

استخراج و شناسایی ترکیبات شیمیایی کرفس کوهی در مرحله غنچه‌گی

نرجس سیفی پور نهنه^{۱*}، فریبا رفیعی^۲

^{۱*} گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشجوی ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشگاه شهرکرد

^۲ گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی کشاورزی، استادیار گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشگاه شهرکرد

* نویسنده مسئول: n.seifipour90@gmail.com

چکیده

کرفس کوهی با نام علمی *Kelussia odoratissima M* گیاهی مهم از خانواده چتریان با ارزش دارویی، اقتصادی و اکولوژیکی در منطقه زاگرس مرکزی است. متأسفانه این گیاه به علت برداشت غیرمجاز در معرض انقراض می‌باشد. به منظور بررسی میزان ترکیبات شیمیایی این گیاه برای پی بردن به خصوصیات دارویی آن ابتدا از اکوتیپ شیخ علیخان در مرحله غنچه کرفس کوهی نمونه برداری شد. برای شناسایی ترکیبات به صورت بافت تازه و سالم با روش *Headspace*، که بهترین روش برای شناسایی بافت زنده گیاه است، استفاده شد. پس از بررسی‌های نتایج بدست آمده و مراجعه به کتب مرجع، ترکیبات عمده شیمیایی غنچه کرفس کوهی شناسایی گردید. مهم‌ترین ترکیب‌های تشکیل دهنده شامل: *2-Octen-1-ol acetate*، *α-copaene*، *Elixene*، *Z-ligustilide*، *5-Pentyl cyclohexa-1,3-diene* ۶۳،۹۶ درصد از ترکیبات را تشکیل می‌دهد.

کلمات کلیدی: ترکیبات شیمیایی، کرفس کوهی، *Headspace*

مقدمه

کرفس کوهی با نام علمی *Kelussia odoratissima Mozaff* و نام محلی کلوس جنسی جدید از خانواده چتریان می‌باشد گیاهی است چندساله، ایستاده، بدون کرک و معطر که ارتفاع آن به ۱۲۰ تا ۲۰۰ سانتیمتر می‌رسد. رنگ گل‌ها زرد و به صورت چتر روی گل‌آذین قرار گرفته‌اند (Mozaffarian, 2003). این گیاه فقط در چند ناحیه محدود از ارتفاعات زاگرس مرکزی یافت می‌شود و مصرف خوراکی و دارویی دارد که بیشتر به‌عنوان چاشنی مصرف می‌شود (Omidbaigi et al, 2008).

طی تحقیقات انجام شده روی خواص فارماکولوژیک این گیاه، اثرات ضد درد و التهاب (Haj Hashemi et al, 2003)، فیبرینولیتیک (Rabbani et al, 2011)، کاهنده اسید (Asgari et al, 2006) و اسید پیپسین معده (Shahrani et al, 2007) و تقویت‌کننده‌ی حافظه (Rogani et al, 2008) مشاهده شده است.

همچنین بر طبق مطالعات انجام شده، این گیاه دارای فلاونوئید، ترکیبات فتالیدی، اسیدهای چرب و مواد فنولی می‌باشد که اثرات پیشگیری از سرطان (Jaberolansar et al, 2005) و محافظت از کبد (Lee et al, 2007) به آن‌ها نسبت داده شده است. همچنین به دلیل دارا بودن ترکیبات فنولی و فلاونوئیدها دارای خاصیت مهار رادیکال‌های آزاد و اثرات آنتی‌اکسیدانی بوده که با آلفا توکوفرول قابل مقایسه می‌باشد (Ahmadi et al, 2007).

