مقایسه ترکیبات شیمیایی فرکشن کلروفرمی عرق با اسانس اندام‌های مختلف باریجه *Ferula gummosa* Boiss.

مسعود قدرتی تزنگی[۱]، مهدی عیاری*[۲]، مریم دیده‌ور[۳]
[۱و۳] دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم باغبانی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران
*[۲] استادیار گروه علوم باغبانی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران
*نویسنده مسئول: m.ayyari@modares.ac.ir

چکیده

گیاه باریجه با نام علمی *Ferula gummosa* Boiss.، یک گیاه چندساله و مونوکارپیک از تیره چتریان می‌باشد، که صمغ بدست آمده از ریشه آن علاوه بر طب سنتی ایران، کاربردهای صنعتی فراوانی از جمله صنعت عطر و ادکلن‌سازی نیز دارد. در این مطالعه متابولیت‌های موجود در عرق و اسانس بدست آمده از این گیاه مقایسه می‌گردد. نمونه‌های برگ، ریشه و اندام گل دهنده باریجه از روستای مرق، شهرستان کاشان استان اصفهان با ارتفاع ۲۱۰۰ متر از سطح دریا جمع‌آوری و سایه خشک گردید. اسانس‌گیری از تمام نمونه‌ها بوسیله کلونجر و به مدت ۴ ساعت انجام شد و اسانس به عنوان بخش غیر قابل حل در آب جداسازی گردید. پس از جداسازی اسانس فرآیند تبخیر در کلونجر ادامه یافت و بخار سرد شده به عنوان عرق جمع‌آوری گردید. پس از جداسازی فرکشن کلروفرمی از عرق اندام های مختلف، نمونه‌ها بوسیله دستگاه GC-FID و سپس GC-Ms آنالیز شدند. ترکیبات عمده موجود در اسانس برگ به ترتیب عبارتند از: β-Pinene، ۱۵درصد، Elemole acetate، ۱۱/۸درصد، Acorenone B، ۵/۳ درصد. ترکیبات عمده موجود در اسانس اندام گل دهنده به ترتیب عبارتند از: β-Pinene ۲۰درصد، Elemole acetate ۱۸/۵ درصد و alpha terpinene ۶ درصد. همچنین β-Pinene ۴۱ درصد، Guaiol ۱۰ درصد و Bulnesol ۱۰ درصد، اجزای عمده تشکیل دهنده اسانس ریشه بودند. ترکیبات عمده موجود در فرکشن کلروفرمی عرق برگ شامل Himachalol، ۵ درصد، Carvacrol ۵ درصد Copaen-11-ol alpha ۴درصد و اندام گل دهنده، Hedycaryol ۶ درصد، Intermedeol ۴/۵ درصد و Elemole acetate ۳/۲ درصد می‌باشد.

همچنین Bulnesol ۱۵/۵ درصد، Guaiol ۸/۵ درصد و Intermedeol ۳/۵ درصد، ترکیبات عمده فرکشن کلروفرمی عرق ریشه را تشکیل می‌دادند.

کلمات کلیدی: *Ferula gummosa*، متابولیت ثانویه، کروماتوگرافی، GC-MS

مقدمه

گیاهان دارویی، یکی از منابع مهم تولید دارو هستند که بشر طی سالیان دراز از آنها استفاده نموده است. در حال حاضر از ۲۵۰ تا ۳۰۰ هزار گونه گیاهی، فقط ۵ هزار گونه جهت استفاده‌های درمانی مورد مطالعه قرار می‌گیرند. متأسفانه بسیاری از گونه‌های گیاهی حتی قبل از شناسایی آن‌ها منقرض شده اند (اصغری, ۱۳۸۵). گیاه دارویی باریجه با نام علمی *Ferula gummosa* Boiss. و نام انگلیسی Galbanum یکی از با ارزشترین گونه‌های گیاهی دارویی و آروماتیک بومزاد ایران و از خانواده چتریان است که علاوه بر مصارف دارویی در طب سنتی ایرانی، کاربردهای صنعتی فروانی بویژه در صنعت عطر و ادکلن دارد. زادآوری پایین و همچنین برداشت بی رویه به منظور استحصال صمغ، باعث شده که این گیاه در مواجهه با خطر انقراض قرار بگیرد. این گیاه از مدت‌ها پیش در طب سنتی کشورمان شناخته شده است، از اثرات درمانی آن می توان به استفاده از عصاره آن در تسکین سندروم محرومیت از مورفین اشاره کرد (Ramezani *et al.*, 2001). بسیاری از ترکیبات فرار و غیر فرار موجود در اسانس و عصاره آن از جمله مونوترپن‌ها، سزکوئی ترپن‌ها و سزکوئی‌ترپن کومارین‌ها دارای ارزش بالایی هستند. مشخص شده که آلفاپینن و بتاپینن دو ترکیب اصلی اسانس باریجه

