷۴	۱۲۴۲	<i>L</i> -Carvone	۲۰
۸/۸۶	۱۲۵۸	Linalyl acetate	۲۱
۰/۷۴	۱۳۴۸	<i>Para</i> methoxy acetophenone	۲۲
۰/۶۶	۱۳۶۵	Neryl acetate	۲۳
۲/۱۲	۱۳۸۳	Geranyl acetate	۲۴
۵/۶۸	۱۳۸۵	β -Bourbonene	۲۵
۰/۷۶	۱۳۴۶	β -Cubebene	۲۶
۰/۵۸	۱۴۳۴	Neryl acetone	۲۷
۰/۶۰	۱۴۸۰	Germacrene D	۲۸
۳/۷۸	۱۴۸۵	β -Ionone	۲۹
۲/۱۸	۱۴۹۱	Valencene	۳۰
۰/۶۴	۱۴۹۹	α -Muurolene	۳۱
۰/۵۸	۱۵۲۴	δ -Cadinene	۳۲
۲۲/۰۸	۱۵۷۶	Spatulenol	۳۳
۱/۲۴	۱۵۹۰	Viridiflorol	۳۴
۲/۰۲	۱۶۵۳	<i>T</i> - Cadinol	۳۵
۲/۰۲	۱۹۴۹	Phytol	۳۶
۹۸/۰۹			مجموع



بحث و نتیجه گیری

تاکنون مطالعات محدودی بر روی آنالیز روغن فرار گونه‌های مختلف جنس *Stachys* انجام گردیده است. این مطالعات به منظور شناسایی اجزا و یا برای مطالعات تاکسونومی صورت پذیرفته است. در مطالعه‌ای که در یونان به منظور تاکسونومی صورت گرفته است از *Stachys Subsect Swainsonianae* چند ترکیب عمده شناسایی گردیده است که شامل β -elemene, Caryophyllene oxide و δ -Cadinene Caryophyllene می‌باشد. در این گزارش میزان روغن فرار از ۰/۱۶ الی ۰/۳۸ درصد متغیر بوده است [۱۰].

S. glutiosa در فرانسه مطالعه گردیده است و از مجموع ترکیبات شناخته شده Germacrene D (۱۹ درصد)، Terpin-4-ol (۱۳/۱ درصد)، α -Pinene (۱۰/۱ درصد)، α -Terpineol (۸/۴ درصد)، β -phellanderene (۶/۸ درصد) و δ -Terpinene (۶/۱ درصد) ترکیبات اصلی بوده‌اند [۱۲].

گیاه *S. athorecalyx* توسط M. Emin Duru و همکاران از ترکیب گزارش شده که ۳۶ ترکیب در اسانس آن شناسایی گردیده است. Oct-1-en-3-ol (۸۱/۷ درصد) و Linalool (۱۱/۰ درصد) ترکیبات اصلی آن بوده‌اند. α -Pinene (۸/۳ درصد) نیز جزء ترکیبات با فراوانی بالا بوده است [۱۳].

در مطالعه‌ای که بر روی *S. ixodes* صورت گرفته است میزان روغن فرار ۰/۶۱ بوده است و ترکیبات Myrtenyl acetate (۴۸/۷ درصد)، Globulol (۱۳/۱ درصد)، Caryophyllene oxide (۵/۹٪) و Spathulenol (۵/۶٪) ترکیبات عمده آن بوده‌اند [۱۱]. در گیاه *Stachys setifera* Pulegone (۲۶/۵ درصد)، α -Terpinyl (۱۷/۴ درصد) و Piperitenone oxide (۱۱/۲ درصد) ترکیبات عمده بودند [۱۴].

در گیاه *S. laxa* ترکیبات Germacrene D (۴۰/۱ درصد)، β -Phellandrene (۵/۵ درصد)، Caryophyllene oxide (۴/۶ درصد)، Linalool (۳/۲ درصد) و α -Cadinol (۲/۶ درصد) ترکیبات اصلی بودند [۱۵].

در گیاه *S. recta* Oct-1-en-3-ol (۳۳/۸ درصد)، Linalool (۱۳/۰ درصد) و α -Pinene (۷/۵ درصد) و در گیاه *S. balansae* از ترکیب β -Caryophyllene (۲۴/۳ درصد) و α -Pinene (۱۶/۰ درصد) ترکیبات اصلی روغن فرار بوده است [۱۶].

مخلوطی از Isocaryophyllene و β -Caryophyllene با مجموع ۲۲/۹ درصد، ترکیبات اصلی روغن فرار *S. officialis* گزارش شده است. در این گزارش Germancrene D (۴/۸ درصد)، α -Humulene (۵/۴ درصد) و β -Bourbonene (۴/۹ درصد) نیز جزء ترکیبات با فراوانی بالا هستند [۱۷].

در روغن فرار *S. oblique* Germancrene D با ۲۵/۴ درصد فراوانی ترکیب اصلی آن بوده است [۱۸].

در دو گیاه *S. schtschegleevii* و *S. balansae* که توسط مولفین بررسی شده است Germancrene D با فراوانی به ترتیب ۲۵/۸ درصد و ۱۶/۴ درصد ترکیب اصلی این گیاهان بود [۱۹]. با توجه به اینکه در گونه‌های دیگر نیز به نوعی ترکیبات اصلی شناسایی شده در این گونه گزارش گردیده است بستگی این گونه به جنس *Stachys* از نظر مشابهت ترکیبات اصلی قابل تایید می‌باشد.