علی‌رغم مطالبی که در بالا اشاره شد و باور عموم، بر این که در اوایل دوره رشد که اصطلاحاً "غنچه کرفس" نامیده می‌شود، ارزش دارویی این گیاه حداکثر است، اما در این زمینه سند علمی معتبری وجود ندارد. بنابراین هدف از انجام این تحقیق شناسایی ترکیبات شیمیایی غنچه کرفس کوهی است.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه، در ابتدا نمونه از منطقه کوه‌رنگ کوه شیخ علیخان در اواخر اسفندماه، از غنچه کرفس جمع‌آوری و برای جلوگیری از پژمرده شدن گیاه و همچنین حفظ حالت طبیعی کرفس و جلوگیری از تجمع مواد در قسمتی از گیاه و خطاهای احتمالی، نمونه را در همان لحظه در فایل الومینومی در یخچال فیبری حاوی کیسه‌های یخ در محل نمونه‌برداری، نگهداری شد.

نمونه‌های تهیه شده بر روی یخ برای بررسی ترکیبات شیمیایی با استفاده از روش نمونه‌برداری از فضای فوقانی (Headspace Sampling)، به دانشگاه آزاد خوراسگان منتقل شد. نمونه‌برداری از فضای فوقانی، روش موفق و جدیدی از GC است که در آن ماده مورد نظر برای استخراج ابتدا از بافت جامد یا مایع خود به فضای فوقانی نمونه انتقال می‌یابد، سپس نمونه‌ها به قطعات کوچک تبدیل شد و حدوداً به مقدار ۱۵ گرم از هر نمونه داخل ظروف مخصوص دستگاه قرار داده شد و درب آن‌ها محکم بسته شده و برای بررسی اسانس‌ها و قرار دادن در دستگاه GC-MS آماده شده و اندازه‌گیری انجام شد.

در هر مورد پس از قرار دادن نمونه در دستگاه، نمونه از طریق محل تزریق وارد دستگاه می‌شود با توجه به خروج آلکان‌های نرمال، زمان بازداری ترکیب‌ها (Rt)، اندیس بازداری کواتس (KI) طیف جرمی و مقایسه این پارامترها با ترکیب‌های استاندارد و تطبیق آن‌ها با الگوهای کتابخانه‌ای و شاخص‌های موجود در کتاب و سایت مرجع Pherobace و NIST ترکیب‌هایی که با شاخص فوق در یک محدوده قرار داشته باشند به‌عنوان ترکیب سازنده اسانس شناخته شد، طیف‌های مربوط به هر جسم تفسیر و ترکیبات عمده تشکیل دهنده شناسایی شدند. همچنین با توجه به سطح زیر منحنی هریک از پیک‌های کروماتوگرام GC و مقایسه آن با سطح کل زیر منحنی، درصد نسبی هر یک از اجزاء متشکله اسانس تعیین شد (Shibamoto, 1987; Davis, 1990; Adams, 1995).

نتایج و بحث

همان‌طور که در جدول شماره ۱ مشاهده می‌شود، مهم‌ترین ترکیب‌های تشکیل دهنده گیاه کرفس کوهی در مرحله غنچه کرفس کوهی شامل: 2-Octen-1-ol acetate, α -copaene, Elixene, Z-ligustilide, 5-Pentyl cyclohexa-1,3-diene می‌باشند که حدود ۶۳,۹۶ درصد از ترکیبات را تشکیل می‌دهد. چنانچه در جدول ۱ ملاحظه می‌شود، ترکیب 2-Octen-1-ol, acetate بیشترین مقدار، حدود ۲۱,۰۲ درصد ترکیب 5-Pentyl cyclohexa-1,3-diene، به‌عنوان دومین ماده تشکیل دهنده ترکیب‌های با ۱۷,۹۰ درصد از ترکیب‌های شناسایی شده را تشکیل می‌دهد.

ترکیب‌های Z-Butylidene phthalide, (E)-3-Butylidene phthalide, Z-ligustilide, E-ligustilide همگی جزء فتالیدها دسته‌بندی می‌شوند ۱۲,۵۸ درصد از ترکیب‌های گیاه کرفس را تشکیل می‌دهند.

