شناسایی ترکیبات فنلی عصاره اتانولی گیاه زعفران خزری

زهرا کوشکی زمانی[۱]، فرنوش فتاحی[*۲]

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد مرتعداری، دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تربیت مدرس، تهران

[*۲] عضو هیئت علمی گروه مرتعداری، دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تربیت مدرس، تهران

*نویسنده مسئول: f.fattahi@modares.ac.ir

چکیده

ترکیبات فنلی رایج‌ترین و وسیع‌ترین گروه متابولیت‌های ثانویه در گیاهان هستند. در میان گونه‌های مختلف، برخی گیاهان دارویی دارای ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی می‌باشند از جمله این گیاهان می‌توان به زعفران خزری *Crocus caspius* Fisch C.A.May اشاره نمود این گیاه به عنوان یکی از گونه‌های انحصاری ایران، گیاهی یکساله و متعلق به تیره زنبق است که در دنیا پراکندگی محدودی داشته و در ایران فقط در مناطق شمالی گسترش دارد. هدف از این مطالعه، شناسایی ترکیبات فنلی موجود در عصاره اتانولی اندام هوایی (گل) گیاه زعفران خزری می‌باشد. عصاره اتانولی این گیاه به روش فراصوت استخراج و جهت شناسایی ترکیبات فنلی به دستگاه HPLC تزریق شد. نتایج این پژوهش نشان داد بالاترین میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی به ترتیب مربوط به والنیک اسید (۰/۴ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک) و روتین (۰/۹ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک) بود. بنابراین زعفران خزری به عنوان منبع غنی از ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی شناخته شد.

کلمات کلیدی: روتین، گل زعفران خزری، گیاهان دارویی، فراصوت، والنیک اسید

مقدمه

گیاهان حاوی متابولیت‌های ثانویه مانند برخی ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی هستند که در بخش‌های مختلف آن‌ها از قبیل برگ، میوه، بذر، ریشه و پوست گیاه یافت می‌شوند (Asadi, 2016). بسیاری از این ترکیبات فنلی دارای خواص ضدباکتری، ضدجهش، ضدسرطان، حفاظت کننده قلب، ضدالتهاب، ضدعفونت و کاهنده کلسترول می‌باشند (تاجیک و همکاران، ۱۳۹۶؛ Riso *et al*., 2005). بهینه‌سازی روش استخراج و حلال‌های مورد استفاده که باعث جداسازی نوع خاصی از ترکیبات شیمیایی می‌گردد یک عامل تعیین‌کننده و تأثیرگذار در نوع فعالیت عصاره‌های گیاهی محسوب می‌شود.

عصاره خام گیاهان حاوی طیف گسترده‌ای از مواد مختلف است و در بسیاری از روش‌های عصاره‌گیری از حلال‌هایی استفاده می‌شود که از نظر میزان قطبیت متفاوت هستند. بنابراین انتخاب حلال مناسب باید بر حسب قطبیت و تنوع ترکیبات شیمیایی مورد مطالعه و نیز غلظت ماده استخراج صورت گیرد (صبورا و همکاران، ۱۳۹۲). عصاره‌های گیاهی به‌دلیل دارا بودن ترکیبات ضدمیکروبی، ضداکسایشی و عوامل حذف‌کننده رادیکال آزاد، توانایی بالایی در به‌کارگیری به‌عنوان یک نگهدارنده طبیعی را دارا می‌باشند (Tajkarim *et al*., 2010).

در میان گیاهان دارویی مختلف، گونه‌های بومی به دلیل ترکیبات فیتوشیمیایی از قبیل ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی غنی، فواید بسیاری برای سلامتی انسان وحیوان دارند از جمله این گیاهان می‌توان به زعفران خزری *C.caspius* Fisch C.A.May اشاره نمود (Ebrahimzadeh *et al*., 2009). گونه *C.caspius* به عنوان یکی از گونه‌های بومی ایران، گیاهی چندساله و متعلق به تیره زنبق می‌باشد (توفیقی و همکاران، ۱۳۹۶). این گیاه در دنیا پراکندگی محدودی داشته و در ایران فقط در مناطق شمالی گسترش دارد. فصل گلدهی آن ماه‌های مهر و آبان است (توفیقی و همکاران، ۱۳۹۶). برگ‌ها چرمی، سبزتیره ، فیبر کم و عرض برگ بالغ ۱-۳ میلی‌متر، غلاف پایه نیمه حلقوی، خامه دارای ۳ لوب، ارتفاع گل ۹ سانتی‌متر، وسط گل به رنگ زردپررنگ و نرم، گلبرگ به رنگ بنفش یا صورتی مایل به سفید، بساک به رنگ زرد دیده

