بررسی ترکیب شیمیایی محتوای اسانس برگ در یاس بنفش گرمسیری (*Cornutia pyramidata* L.)

شماره صفحات
۴۳-۵۰

مژگان زنگنه*[۱]، نسرین فراست[۲]، آزاده عیدی‌زاده[۳] و عادل پشت‌دار[۴]

۱) دکتری علوم باغبانی-گیاهان زینتی، گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران.

۲) کارشناسی ارشد زیست‌شناسی سیستماتیک گیاهی، گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران.

۳) کارشناسی ارشد زیست‌شناسی سلولی-تکوین گیاهی، پژوهشسرای دانش آموزی غدیر، ناحیه ۲ اهواز، ایران.

۴) دکتری زراعت، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران.

*نویسنده مسئول: **m.zangeneh2008@yahoo.com**

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۶/۲۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۹/۳۰

چکیده

اسانس‌ها کاربردهای بسیار در در صنایع داروسازی، بهداشتی و آرایشی دارند. به‌منظور بررسی و شناسایی اجزای محتوای اسانس برگ گیاه یاس بنفش گرمسیری (*Cornutia pyramidata* L.) آزمایشی در سال ۱۳۹۸ در دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان انجام شد. اسانس به‌روش تقطیر با آب، توسط دستگاه کلونجر استخراج شد. درصد اسانس برگ ۰/۳ درصد بود. به‌طورکلی ۵۵ ترکیب از اسانس یاس بنفش گرمسیری جدا سازی شد. نتایج نشان داد که اسانس یاس بنفش گرمسیری به‌طور عمده دارای حدود ۱۹/۰۵ درصد trans-Caryophyllene (یک سزکویی‌ترپن طبیعی دوحلقه‌ای) و ۱۱/۹۹ درصد ایزومر Geranyl linalool (یک مونوترپن طبیعی دوحلقه‌ای) می‌باشد. سایر ترکیبات در مقدار اندک (حدود ۰/۰۵ – ۲/۲۲ درصد) یافت شدند.

واژه‌های کلیدی: ترکیبات معطر، GC/MS، Geranyl linalool وtrans-Caryophyllene.

مقدمه

متابولیت‌های ثانویه ترکیبات آلی متنوعی هستند که در میزان معمولاً کم (کم‌تر از یک درصد وزن خشک) در گیاهان تولید می‌شوند و عملکردهای اکولوژیکی مهمی در گیاهان دارند (Oksman-Caldentey and Inze, 2004).

متابولیت‌های ثانویه معمولا در سه خانواده مولکولی بزرگ شامل گروه ترکیبات نیتروژن‌دار، ترپن‌ها و فنول‌ها قرار داده می‌شوند (Bourgaud *et al*., 2001) . ترپن‌ها یا ترپنوئیدها بزرگترین گروه متابولیت‌های ثانوی در گیاهان می‌باشند. ترکیبات متنوع این گروه معمولا در آب غیرمحلول است. ترپن‌ها از واحدهای ۵ کربنی ایزوپرن (۲ و ۵ بوتادی‌ان)، مشتق می‌شوند (Sangwan *et al*., 2001). ترپن‌های ده کربنی که شامل دو واحد ایزوپرن هستند، مونوترپن نامیده می‌شوند. از مشتقات مونوترپنی می‌توان به Limonene، Linalool، Geranyl و Camphor اشاره نمود. ترپن‌های ۱۵ کربنی، سزکوئی‌ترپن و ترپن‌های ۲۰ کربنه، دی‌ترپن نامیده می‌شوند (Taiz and Zeiger, 2006). بیوسنتز ترپن‌ها، از طریق مسیر موالونیک‌اسید و از طریق استیل‌کوآنزیمآ صورت می‌گیرد. برخی از گیاهان دارای مخلوطی از مونوترپن‌ها و سزکوئی‌ترپن‌های فرار می‌باشند که روغن‌های فرار یا اسانس نامیده می‌شود (Sangwan *et al*., 2001; Taiz and Zeiger, 2006). اسانس‌ها ترکیبات پیچیده‌ای از مواد معطر هستند که توسط گیاهان برای مقابله با پاتوژن‌ها یا حمله حشرات گرده‌افشان تولید می‌شوند (Lawless, 2013). این ترکیبات در قسمت‌های مختلف گیاه قرار دارند و به‌دلیل داشتن بوی مطبوع، در صنایع مختلف به‌ویژه در تولید عطر و مواد دارویی کاربرد دارند (Sadgrove and Graham, 2015).