IrHC2019

را تشکیل می‌دهند(Kouyakhi *et al.*, 2008). با توجه به اهمیت دارویی و صنعتی این گیاه بومزاد در حال انقراض، به عنوان یک محصول صادراتی ارزشمند و سرمایه طبیعی کشور، شناسایی ترکیبات کاربردی و همچنین یافتن راه‌های مناسبتر جهت استخراج و خالص‌سازی آن‌ها ضروری می‌نماید. در این مطالعه ترکیبات موجود در فرکشن هگزانی عرق اندام‌های مختلف این گیاه با ترکیبات موجود در اسانس همان اندام‌ها مقایسه می‌گردد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری: نمونه‌ها از ارتفاعات شرقی روستای مرق، شهرستان کاشان استان اصفهان با ارتفاع بین ۱۹۰۰ تا ۲۱۰۰ متر از سطح دریا، در مختصات جغرافیایی ۳۳ درجه و ۵۴ دقیقه و ۱۵ ثانیه عرض شمالی و ۵۱ درجه و ۵ دقیقه و ۱۵ ثانیه عرض شرقی، در اردیبهشت ماه ۱۳۹۷ جمع‌آوری گردید. شیب محل جمع‌آوری بین ۳۰ تا ۴۵ درجه در جهت شمالی بود. جهت برداشت برگ و ریشه در اوایل اردیبهشت و اندام گل دهنده در اواخر همان ماه به منطقه مذکور مراجعه گردید. نمونه‌ها پس از جمع‌آوری به اتاق خشک‌کن دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس منتقل و در سایه خشک شدند. همچنین نمونه‌های ریشه، ورقه ورقه و به ترتیب قبل خشک گردیدند. پس از خشک شدن کامل، نمونه‌ها بوسیله آسیاب برقی کوچک به قطعات ریزتر خرد شدند و جهت انجام مراحل بعدی در کیسه‌های مجزا در محل خنک و به دور از نور نگهداری شدند.

اسانس و عرق‌گیری: در این مرحله، ۵۰ گرم از هر نمونه وزن شد و اسانس‌گیری به روش تقطیر با آب و بوسیله دستگاه کلونجر به مدت ۴ ساعت انجام شد. اسانس به عنوان بخش غیر قابل حل در آب جداسازی و بوسیله نمک سدیم سولفات آب‌گیری شد. اسانس هر سه اندام تا زمان آنالیز در یخچال نگهداری شد. پس از فرایند اسانس‌گیری مرحله تقطیر دوباره آغاز شد و بخار سرد شده کلونجر به عنوان عرق جمع‌آوری گردید. به منظوره فرکشنه کردن عرق، میزان ۵۰ میلی لیتر از آن را داخل دکانتور ریخته و سه بار با حلال کلروفرم به میزان ۲۰ میلی‌لیتر شستشو داده شد. پس از هر بار شستشو بخش حلال جمع‌آوری گردید و در نهایت هر سه بخش کلروفرمی مخلوط شدند. عملیات تبخیر حلال بوسیله دستگاه روتاری در دمای ۴۰ درجه انجام گردید.

همه نمونه‌ها پس از آماده‌سازی، جهت آنالیز کمی و شناسایی بهترین نمونه‌ها، به دستگاه GC-FID دانشکده کشاورزی تربیت مدرس تزریق شد. پس از آن بهترین نمونه‌ها جهت شناسایی ترکیبات تشکیل‌دهنده به دستگاه GC-MS پژوهشکده گیاهان دارویی دانشگاه شهید بهشتی تزریق گردید.

آنالیز بوسیله دستگاه GC-FID: دستگاه گاز کروماتوگراف (GC) Agilent مدل 7890B، ستون HP-5 به طول ۳۰ متر و قطر ۰/۳۲ میلی‌متر و ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر بود. برنامه ریزی حرارتی آون با ۶۰ درجه سانتی‌گراد شروع و سپس با افزایش دمای ۵ درجه در دقیقه ادامه یافت و در نهایت، به مدت ۲ دقیقه در دمای ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد حفظ شد. دمای تزریق ۲۵۰ درجه و دمای شناسایی ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد بود. گاز حامل هلیوم با درصد خلوص ۹۹/۹۹۹٪، با سرعت ۱/۱ میلی‌لیتر بر دقیقه بود.