IrHC2019

می‌شود (Izadpanah *et al.*, 2014 ؛ Sanex, 2015). زعفران خزری یکی از گونه‌های نزدیک به زعفران *Crocus sativa* می‌باشد و انتظار می‌رود از لحاظ ترکیب و عملکرد، تشابهاتی با یکدیگر داشته باشند که مطالعات محدودی در خصوص ترکیبات دارویی این گیاه صورت گرفته است (توفیقی و همکاران، ۱۳۹۶). از آن جایی‌که مطالعات فیتوشیمیایی اندکی روی این گیاه صورت گرفته ، این تحقیق برای اولین بار با هدف ارزیابی ترکیبات فنلی عصاره اندام هوایی گیاه زعفران با حلال اتانول انجام شده است.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر در محدوده دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس واقع در شهرستان نور با طول جغرافیایی ۵۰ درجه و ۵۱ دقیقه شرقی و عرض جغرافیایی ۳۶ درجه و ۳۴ دقیقه شمالی با ارتفاع متوسط ۱۸ متر پایین‌تر از سطح دریا آزاد صورت گرفت. میانگین بارندگی سالیانه ۱۶۰۰ میلی‌متر، میانگین دمای هوا سالیانه ۱۶/۶۶ درجه سانتیگراد و دارای میانگین رطوبت نسبی سالیانه ۸۰ درصد می‌باشد.

گل‌های زعفران خزری در فصل پاییز از منطقه مورد مطالعه برداشت شدند و پس از خشک شدن در سایه و دمای اتاق، جهت عصاره‌گیری پودر شدند. ۱ گرم از پودر گیاه با حلال اتانول، طی ۳ مرحله و نسبت های مختلف اتانول / آب (اتانول ۱۰cc، اتانول/آب ۷:۳cc، اتانول/آب ۵:۵cc) توسط امواج فراصوت عصاره‌گیری شد و جهت جدا سازی عصاره از پودر گیاه به دستگاه سانترفیوژ منتقل شد. عصاره نهایی در دستگاه روتاری تغلیظ و جهت آنالیز برخی ترکیبات فنلی موجود در آن به دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) تزریق و مراحل عصاره گیری با ۳ تکرار انجام شد.