خانواده Verbenaceae دارای گونه‌های متعدد با کاربردهای دارویی است. *Cornutia pyramidata* (L.) در جنس Cornutia شامل حدود ۱۴ گونه می‌باشد. این گونه، بومی برخی مناطق گرمسیری در نیمکره غربی، جنوب مکزیک، آمریکای مرکزی، غرب هند و شمال و جنوب آمریکا می‌باشد (Funk *et al*., 2007; Jorgensen and Leon-Yanez, 1999). بوته‌های این گیاه برگ‌های ساده متقابل دارد و ارتفاع آن به چهار تا شش متر می‌رسد. استفاده دارویی از برگ‌های *C. pyramidata* برای درمان آسم، تنگی نفس، سرماخوردگی و بثورات پوستی گزارش شده است (Balick and Arvigo, 2015). مطالعات اندکی در مورد فتوشیمی جنس Cornutia وجود دارد. بیش‌تر بررسی‌ها مربوط به ترکیبات شیمیایی اسانس سایر جنس‌های خانواده verbenaceae مانند Aloysia، Lantana، Lippia و Stachytarpheta می‌باشد. گزارش‌های متعددی نشان داده است که اسانس گونه‌های Verbenaceae مانند *Aloysia virgata* (Ruiz & Pav.) ، *Lantana camara*، *Lantana trifolia*، *Lantana montevidensis*، *Lippia brasiliensis* و *Lippia sericea* دارای سزکوئی‌ترپن‌های (E)-caryophyllene، germacrene-D و bicyclogermacrene می‌باشند (Montanari *et al*., 2011; Ricciardi *et al*., 2005).

در آزمایشی ترکیبات شیمیایی فرار شاه‌پسند درختچه‌ای (*Lantana camara* L.) و شاه‌پسند زمین‌کِش (*Lantana montevidensis*) شناسایی و فعالیت آنتی‌باکتریالی اسانس‌های فرار آن تایید شد (Erlanio *et al*., 2012). همچنین آن‌ها فعالیت آنتی‌باکتریالی این اسانس‌های فرار را مشخص نمودند. مطالعه دیگر روی اسانس برگ‌های به‌لیموی سفید (*Lippia alba*) و *Cornutia odorata* (Poepp.) نشان داد که ترکیبات اصلی اسانس *Lippia alba*، Carvone، Germacrene D و Limonene می‌باشند. اسانس *Cornutia odorata* بیش‌تر شامل (E)-nerolidol، sabinene و Terpinen-4-ol می‌باشد (Leclercq *et al*., 1999). از آنجا که هیچ گزارشی درباره‌ی فیتوشیمی *C. pyramidata* در ایران وجود ندارد، هدف این مطالعه تعیین ترکیبات شیمیایی اسانس این گیاه بوده است.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی نمونه