آنالیز بوسیله دستگاه GC-MS: دستگاه گاز کروماتوگراف متصل به طیف سنج جرمی مورد استفاده از نوع Quadrupole مدل Trace MS، ستون HP-5 به طول ۳۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلی‌متر، ضخامت لایه فاز ساکن، ۰/۲۵ میکرومتر، برنامه‌ریزی حرارتی مشابه دستگاه GC، دمای منبع یون و رابط حرارتی به ترتیب ۲۰۰ و ۲۵۰ درجه سانتی-گراد، انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت و گاز حامل هلیم با ۱/۱ میلی لیتر بر دقیقه بود. شناسایی طیف‌ها به کمک محاسبه شاخص بازداری و مطابقت هر ترکیب با منابع از طریق تزریق هیدروکربن‌های نرمال (C8-C24) تحت شرایط یکسان با تزریق اسانس‌ها به دست آمد. همچنین مقایسه آن‌ها با کتابخانه دستگاه، شامل Adams، Wiley و Main

IrHC2019

library صورت پذیرفت. پس از تشخیص ترکیبات تشکیل دهنده اسانس و فرکشن‌ها، ترکیبات مشترک بین اسانس‌ها و فرکشن‌ها که بیشترین درصد را شامل می‌شدند شناسایی و از نظر کمی مورد بررسی قرار گرفتند.

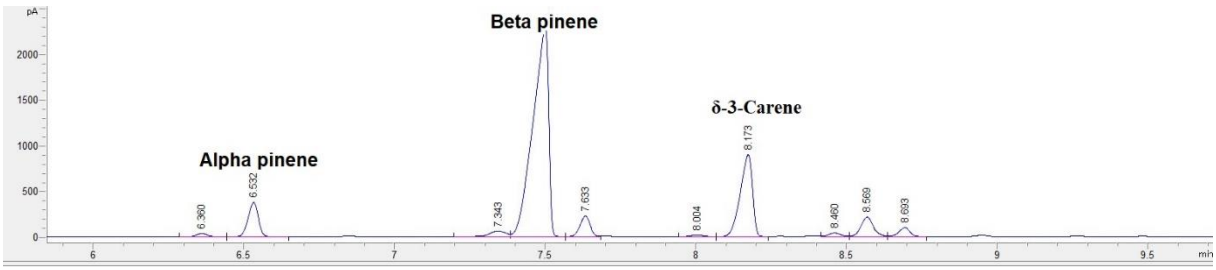
نتایج و بحث

بر اساس نتایج، بازده اسانس برای اندام‌های برگ، ریشه و گل، به ترتیب برابر با ۱/۲، ۴/۴ و ۰/۵ درصد وزنی/وزنی بدست آمد. همچنین بازده حجمی فرکشن هگزانی عرق برگ، ریشه و گل به ترتیب برابر ۰/۰۳۱، ۰/۰۳۷ و ۰/۰۵۱ درصد وزنی/حجمی محاسبه شد. در کل در اسانس برگ، ریشه و گل به ترتیب ۵۹، ۵۱ و ۴۹ ترکیب شناسایی شد. ترکیبات عمده تشکیل دهنده اسانس برگ به ترتیب شامل β-Pinene ۱۵، Elemole acetate ۱۲، Acorenone B ۵/۵، Guaiol ۵/۲ و اپی سدرول ۳/۳ درصد، ریشه به ترتیب شامل β-Pinene ۴۱، Guaiol ۱۱، Bulnesol ۱۰ و δ-3-Carene ۷,۴ درصد شد. همچنین Hedycaryol ۶ درصد، Intermedeol ۴/۵ درصد و Elemole acetate ۳/۲ درصد اجزای عمده اسانس اندام گل دهنده را تشکیل می‌دهند (جدول شماره ۱).

اجزای عمده تشکیل دهنده فرکشن کلروفرمی عرق برگ شامل Himachalol ۵ درصد، Carvacrol ۵ درصد 11-ol-α-Copaen ۴درصد ، ریشه شامل Bulnesol ۱۵/۵ درصد، Guaiol ۸/۵ درصد و Intermedeol ۳/۵ درصد بود. Hedycaryol ۶ درصد، Intermedeol ۴/۵ و Elemole acetate ۳/۲ درصد بخش عمده فرکشن کلروفرمی اندام گل دهنده را تشکیل می‌دادند (جدول شماره ۲).