جدول ۱- ترکیب‌های شناسایی شده در غنچه کرفس *Kelussia odoratissima* Mozaff کوه شیخ‌علیخان در استان چهارمحال و بختیاری

No.	Name	KI Cal.	%
1	myrcene	989	0.04
2	D-Limonene	1046	0.23
3	Terpinolene	1089	0.03
4	2-Nonanone	1094	0.11
5	5-Pentyl cyclohexa-1,3-diene	1161	17.90
6	2-Decanone	1192	0.21
7	2-Octen-1-ol, acetate	1276	21.02
8	(2E)-Decen-1-ol	1278	1.40
9	2-Undecanone	1291	2.07
10	carvacrol	1298	0.41
11	α -Cubebene	1366	1.02
12	α -copaene	1377	5.87
13	β -Elemene	1385	1.89
14	cis-3-Decenyl acetate	1388	0.10
15	β -Caryophyllene	1422	1.57
16	Elixene	1436	7.14
17	α -Guaiene	1440	0.48
18	α -Humulene	1457	1.52
19	Germacrene D	1484	0.56
20	γ -Patchoulene	1493	1.04
21	β -Himachalene	1503	1.00
22	α -Farnesene	1506	0.32
23	β -selinene	1508	0.88
24	α -Cadinene	1528	1.57
25	germacrene B	1562	0.22
26	spathulenol	1582	0.030
27	Z-Butylidene phthalide	1675	0.25
28	(E)-3-Butylidene phthalide	1744	0.03
29	Z-ligustilide	1765	12.03
30	E-ligustilide	1830	0.27
31	Methyl hexadecanoate	1924	0.14
	TOTAL		81.35

مطالعات زیادی در حیطة اثرات این ترکیبات، انجام شده است. برای مثال مشخص شده است که این ماده Z-*ligustilide*، به سبب شل کردن عضله صاف شده، گردش خون را افزایش می‌دهد و اثرات ضد آسم و ضد درد دارد. همچنین از طریق مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدانی و ضدآپوپتوزی از ایسکمی مغزی جلوگیری می‌کند (Rabani *et al*, 2011).

در مطالعات دیگر مشخص شده است که فتالیدهای موجود در برگ گیاه کرفس کوهی دارای اثرات مهارکنندگی پروستاگلاندین F2 α هستند (Salimi *et al*, 2010). از طرف دیگر مشخص شده است که این پروستاگلاندین سبب انقباض در بافت‌های ایزوله مختلفی از جمله رحم، نای، ایلسوم و عروق خونی می‌شود (Beretta and Cavali, 2004; Pillippe, 1997).

به‌طور کلی، نتایج تحقیق حاضر مؤید این واقعیت است که به علت ترکیبات شیمیایی زیاد، خواص دارویی متعددی را می‌توان برای این گیاه برشمرد که متأسفانه فقط برخی از ترکیبات این گیاه، خواص درمانی آن‌ها مورد بررسی قرار گرفته‌است. در نتیجه توصیه می‌شود به دلیل اهمیت این گیاه، تلاش مضاعفی صورت بگیرد تا از برداشت بی‌رویه این گیاه و انقراض آن با بومی‌سازی و تولید انبوه جلوگیری به عمل آید و همچنین پس از استخراج، جداسازی و شناسایی خواص دارویی ترکیب‌های موجود در این گیاه لازم است که مطالعات بالینی بیشتری برای تعیین خصوصیات درمانی هر کدام از ترکیبات این گیاه انجام شود.