نمونه‌های گیاهی در سال ۱۳۹۸ از دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان (واقع در ۲۵ کیلومتری شمال شهر اهواز و در امتداد شرق کارون با عرض جغرافیایی ۳۱ درجه و ۳۵ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۴۸ درجه و ۵۳ دقیقه شرقی و ارتفاع ۲۲ متر از سطح دریای آزاد) جمع‌آوری شد. براساس طبقه‌بندی دومارتن که متکی به دو متغیر میانگین بارندگی و میانگین دما است، شهرستان باوی در گروه اقلیم خشک قرار دارد. شایان ذکر است اقلیم خشک برای مناطقی به‌کار می‌رود که میزان ریزش‌های جوی در آنجا کم‌تر از ۲۵۰ میلی‌متر در سال باشد و یا میزان تبخیر و تعرق پتانسیل بیش از بارش باشد (Bakhshi *et al*., 2019). اسانس نمونه‌ها به‌وسیله دستگاه کلونجر[1]جداسازی شد برای این منظور برگ‌های گیاه در دمای ۳۰ درجه سلسیوس خشک شده و توسط آسیاب برقی پودر گردید. ۵۰ گرم از پودر خشک و ۱۵۰۰ میلی‌لیتر آب به بالون‌ها اضافه شد. بعد از ۵ ساعت عصاره‌گیری، اسانس جمع‌آوری شد. اسانس استخراج شده توسط سدیم‌سولفات بدون‌آب، آبگیری شده و به سیستم کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC/MS) تزریق گردید. اسانس‌گیری سه مرتبه تکرار گردید و ترکیب‌های اصلی اثرگذار در کیفیت اسانس یاس بنفش گرمسیری شناسایی شدند.

آنالیز GC/MS

آنالیز اسانس در سیستم GC/MS (Agilent Technologies, J & W scientific products, Palo Alto, CA, USA) مجهز به ستون موئینه HP – 5MS (۳۰ m طول و ۰/۲۵ mm قطر) با استفاده از هلیوم به‌عنوان گاز حامل (۰/۸ $ml.min^{-1}$) و همراه با یک ردیاب انتخاب توده‌ای (MSD 5975 C, ionization voltage 70 ev) صورت گرفت. در

[1]. Clevenger apparatus

برنامه‌ریزی حرارتی ستون، دمای اولیه ۵ دقیقه در ۵۰ درجه سلسیوس بود که با افزایش ۳ درجه سلسیوس در دقیقه به ۲۴۰ درجه سلسیوس رسید. سپس با افزایش ۱۵ درجه سلسیوس در دقیقه به ۳۰۰ درجه سلسیوس افزایش یافت. دمای گاز حامل در ۲۹۰ درجه سلسیوس تنظیم شد.

شناسایی ترکیبات اسانس با طیف توده و به کمک شاخص بازداری[1](براساس زمان‌های نگهداری نسبی هیدروکربن‌های اشباع شده) آن‌ها و نیز مقایسه‌ی آن با شاخص‌های موجود در کتب مرجع (Adams, 2001) و با استفاده از طیف‌های جرمی ترکیبات استاندارد و استفاده از اطلاعات موجود در کتابخانه‌ی کامپیوتری صورت گرفت.

نتایج و بحث

اسانس‌های به‌دست آمده در ۰/۳ درصد وزن خشک (با ۳ تکرار) محاسبه شد. به‌طورکلی ۲۵ ترکیب از اسانس یاس بنفش گرمسیری جداسازی شد. شاخص‌های بازداری، درصدهای نسبی و انواع ترکیبات شیمیایی در جدول ۱ نشان داده شده است.

نتایج نشان داد که از مجموع ۴۳/۶۹ درصد ترکیب شناسایی شده بیشتر اسانس شامل حدود ۱۹/۰۵ درصد trans-Caryophyllene (یک سزکویی‌ترپن طبیعی دوحلقه‌ای) به عنوان یک ترکیب اصلی و ۱۱/۹۹ درصد ایزومر Geranyl linalool (یک مونوتروپن) می‌باشد. سایر ترکیبات مانند Sabinene، Caryophyllene oxide، Humulene، ایزومر B Geranyl linalool و 1-Octene 3-ol در میزان کم‌تر (حدود ۲/۲۲-۱ درصد) در اسانس یافت شدند. کروماتوگرام اسانس C. pyramidata در شکل ۱ نشان داده شده است.