جدول شماره ۱- ترکیبات عمده موجود در اسانس اندام‌های مختلف باریجه

ردیف	RT	ترکیبات	برگ	گل	ریشه	RI
۱	6.534	α-Pinene	۲/۶	۲/۱	۲	932
۲	7.55	β-Pinene	۱۴/۸	۱۹/۸	۴۱/۲	974
۳	24.545	Elemole acetate	۱۱/۸	۱۸/۵	**	1680
۴	8.172	δ-3-Carene	۵/۳	۰/۱	۷/۴	1008
۵	24.883	Acorenone B	۵/۳	۰/۷	**	1697
۶	22.75	Guaiol	۵/۲	**	۱۰/۶	1600
۷	24.279	Bulnesol	۵/۱	**	۱۰/۲	1670
۸	8.173	α-terpinene	۱/۲	۶	**	1014
۹	23.973	Himachalol	۳	۳/۸	۰/۹	1652
۱۰	21.566	Germacrene B	۰/۸	۲/۵	**	1559



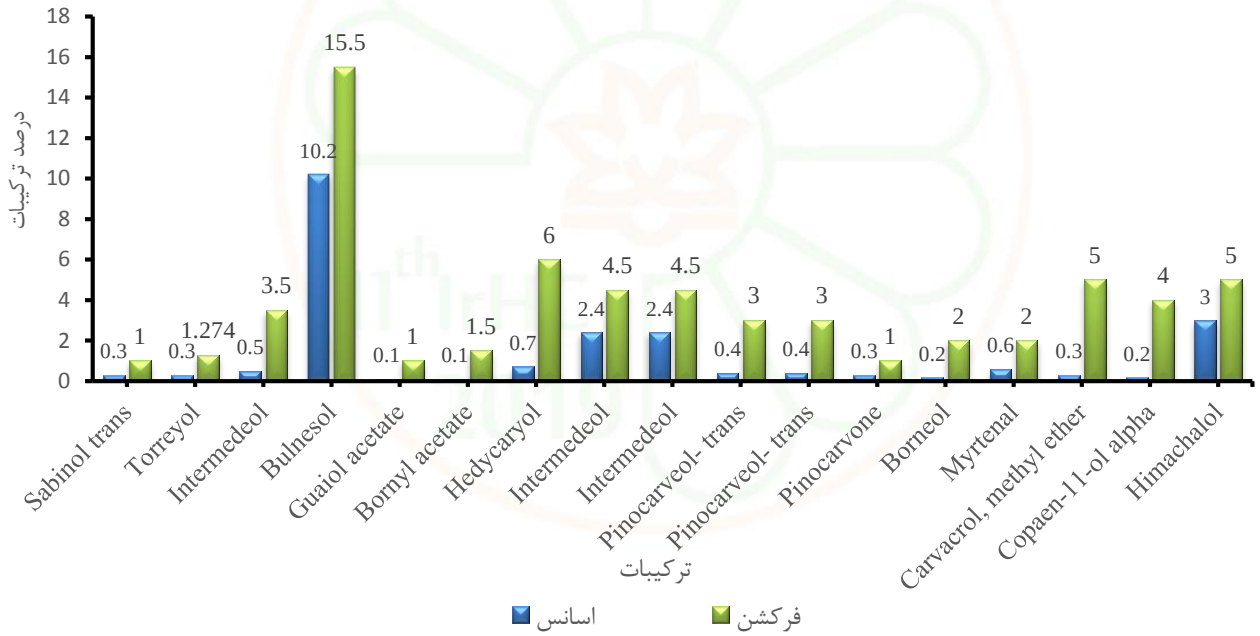
شکل شماره ۱- بخشی از کروماتوگرام اسانس اندام گل دهنده

IrHC2019

طبق نتایج بدست آمده (نمودار ۱)، مقدار بسیاری از ترکیبات در فرکشن کلروفرمی از عرق اندام‌های گیاه تا چند برابر، بیشتر از میزان این ترکیبات در اسانس بود، که این می‌تواند به دلیل حلالیت بیشتر این ترکیبات در آب باشد.

