

بررسی اسانس گل راعی بومی ایران توده آزاد شهر در شرایط درون شیشه‌ای

منیژه عبدالله پور* 1، مجید عزیزی ارانی 2، سیامک کلانتری 3، یوسف علی سعادت 4

1 دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی و اصلاح گیاهان دارویی، گروه علوم باغبانی، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، پردیس کشاورزی و

منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج

2 دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

3 استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج

4 استادیار مرکز تحقیقات کشاورزی و منبع طبیعی فارس، شیراز

*نویسنده مسئول

چکیده

گل راعی (*Hypericum perforatum* L.) از مهمترین گیاهان دارویی است و دارای طیف وسیعی از متابولیت‌های ثانویه مانند نفتودیانترون‌ها، فلوروگلوکوسینول‌ها و اسانس‌ها می‌باشد. هدف از این تحقیق بررسی بازده و ترکیب اسانس گل راعی بومی ایران توده آزادشهر در شرایط درون شیشه‌ای است. اسانس شاخساره‌های حاصل از گیاهچه‌های استریل که در محیط کشت MS حاوی 0/1 میلی گرم در لیتر BA و 0/05 میلی گرم در لیتر IBA پرآوری شده بود بوسیله تقطیر با آب و دستگاه کلونجر بدست آمد و توسط دستگاه GC/MS آنالیز شد. در این مطالعه 35 ترکیب در اسانس شاخساره‌های درون شیشه‌ای گل راعی توده آزادشهر شناسایی شد و بازده اسانس این شاخساره‌ها 0/02 درصد وزنی/وزنی محاسبه شد که سسکوئی ترین‌های هیدروکربنه (51/72%) با جزء غالب گاما گورجونن (22/34%) بیشترین ترکیب اسانس را تشکیل می‌داد. نتایج این تحقیق نشان داد که اسانس درون شیشه‌ای گل راعی در مقایسه با گیاهان محیط طبیعی از لحاظ کمیت و کیفیت متفاوت است و بازده اسانس گیاهان درون شیشه‌ای نیز کمتر است. کلمات کلیدی: اسانس، سسکوئی ترین‌های هیدروکربنه، شاخساره‌های درون شیشه‌ای، گل راعی

مقدمه

جنس گل راعی بیش از 469 گونه در جهان دارد که 19 گونه‌ی آن تا کنون از ایران گزارش شده است (آزادی، 1378). گل راعی (*Hypericum perforatum*) مهمترین گونه تجاری این جنس است که بیشتر مورد مطالعه قرار گرفته و دارای طیف وسیعی از متابولیت‌های ثانویه است که از آن جمله می‌توان به نفتودیانترون‌ها، آسپیل فلوروگلوکوسینول‌ها، زانتون‌ها و فلاونوئیدها و اسانس‌ها اشاره نمود (Barnes et al., 2001) امروزه از گل راعی برای درمان افسردگی خفیف تا متوسط و همچنین اضطراب و بی خوابی استفاده می‌شود (Bombardelli and Morazzoni, 1995). دسته دیگر از ترکیبات فعال بیولوژیکی گل راعی اسانس‌ها هستند که مطالعات کمتری نسبت به ترکیبات فنلی بر روی آن‌ها انجام شده است. از مشخصه اسانس جنس *Hypericum* وجود ترکیبات مونوترپن، سسکوئی ترین و همچنین آلکان‌ها و آلدئیدهاست که ترکیبات اصلی بسیاری از آن‌ها را تشکیل می‌دهد (Mathis et al., 1964). درمورد بررسی ترکیبات فرار گل راعی در شرایط درون شیشه‌ای تحقیقات اندکی وجود دارد. Gudes و همکاران (2009) ترکیبات شیمیایی اسانس دو کولتیوار Common و توپاز را در گل راعی مورد بررسی قرار دادند و آن‌ها را با اسانس‌های تولید شده توسط شاخساره‌های درون شیشه‌ای مقایسه کردند در اسانسی که از گیاهان دو رقم بدست آمد سسکوئی ترین‌های هیدروکربنه گروه عمده ترکیبات بودند. همچنین سسکوئی ترین‌های هیدروکربنه گروه عمده ترکیب اسانس شاخساره‌های درون شیشه‌ای را نیز تشکیل می‌دادند و آلکان‌ها که حدود 9% از کل اسانس گیاهان کشت شده را تشکیل می‌داد گروه عمده اسانس درون شیشه‌ای بودند بویژه آن -نونان که بیشتر از 40%