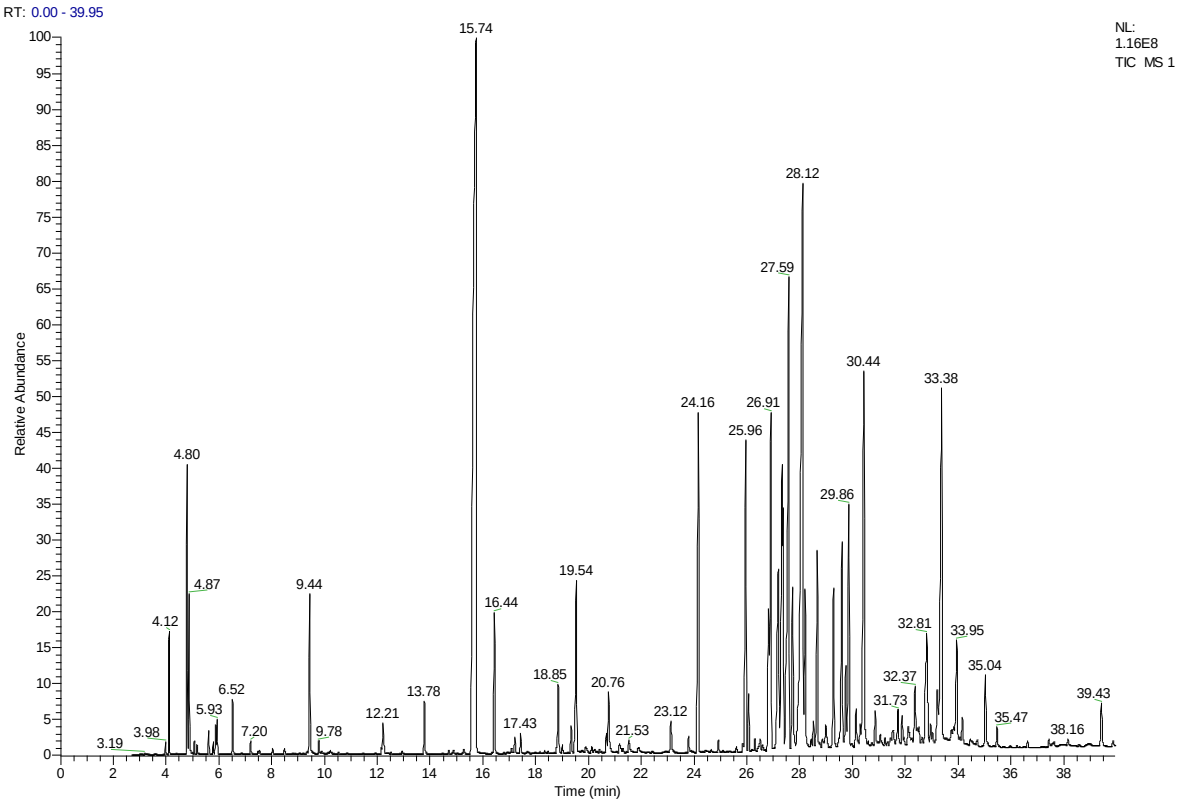
Leclercq *et al.* (1999) در مطالعه خود بر روی فیتوشیمی *Cornutia odorata* نشان دادند که اسانس برگ گیاه بیش‌تر شامل (E)-nerolidol (۳۸/۶ درصد)، sabinene و terpinen-4-ol (۱۰/۴ درصد) می‌باشد. بین ترکیبات شیمیایی گونه آزمایش شده در این مطالعه و *Cornutia odorata* شباهت‌هایی مشاهده شد.

trans-Caryophyllene اثرات ضدالتهابی قابل‌توجهی را به‌عنوان یک عامل cannabimimetic در موش‌ها نشان داده است (Gertsch *et al*., 2008). ویژگی‌های دیگر trans-Caryophyllene که در منابع مختلف به آن‌ها اشاره شده است عباتند از ضد درد (Katsuyama *et al*., 2013)، حفاظت عصبی (Guimaraes-Santos *et al*., 2012)، ضد استرس، ضد افسردگی (Bahi *et al*., 2014) و ضد الکل (Al Mansouri *et al*., 2014). Sabinene یک مونوترپن طبیعی دوحلقه‌ای هست که از اسانس انواع مختلفی از گیاهان استخراج شده است.