نتایج و بحث

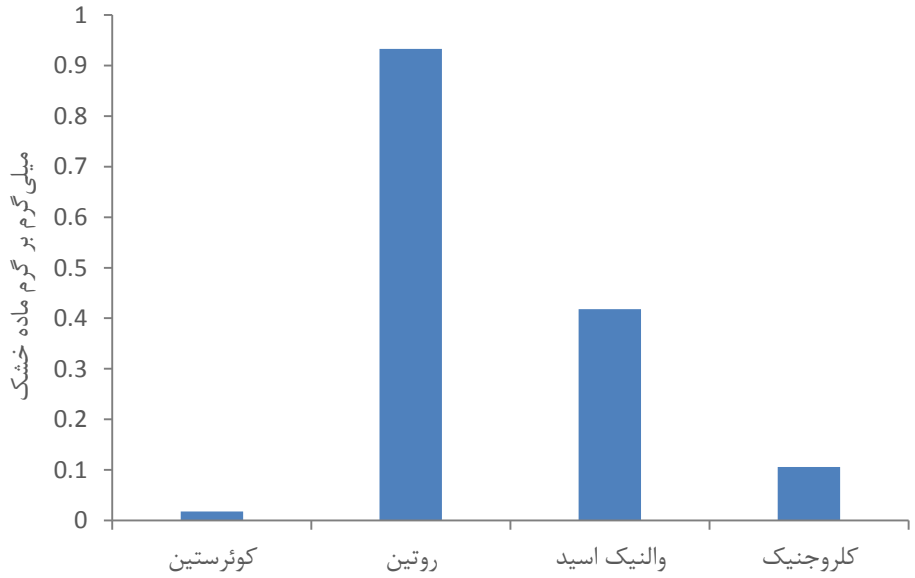
در مطالعه حاضر اندام هوایی زعفران خزری با حلال اتانول با روش فراصوت عصاره‌گیری شد. نتایج حاصل از آنالیز عصاره این گیاه به وسیله دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا و ۱۶ ترکیب استاندارد نشان داد که چهار نوع ترکیب فنلی و فلاونوئیدی شامل کلروجنیک[1]، والنیک اسید[2]، روتین[3] و کوئرستین[4]در عصاره گل های زعفران خزری وجود دارد (جدول ۱). از بین ۴ ترکیب شناسایی شده به ترتیب روتین (۰/۹ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک) و والنیک اسید (۰/۴ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک) بیشترین اجزاء عصاره را تشکیل دادند (شکل ۱). گل زعفران خزری حاوی مقادیر بالایی از فنل و فلاونوئید است که با مطالعه Khalili و همکاران (۲۰۱۶) مطابقت دارد. در تحقیق دیگری توفیقی و همکاران (۱۳۹۶)، ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی عصاره هیدروالکلی گیاه زعفران خزری را به روش خیساندن با حلال متانول ۸۰ درصد و آب مورد ارزیابی قراردادند. نتایج حاصل از آنالیز نشان داد که مقدار کل فنل این گونه بیشتر از ترکیبات فلاونوئیدی است. همچنین تاجیک و همکاران (۱۳۹۶) با تحقیق بر شناسایی محتوای فنلی موجود در عصاره متانولی زعفران، ترکیب گالیک اسید (۶/۴۳ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک) و روتین (۱/۳۳ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک) را به عنوان بیشترین ترکیبات فنلی و فلاونوئید این گیاه معرفی کردند. استفاده صحیح از گیاهان دارویی مستلزم اطلاعات دقیق علمی و شناخت ترکیبات شیمیایی است که باعث اثر درمانی در گیاه می‌گردد. در این تحقیق آزمایش‌ها وجود ترکیبات فلاونوئیدی و فنولیک را تایید می‌نمایند.

1- Colorogenic
2- Valnic acid
3- Rutin
4- Querctin

IrHC2019

جدول ۱- ترکیبات فنلی و فلانوئیدی موجود در عصاره اتانولی زعفران خزری

ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی	زمان بازداری (دقیقه)	غلظت میلی‌گرم برگرم ماده خشک			میانگین غلظت
		تکرار۱	تکرار ۲	تکرار ۳	
گالیک	۶/۱	–	–	–	–
۴- دی اُ بنزوئیک	۹/۳	–	–	–	–
کاتچین	۱۱/۳	–	–	–	–
کلروجنیک	۱۴/۸	۰/۲۳۱	۰/۰۴۴	۰/۰۴۴	۰/۱۰۶
والنیک اسید	۱۶/۶	۰/۵۲۸	۰/۴۰۳	۰/۳۲۵	۰/۴۱۸
۵- دی اُ بنزوئیک	۱۶/۸	–	–	–	–
سیرجنیک	۱۷	–	–	–	–
کوماریک	۱۷/۶	–	–	–	–
فرولیک اسید	۲۲/۶	–	–	–	–
چیکوریک اسید	۲۲/۸	–	–	–	–
روتین	۲۶/۲	۱/۰۰۵	۰/۸۳۱	۰/۹۶۵	۰/۹۳۳
رزمارنیک اسید	۲۷	–	–	–	–
سالسیلیک اسید	۲۸/۵۹	–	–	–	–
کوئرستین	۳۰/۶۲	۰/۰۲۰	۰/۰۱۸	۰/۰۱۸	۰/۰۱۸
کمپفرول	۳۴/۳۷	–	–	–	–
اپیجنیک	۳۸/۶	–	–	–	–



شکل۱- میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی عصاره اتانولی گل های زعفران خزری. هر ستون نشان دهنده میانگین ۳ تکرار می باشد.