جدول شماره ۲- ترکیبات عمده موجود در فرکشن‌های کلروفرمی عرق برگ، گل و ریشه

ردیف	RT	ترکیبات	برگ (٪)	گل (٪)	ریشه (٪)	RI
۱	24.294	Bulnesol	**	**	۱۵/۵	1670
۲	22.75	Guaiol	۲	**	۸/۵	1600
۳	23.971	Intermedeol	**	۴/۵	۳/۵	1665
۴	14.011	Carvacrol, methyl ether	۵	**	۰/۵	1241
۵	23.973	Himachalol	۵	۲	۱/۵	1652
۶	21.28	ol-α-Copaen-11	۴	**	**	1539
۷	11.349	Trans Pinocarveol	۳	**	**	1135
۸	11.800	Elemol acetate	۳	۳/۲	**	1680
۹	21.242	Hedycaryol	**	۶	**	1546



نمودار ۱- مقایسه میزان ترکیبات عمده فرکشن کلروفرمی و اسانس

نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که میزان ترکیبات ثانویه اندام‌های مختلف گیاه بسیار متغیر بود. بالاترین میزان این ترکیبات به ترتیب در ریشه، برگ و گل گزارش شد. این به این معناست که میزان مواد موثره در اندام های گیاهان هیچگاه ثابت نیست و در اندام‌های متفاوت گیاه قابل تغییر است. کمیت و کیفیت ترکیبات شیمیایی، وابسته به تنوع ژنتیک و شرایط محیط و گیاه متغیر است (Qadir *et al.*, 2009).

با توجه رو به انقراض بودن این گیاه، و تاثیر مخرب تیغزنی ریشه جهت استحصال صمغ بر روی زادآوری و کاهش عمر مفید آن در طبیعت پیشنهاد می‌شود جهت دستیابی به ترکیبات ثانویه خاص بجای تیغزنی و اسانس‌گیری از صمغ، از فرکشن‌های عرق اندام‌های رویشی استفاده گردد.

IrHC2019

منابع:

اصغری, غ. ۱۳۸۵. بیوتکنولوژی گیاهان دارویی و تولید داروهای گیاهی: جهاد دانشگاهی (دانشگاه اصفهان)، ۲۸۸ صفحه.

Kouyakhi, E.T., Naghavi, M. and Alayhs, M.J.C.o.N.C. 2008. Study of the essential oil variation of *Ferula gummosa* samples from Iran. 44(1): 124-126.

Qadir, S.A., Kwon, M.C., Han, J.G., Ha, J.H., Chung, H.S., Ahn, J., Lee, H.Y.J.J.o.b. and bioengineering. 2009. Effect of different extraction protocols on anticancer and antioxidant activities of Berberis koreana bark extracts. 107(3): 331-338.

Ramezani, M., Hosseinzadeh, H. and Mojtahedi, K.J.J.o.e. 2001. Effects of *Ferula gummosa* Boiss. fractions on morphine dependence in mice. **77**(1): 71-75.

Comparison of Chemical Composition of chloroform partition of floral water and essential oil of *Ferula gummosa* Boiss.

Masood ghodrati[1], Mahdi ayyari[2]* Maryam didevar[3]

[1,2 and 3] *Department of Horticultural Science, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran*

[*]*Corresponding Author: m.ayyari@modares.ac.ir*

Abstract

Ferula gummosa Boiss. From Apiaceae family is an Iranian medicinal and aromatic plant which has been used as an antiepileptic remedy in Iranian traditional medicine, distributed in north, northeast and central parts of Iran. It has also multiple industrial applications, especially in perfumery. It's increasing market demand and the high price of the oleo-gum cause the overharvesting and unfortunately reduced the plant's regeneration and caused the danger of extinction. in this study, the metabolites in essential oil and floral water of different organs of this plant were evaluated. The samples were collected from meragh, near Kashan from Isfahan province with 2100 meters altitude from sea level. Leaves, roots and flowering organs were collected and shade dried and then were hydro distilled by Clevenger for 4 h. The essential oil as a nonsoluble part of volatile oil over the water was separated and the floral water was gathered by boiling the same parts and collecting the cooled steam after removing the essential oil. The floral water was partitioned with chloroform and both samples were analyzed by GC-FID and GC-MS. The main components in the essential oils of ferula gummosa leaves were *β*-Pinene 15.0%, Elemole acetate 11.8% and Acorenone B 5.3% and flowering organ *β*-Pinene 20%, Elemole acetate 18.5% and alpha-terpinene 6%. Also, *β*-Pinene 41% Guaiol 10% and Bulnesol 10% were the main components in roots essential oil. The main components of chloroform partition of floral water of roots were Bulnesol 15.5%, Guaiol 8.5% and Intermedeol 3.5% while the main components in leaves floral water were Himachalol 5%, Carvacrol 5% and ol- α-copaen-11 4%. Also, Hedycaryol 6%, Intermedeol 4.5% and Elemole acetate 3.2% were the main components of flowers floral water chloroform fraction.

***Keywords*:** *Ferula gummosa*, GC-MS, secondary metabolite, chromatography

IrHC2019