مطالعات آزمایشگاهی نشان داده است که برخی ترکیبات مونوترپن اثرات ضدسرطان (Tavera Loza, 1999)، ضدعفونی‌کننده، ضدویروس و ضدباکتری دارند (Kouam *et al*., 2013). α-Pinene و sabinene فعالیت‌های ضدمیکروبی و ضدقارچی امیدوارکننده‌ای را نشان داده‌اند (Gliic *et al*., 2007; Raveendrakurup *et al*., 2014). β-pinene به‌عنوان

[1] . Retention index

یک ترکیب مونوترپن، فعالیت ضدویروسی در مقابل ویروس تب‌خال نوع۱ (HSV-1) در کشت درون شیشه‌ای نشان داده است (Astani and Schnitzler, 2014).



شکل ۱: **کروماتوگرام GC یاس بنفش گرمسیری. محور افقی زمان بازداری (دقیقه) و محور عمودی شدت سیگنال را نشان می‌دهد.**

جدول ۱: ترکیب شیمیایی اسانس یاس بنفش گرمسیری به‌دست آمده از آنالیز GC-MS.

ردیف	ترکیب	شاخص بازداری (RI)	مقدار (درصد)	زمان بازداری (RT)
۱	α-thujene	۹۲۶	۰/۰۶	۳/۹۸
۲	α-Pinene	۹۳۴	۰/۶۷	۴/۱۲
۳	Sabinene	۹۷۴	۲/۲۲	۴/۸۰
۴	1-Octene-3-ol	۹۷۸	۱/۰۰	۴/۸۷
۵	α-terpinene	۱۰۱۷	۰/۱۴	۵/۶۱
۶	p-Cymene	۱۰۲۵	۰/۰۷	۵/۷۹
۷	Limonene	۱۰۲۹	۰/۲۳	۵/۸۸
۸	1,8-Cineol	۱۰۳۱	۰/۲۱	۵/۹۳
۹	γ-terpinene	۱۰۵۸	۰/۳۵	۶/۵۲
۱۰	α-Terpinolene	۱۰۸۹	۰/۰۸	۷/۲۰
۱۱	4-Terpineol	۱۱۸۲	۱/۳۸	۹/۴۴
۱۲	α-Terpineol	۱۱۹۶	۰/۰۹	۹/۷۸
۱۳	Anethole<E->	۱۲۸۹	۰/۳۱	۱۲/۲۱
۱۴	Terpinyl acetate<alpha->	۱۳۵۱	۰/۴۱	۱۳/۷۸
۱۵	trans-Caryophyllene	۱۴۲۹	۱۹/۰۵	۱۵/۷۴
۱۶	α-Humulene	۱۴۵۸	۱/۲۸	۱۶/۴۴
۱۷	β-Selinene	۱۴۸۹	۰/۱۴	۱۷/۲۱
۱۸	α-Selinene	۱۴۹۸	۰/۱۵	۱۷/۴۳
۱۹	Data MS	۱۵۵۹	۰/۶۵	۱۸/۸۵
۲۰	E-Nerolidol	۱۵۶۶	۰/۰۵	۱۹/۰۱
۲۱	Data MS	۱۵۸۰	۰/۲۳	۱۹/۳۴

ادامه جدول ۱: ترکیب شیمیایی اسانس یاس بنفش گرمسیری به‌دست آمده از آنالیز GC-MS.