منابع

- Adams, R.P 2001. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography. Quadrupole Mass Spectroscopy. Allured Publ. Crop., Carol Stream IL.
- Ahmadi F, Kadivar M, Shahedi M 2007. Antioxidant activity of *kelussia odoratissima* Mozaff. In model and food systems. Food Chem; 105:57-6.
- Asgari S, naderi G, Jaafarian A, Asgarian N 2006. evaluation of fibrinolytic effect of *kelussia odoratissima* Mozaff. J Med Plants; 4(13): 19-25.
- Beretta C, Cavalli M 2004. A sheer pharmacologic approach to compare the contractile effects of PGF2 α , DLcloprostenol and D-cloprostenol on isolated uterine, tracheal, ileal and arterial smooth muscle preparations. Theriogenology; 62(5):837-46.
- Davies, N.W 1990. Gas chromatographic retention indices of monoterpenes and sesquiterpenes on methyl silicone and carbowax 20 M phases. J. Chromatogr. 503: 1-24.
- Haji hashemi VA, Ghanadi A, Soltani L 2003. Analgesic and anti-inflammatory effects of *Kelussia odoratissima*. J Res Med Sci; 7(4):121-5. (Persian).
- Jaberolansar Z 2005. Assessment of genetic diversity *Kelussia odoratissima* Mozaff. by using chromosomal characteristics of seed germination: Industrial Esfahan University; 21-4.
- Lee TF, Huang Y, Lin Y 2007. Studies on anti-proliferative effects of phthalides from *Ligusticum chuanxiong* in hepatic stellate cells. Planta Medica; 37(6): 527-34.
- Mozaffarian, V 2003. Two news genera of Iranian umbellifereae. Botanichyeskii Zhurnal (Leningrad) 2: 88-94.
- Omidbaigi R, Sefidkon F, Saeedi K 2008. Essential oil content and composition of *Kelussia odoratissima* Mozaff. as an Iranian endemic plant. J Essent Oil Bearing Plants; 11: 594-7.
- Phillippe M, Saunders T, Basa A 1997. Intracellular mechanisms underlying prostaglandin F2 α -stimulated phasic myometrial contractions. Am J Physiol; 273(4 Pt 1):E665-73.
- Rabbani M, Sajjadi SE, Sadeghi M 2011. Chemical composition of the essential oil from *kelussia odoratissima* mozaff. and the evaluation of its sedative and anxiolytic effects in mice. Clinics; 66(5):843-8.
- Rogani M, Baluch Nejad T, Ramezani M 2008. Evaluation of chronic oral administration effect of aerial part of *Kelussia odoratissima* Mozaff. on learning and memory in diabetic wistar rats. J Med Plants; 7(25): 98-105.
- Salimi M, Ebrahimi A, Shojaee Asadieh Z, Saei Dehkordi SS 2010. Essential oil composition of *Kelussia odoratissima* Mozaff. Ir J Med Aromatic Plants; 26(2): 147-56. (Persian).
- Shahrani M, Rafian M, Pilevarian A, Shirzad H, Hashem zade M, Yosefi H, et al 2007. Effect of methanolic extract of *Kelussia odoratissima* Mozaff. on secretion of stomach acid and pepsin in wistar rats. J Shahrekord University of Med Sci; 8(4): 88-95.
- Shibamoto, T 1987. Retention indices in essential oil analysis. In Capillary Gas chromatography in Essential oil Analysis, Sandra, P, Bicchi C (eds). Alfred Heuthig-Verlag: New York, 259-275.

Chemical Composition and Identification of Bioactive Compounds in *Kelussia odoratissima* Mozaff at Budding Stage

Narjes Seifipour*, Fariba Rafiei

* Department of Plant Breeding and Biotechnology, Shahrekord University, Shahrekord, Iran

*Corresponding Author: n.seifipour90@gmail.com

Abstract

Mountain celery (*Kelussia odoratissima* Mozaff) is an important medicinal plant from Umbeliferae family. This economically-important plant has been recently endangered to the risk of extinction due to the harvesting at bud stage. Despite information on chemical composition of the mature plant, there is no report on chemical composition of *K. odoratissima* at budding stage. The present study aimed to extract and identify its chemical composition at budding stage. The plant was collected from Sheikh Alikhan region by Headspace method. Results indicated that main bioactive compounds included z-2-octen-1-ol acetate, elixene, α -copaene, 5-pentyl cyclohexa-1,3-diene, and liguistilide, which collectively comprised 63.96% of total bioactive compounds.

Keywords: Mountain celery, Headspace, Chemical compounds