تشکر و قدردانی

این پژوهش با حمایت مالی معاونت محترم پژوهش و فن‌آوری جهاددانشگاهی انجام گردیده است.

منابع

1.Rechinger, K. H., Hedge, I.C., Flora Iranica. Akademische Druck Verlagsanstalt, Graz, Austria. 1982, pp: 150, 359, 360, 361, 365.

2.Mozaffarian, V. A Dictionary of Iranian Plant Names. Farhang Moaser, Tehran, Iran. 1996, p: 522.



3. Kartsev V G, Stepanichenko, N N and Auelbekov S A. Chemical composition and pharmacological properties of plant of the genus *Stachys*. *Chemistry of Natural Compounds*. 30: 1994; 645-654.
4. Maleki N, Garjani A, Nazemiyah H, Nilfouroushan N, Eftekhar-Sadat AT, Allameh Z and Hasannia N. Potent anti - inflammatory activities of hydroalcoholic extract from aerial parts of *Stachys inflata* on rats. *J Ethnopharmacology*. 2001; 75: 213 - 218.
5. Skaltsa HD, Bermejo P, Lazari DM, Silvan AM, Skaltsounis AL, Sanz A, Abad MJ. Inhibition of prostaglandin E2 and Leukotriene C4 in Mouse Peritoneal Macrophages and Thromboxan B2 Production in Human Platelets by Flavonoids from *Stachys chrysantha* and *Stachys Candida*. *Biological and Pharmacological Bulltain*. 23: 47-53.
6. Yamahara J, Kitani T, Kobayashi H, Kawahara Y. Studies on *Stachys seiboldii* MIQ. II. Anti-anoxia action and the active constituents. *Yakugaku Zasshi*. 1999; 110: 932-935.
7. Hayashi K, Nagamatsu T. Ito M, Hattori T and Suzuki Y. Acetaoside, a component of *Stachys seiboldii* MIQ, may be a promising antinephritic agent: effect of acetoside on crescentic- type anti-GBM nephritis in rats. *Jpn. J. Pharmacol*. 1994; 65: 143-151.
8. Gruenwald J, Brendler T, Jaenicke C. PDR for herbal Medicines. Medical Economics Company, Second Edition, Montvale, New Jersey. 2000, p: 832.
9. زرگری علی. گیاهان دارویی، انتشارات و چاپ دانشگاه تهران. ۱۳۶۹، جلد چهارم، صفحات ۴-۱ و ۱۳۳-۱۲۷.
10. Skaltsa H D, Mavrommati A and Constantinidis T. A chemotaxonomic investigation of volatile constituents in *Stachys* subsect. Swainsonianae (Labiatae). *Phytochemistry*. 2001; 57: 235-244.
11. Sefidkon A, Naderi Nik A, Bagaii P and Javidtash I. Analysis of the essential oil of *Stachys ixodes* Boiss. & Hausskn. ex Boiss. from Iran. *Flavour Fragr. J*. 18: 301-302.
12. Mariotti JP, Costa J, Bianchini A, Bernardini A F and Casanova J. Composition and variability of the essential oil of *Stachys glutinosa* L. from Corsica (France), *Flavour Fragr. J*. 1997; 12: 205-209.
13. Emin Duru M, Çakır M, Harmandar M, Izumi S, Hirat T. The volatile constituents of *Stachys athorecalyx* C. Koch. from Turkey. *Flavour Fragr. J*. 1999; 14: 12-14.
14. Javidnia K, Miri R, Azarpira A, Tabaei S M H. Composition of the essential oil of *Stachys setifera* C. A. Mey ssp. *iranica* growing in Iran. *Flavour Fragr. J*. 2003; 18: 299-300.
15. Sajjadi S E and Mehregan I. Composition of the essential oil of *Stachys laxa* Boiss. & Buhse. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 2003; 57-58.
16. CĖakir A, Duru M E, Harmandar M, Izumi S and Hirata T. The volatile constituents of *Stachys recta* L. and *Stachys balansae* L. from Turkey, *Flavour Fragr. J*. 1997; 12: 215-218.
17. Chalchat J C, Petrovic S D, Maksimovic Z A and Gorunovic M S. Essential oil of *Stachys officinalis* (L.) Trevis., Lamiaceae from Montenegro. *J. Essent. Oil Res*. 2001; 13: 286-287
18. Harmandar M, Duru ME, Cakir A, Hirata T and Izumi S. volatile constituents of *Stachys obliqua* L. (Lamiaceae) from Turkey. *Flavour Fragr. J*. 1997; 12: 211-213.
19. Rezazadeh SH, Pirali-Hamedani M, Dowlatabadi R, Yazdani D and Shafiee A. Chemical composition of the essential oils of *Stachys schtschegleevii* Sosn. and *Stachys balansae* Boiss & Kotschy from Iran. *Flavour Fragr. J*. 2006; 21: 290 – 293.
20. Davis PH. Flora of Turkey and the east Aegean islands. University of Edinburgh, Edinburgh. 1982; vol. 7, p: 512.
21. Massalda Y. In analysis of essential oil by gas



Chromatography and spectrometry. Wiley: New York. 1976.

22.Adams RP. Identification of essential oil

components by gas chromatography/ quadrupole mass spectroscopy. Allured: Carol Stream, IL,. 2001.