ردیف	ترکیب	شاخص بازداری (RI)	مقدار (درصد)	زمان بازداری (RT)
۲۲	Caryophyllene oxide	۱۵۸۸	۱/۸۱	۱۹/۵۴
۲۳	Caryophylla-4(12),8(13)-dien-5-alpha-ol	۱۶۴۳	۰/۶۱	۲۰/۷۶
۲۴	Data MS	۱۷۵۰	۰/۳۲	۲۳/۱۲
۲۵	Data MS	۱۷۹۹	۳/۶۰	۲۴/۱۶
۲۶	Data MS	۱۸۸۸	۳/۳۸	۲۵/۹۶
۲۷	Data MS	۱۸۹۳	۰/۴۵	۲۶/۰۷
۲۸	Data MS	۱۹۳۱	۱/۵۷	۲۶/۸۲
۲۹	Data MS	۱۹۳۶	۳/۵۳	۲۶/۹۱
۳۰	Data MS	۱۹۵۰	۲/۶۷	۲۷/۱۹
۳۱	Data MS	۱۹۵۷	۳/۶۶	۲۷/۳۳
۳۲	Data MS	۱۹۶۰	۱/۴۱	۲۷/۳۸
۳۳	Data MS	۱۹۶۶	۰/۹۵	۲۷/۵۰
۳۴	Data MS	۱۹۷۱	۶/۱۰	۲۷/۵۹
۳۵	Data MS	۱۹۷۸	۱/۸۰	۲۷/۷۴
۳۶	Geranyl Linalool isomer A	۱۹۹۸	۱۱/۹۹	۲۸/۱۲
۳۷	Geranyl Linalool isomer B	۲۰۰۲	۱/۳۹	۲۸/۲۰
۳۸	Data MS	۲۰۲۰	۰/۲۱	۲۸/۵۲
۳۹	Data MS	۲۰۲۸	۱/۹۵	۲۸/۶۶
۴۰	Data MS	۲۰۴۶	۰/۲۷	۲۸/۹۸
۴۱	Data MS	۲۰۶۳	۱/۵۸	۲۹/۲۸
۴۲	Data MS	۲۰۸۱	۲/۳۳	۲۹/۶۰
۴۳	Data MS	۲۰۹۰	۰/۸۵	۲۹/۷۵
۴۴	Data MS	۲۰۹۶	۲/۵۶	۲۹/۸۶
۴۵	Data MS	۲۱۱۱	۰/۳۹	۳۰/۱۴
۴۶	Data MS	۲۱۲۷	۴/۹۲	۳۰/۴۴
۴۷	Data MS	۲۱۵۱	۰/۳۰	۳۰/۸۷
۴۸	Data MS	۲۱۹۷	۰/۳۶	۳۱/۷۳
۴۹	Data MS	۲۲۰۶	۰/۳۱	۳۱/۸۹
۵۰	Data MS	۲۲۳۴	۰/۶۵	۳۲/۳۷
۵۱	Data MS	۲۲۶۰	۱/۹۱	۳۲/۸۱
۵۲	Data MS	۲۲۸۳	۰/۶۱	۳۳/۲۱
۵۳	Data MS	۲۲۹۳	۴/۸۲	۳۳/۳۸
۵۴	Data MS	۲۳۲۷	۱/۲۴	۳۳/۹۵
۵۵	Data MS	۲۳۹۴	۰/۶۸	۳۵/۰۴

نتیجه‌گیری کلی

مطالعه حاضر اولین گزارش بر روی ترکیب شیمیایی اسانس *C. pyramidata* در ایران است. براساس نتیجه به دست آمده، برگ‌های این گیاه دارای میزان زیادی trans-Caryophyllene و ایزومر Geranyl linalool A است. Linalool یک مونوترپن است که فعالیت بازدارندگی کمتری نسبت به سنتز کارتنوئید در Synechococcus نشان داده است. Geranyl linalool به عنوان یک ترکیب فرار وابسته به تستوسترون در غده اولیه موش صحرایی شناسایی شد. Linalool توسط متخصصان آفات به‌عنوان حشره‌کش ضدکک، کرم‌سیب، سوسک و در برخی محصولات به‌عنوان ضدپشه‌ها استفاده شده است. همچنین در محصولات بهداشتی معطر و شوینده‌هایی مانند صابون‌ها ، مواد گندزدا، شامپوها و لوسیون‌ها مورد استفاده قرار گرفته است. این ماده به عنوان یک واسطه شیمیایی نیز استفاده شده است. ویتامین E یک محصول پایین‌دست معمول از