IrHC2019

منابع

افشارمحمدیان، م.، کردی، ش. و مشهدی نژاد، ا. ۱۳۹۵. بررسی فعالیت ضد باکتریایی عصاره کلاله و گلبرگ گونه های مختلف زعفران (*Crocus* spp). نشریه پژوهش‌های سلولی و مولکولی (زیست شناسی ایران)، ۲۹(۳): ۲۶۵-۲۷۳.

تاجیک، س.، زرین کمر، ف. و نیکنام، و. ۱۳۹۶. ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی و تعیین محتوای فنولی اندامهای زعفران. زیست فناوری دانشگاه تربیت مدرس، ۸(۳): ۱۲۷-۱۳۸.

توفیقی، ز.، محمدی، ح.م، شکرزاده، م.، قهرمانی، م.ح.، نوری، س. و حبیبی، ع. ۱۳۹۶. مطالعه سمیت سلولی عصاره هیدروالکلی گیاه زعفران خزری بر رده سلول‌های سرطانی سینه. مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران ، ۲۷(۱۵۱): ۳۲-۴۰.

Asadi, M. 2016. Antioxidant and Antimicrobial Activities in The Different Extracts of Caspian Saffron, Crocus caspius Fisch CA Mey. ex Hohen. Caspian Journal of Environmental Sciences, 14(4): 331-338.

Ebrahimzadeh, M., Nabavi, S. and Nabavi, S. 2009. Essential Oil Composition and Antioxidant Activity of *Pterocarya fivaxinifolia*. Pakistan Journal of Biological Sciences, 12(13): 957-963.

Ernst, E. 2005. The Efficacy of Herbal Medicine–an Overview. Fundamental and Clinical pharmacology, 19(4): 405-409.

Izadpanah, F., Kalantari, S., Hassani, M. E., Naghavi, M. R. and Shokrpour, M. 2014. Variation in Saffron (Crocus sativus L.) Accessions and Crocus wild species by RAPD analysis. Plant Systematics and Evolution, 300(8): 1941-194.

Khalili, M., Fathi, H. and Ebrahimzadeh, M.A. 2016. Antioxidant activity of bulbs and aerial parts of *cassius spain* impact of extraction methods. Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences, 29(3): 773-777.

Riso, P., Visioli, F., Gardana, C., Grande, S., Brusamolino, A., Galvano, F. and Porrini, M. 2005. Effects of blood orange juice intake on antioxidant ioavailability and on different markers related to oxidative stress. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53(4): 941-947.

Tajkarimi, M.M., Ibrahim, S.A., Cliver, D.O. 2010. Antimicrobial Herb and spice Compounds in Food. Food control, 21(9): 1199-1218.

Identification of phenolic compounds of ethanolic extract of Caspian Saffron (*Crocus caspius* Fisch C.A.May)

Zahra Koshki Zamani[1], Farnoosh Fattahi[2]*

1 Masters student Rangeland management, Faculty of Natural Resources, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

2* Faculty Member of Rangeland management, Natural Resources Faculty, Tarbiat Modares University, Tehran

Corresponding Author: f.fattahi@modares.ac.ir

Abstract

Phenolic compounds are the most common and widespread group of secondary metabolites in plants. Among the various species, some medicinal plants contain phenolic compounds and flavonoids, such as *Crocus caspius* Fisch CAMay plant. It is one of the exclusive species of Iran, an annual plant belonging to Iridaceae family which has limited distribution in the world and distributed only in the northern regions of Iran. Therefore, the aim of this investigation was to identify the phenolic compounds in the ethanolic extract of the Caspian saffron. The ethanolic extract of this plant was extracted by ultrasound waves and injected in HPLC for detection of phenolic compounds. The results of this study showed that valnic acid (0.4 mg/g dry weight) and rutin (0.9 mg/g dry weight) were the most important phenolic compounds of the aerial part of Caspian saffron respectively. Therefore, the Caspian Saffron is known as a rich source of phenolic and flavonoids compounds.

Keywords: Crocus caspius, Medicinal plant, Rutin, Ultrasound, Valnic acid

IrHC2019