Linalool است. با وجود منوترپن‌های متعددی مانند Linalool، Sabinene، α-Pinene و 4-Terpineol می‌توان از این گیاه در رایحه‌درمانی برای درمان عوارضی مانند افسردگی، سوءهاضمه، سردرد، بی‌خوابی، دردهای عضلانی و مشکلات تنفسی استفاده نمود. همچنین در آینده می‌توان این مواد را به عنوان ضدویروس، ضدباکتری، ضدقارچ و ضدسرطان مورد مطالعه قرار داد.

منابع

Adams R.P. (2001). Identification of essential oils by gas chromatography quadrupole mass spectroscopy. Allured Publishing Corporation, Carol Stream, USA.

Al Mansouri, S., Ojha, S., Al Maamari, E., Al Ameri, M., Nurulain, S.M., & Bahi, A. (2014). The cannabinoid receptor 2 agonist, β-caryophyllene, reduced voluntary alcohol intake and attenuated ethanol-induced place preference and sensitivity in mice. *Pharmacology, biochemistry and behavior*, 124: 260–268.

Ali Bakhshi, H., Dourandish, A., & Sabouhi, M. (2019). Iran's Dry Climate Zoning Using the Domartan Method, 2ndNational Conference on Natural Resources Management (Water, Flood and Environment), 14 Nov 2019, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Iran.

Astani, A., & Schnitzler, P. (2014). Antiviral activity of monoterpenes beta-pinene and limonene against herpes simplex virus in vitro. *Iranian Journal Microbiology*, 6(3): 149–155.

Babar, A., Al-Wabel, N.A., Shams, S., Ahamad, A., Alam Khan, S., & Anwar, F. (2015). Essential oils used in aromatherapy: A systemic review. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 5(8): 601–611.

Bahi, A., Al Mansouri, S., Al Memari, E., Al Ameri, M., Nurulain, S.M., & Ojha, S. (2014). B-Caryophyllene, a CB2 receptor agonist produces multiple behavioral changes relevant to anxiety and depression in mice. *Physiology & Behavior*, 135: 119–124.

Balick, M.J., & Arvigo, R. (2015). Messages from the Gods: A guide to the useful plants of Belize. Oxford University Press, 600 p.

Berry, P.E., & Weitzman, A.L. (2007). Checklist of the Plants of the Guiana Shield (Venezuela: Amazonas, Bolivar, Delta Amacuro; Guyana, Surinam, French Guiana). *Smithsonian research online*, 55: 1–584.

Bourgaud, F., Gravot, A., & Miles S. (2001). Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. *Plant Science*, 161(5): 839–851.

Erlanio, O.S., Barreto, F.S.S., Rodrigues, F.F.G., Campos, A.R., & Costa, J.G.M. (2012). Chemical composition of the essential oils of *Lantana camara* L. and *Lantana montevidensis* Briq. and their synergistic antibiotic effects on aminoglycosides. *Journal of Essential Oil Research*, 24(5) : 447-452.

Gertsch, J., Leonti, M., & Raduner, S. (2008). Beta-caryophyllene is a dietary cannabinoid. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105 (26): 9099–104.

Gliic, S.B., Milojevic, S.Z., Dimitrijevic, S.I., Orlovic, A.M., & Skala, D.U. (2007). Antimicrobial activity of the essential oil and different fractions of *Juniperus communis* L. and a comparison with some commercial antibiotics. *Journal of Serbian Chemical Society*, 72(4):311-320.

Guimaraes-Santos, A., Santos, D.S., Santos, I.R., Lima, R.R., Pereira, A., de Moura, L.S., Carvalho Jr, R.N., Lameira, O., & Gomes-Leal, W. (2012). Copaiba oil-resin treatment Is neuroprotective and reduces neutrophil recruitment and microglia activation after motor cortex excitotoxic injury. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1–9.

Jorgensen, P. M. & S. Leon-Yanez. (eds.) (1999). Cat. Vasc. Pl. Ecuador. Monographs in systematic botany from the Missouri Botanical Garden 75: i–viii, 1–1181

Katsuyama, S., Mizoguchi, H., & Kuwahata, H. (2013). Involvement of peripheral cannabinoid and opioid receptors in β-caryophyllene-induced antinociception. European journal of pain 17 (5): 664–675.

Kouam, S. F., Ngouonpe, A. W., Bullach, A., Lamshöft, M., Kuigoua, G. M., & Spiteller, M. (2013). Monoterpenes with antibacterial activities from a Cameroonian medicinal plant *Canthium Multiflorum* (Rubiaceae). Fitoterapia. Volume 91, 199–204.

Lawless, J. (2013).The Encyclopedia of Essential Oils.The Complete Guide to the Use of Aromatic Oils in Aromatherapy, Herbalism, Health, and Well Being. Conari Press.

Leclercq, Piet A., Silva Delgado,H., Garcia, H.J., Hidalgo, E., Cerruttti, T., Mestanza, M., Ríos, F., Nina, E., Nonato, L., Alvarado, R., & Menéndez, R. (1999). Aromatic Plant Oils of the Peruvian Amazon. Part 1. *Lippia alba* (Mill.) N.E. Br. and *Cornutia odorata*(Poeppig) Poeppig ex Schauer, Verbenaceae. Journal of Essential Oil ResearchVolume 11, Issue 6, pages 753-756.

Montanari, R.M., Barbosa, L.C.A., Demuner, Cleber J. Silva, C.J., Carvalho, L.S., & Andrade, N.J. (2011). Chemical composition and antibacterial activity of essential oils from Verbenaceae species: alternative sources of (E)-caryophyllene and germacrene-D. Quím. Nova vol.34 no.9 São Paulo.

Oksman-Caldentey, K.M., & Inze, D. (2004). Plant cell factories in the post-genomic era: new ways to produce designer secondary metabolites. Trends Plant Sci, 9(9): 433-440.

Raveendrakurup, A., Sadasivan, A.N., Koranappallil, B.R., & Appian, S. (2014). The Essential Oil Constituents of Zornia diphylla (L.) Pers, and Anti-Inflammatory and Antimicrobial Activities of the Oil. Rec. Nat. Prod. 8:4: 385-393.

Ricciardi, G.A.L., Torres, A.M., van Baren, C., Di Leo Lira, P. Ricciardi, A.A., Eduardo Dellacassa, E., Lorenzo, D., & Bandoni, A.L. (2005). Essential oil of *Aloysia virgata* var. *platyphylla* (Briquet) Moldenke from Corrientes (Argentina). *Flavour and Fragrance Journal*, 20: 645–649.

Sadgrove, N., & Jones, G. (2015). A contemporary introduction to essential oils: chemistry, bioactivity and prospects for Australian agriculture. *Agriculture*, 5(1): 48-102.

Sangwan, N.S., Farooqi, A.H., Shabih, F., & Sangwan, R.S. (2001). Regulation of essential oil production in plants. *Plant Growth Regulation*, 34: 21-34.

Taiz, L., & Zeiger, E. (2006). Plant Physiology, 4th Edition. Sinauer Associates Inc. Sunderland, Massachusetts. USA. 260-287.

Tavera Loza H. (1999). Monoterpenes in essential oils. Biosynthesis and properties. *Advances* in *Experimental Medicine* and *Biology*, 464:49-62.