از کل اسانس را تشکیل می‌داد. با وجود مطالعاتی که روی ترکیبات اسانس گل راعی انجام شده است اما تحقیقاتی که فاکتورهای موثر بر تولید و تجمع آن‌ها را تحت تاثیر قرار دهد کم است. همانطور که گفته شد روی تولید ترکیبات فرار بوسیله کشت‌های درون شیشه‌ای گونه‌های Hypericum مطالعات اندکی وجود دارد و از آنجاییکه تا کنون گزارشی روی تولید ترکیبات فرار بوسیله کشت درون شیشه‌ای گل راعی بومی ایران ارائه نشده است در این تحقیق عملکرد و اجزای اسانس شاخساره‌های درون شیشه‌ای گل راعی بومی ایران توده آزادشهر بدست آمد. استفاده از شاخساره‌ها جهت مقایسه تولید اسانس در گیاهان درون شیشه‌ای و طبیعی از نقطه نظر عملی مهم است چرا که در شرایط طبیعی، محیط این نوع کشت‌ها به سختی کنترل می‌شود و از طرف دیگر شاخساره‌های درون شیشه‌ای یا گیاهچه‌ها یک مدل آزمایشگاهی مناسب برای مطالعه متابولیسم ترپن‌ها هستند زیرا بیشترین شباهت و نزدیکی را به محیط طبیعی دارند (Gudes, 2009).

مواد و روش‌ها

این پژوهش بر روی گیاه خودروی گل راعی که بذر آن در مرداد ماه سال 90 از شهرستان آزادشهر جمع‌آوری شده بود انجام گرفت. برای استخراج اسانس گیاهان درون شیشه‌ای از شاخساره‌ها استفاده شد. جهت استقرار شاخساره‌ها گیاهچه‌های استریل حاصل از بذر به کار برده شد به این صورت که قسمت انتهایی دانهال به محیط کشت پرآوری 0/1 میلی گرم در لیتر BA و 0/05 میلی گرم در لیتر IBA منتقل شده و پس از تولید شاخه به مقدار کافی آن‌ها را از درون شیشه خارج کرده و پس از توزین نمونه‌ها به روش تقطیر با آب و دستگاه کلونجر به مدت چهار ساعت اسانس‌گیری شدند. اسانس گیاه مورد نظر پس از آماده سازی، به دستگاه گاز کروماتوگرافی جرمی (GC/MS) تزریق گردید تا نوع ترکیبات آن مشخص گردد.

نتیجه و بحث

بازده اسانس شاخساره‌های درون شیشه‌ای 0/02 درصد وزنی/وزنی محاسبه شد. در این مطالعه 35 ترکیب از آنالیز اسانس شاخساره‌های درون شیشه‌ای گل راعی بومی ایران توده آزادشهر شناسایی شد که در مجموع 97/01 درصد از کل اجزای اسانس را شامل می‌شد. در این میان سسکوئی ترپن‌های هیدروکربنه (51/72%) بیشترین جزء اسانس را تشکیل می‌دادند که بیشترین مقدار آن‌ها مربوط به گاما-گورجونن (22/34%) بود. پس از آن ترکیبات آلکان‌ها (24/22%) با اجزای غالب ان- آن دکان (12/25%) و ان-نونان (7/19%)، هیدروکربن‌های الکلی (8/35%) با جزء غالب ان-دودکانول (6/93%) به عنوان مهمترین ترکیبات اسانس این شاخساره‌ها شناسایی شدند (جدول 1). شرایط متفاوت رشد و نارس بودن شاخساره‌های درون شیشه‌ای در مقایسه با گیاهان طبیعی ممکن است علت پایین بودن محتوی اسانس باشد (Gudes, 2009). در تحقیقی که توسط Gudes و همکاران (2009, 2003) بوسیله مواد گیاهی درون شیشه‌ای و طبیعی در گونه‌های *Hypericum perforatum* L., *H. androsaemum* و *Hypericum undulatum* Schousboe ex Will انجام دادند. نتایج نشان داد که سسکوئی ترپن‌های هیدروکربنه بیشترین ترکیبات اسانس شاخساره‌های *H. androsaemum* را تشکیل می‌دهد که بیشتر از 80% کل اسانس را شامل می‌شدند و مقدار آن‌ها بیشتر از همان گروه در اسانس‌های برداشت شده در محیط طبیعی بود. نوع سسکوئی ترپن‌های درون شیشه‌ای شامل گاما-مورولن (Gama-murolene) (15/3%) و E-گاما-بیسابولن (E-Gama-bisabolene) (10/8%) بود که مقدار آن‌ها در اسانس گیاهان طبیعی کمتر از 5% بدست آمد و سسکوئی ترپن‌های غالب اسانس برگ‌ها و ساقه‌ها شامل (E) بتاکاریوفیلن، بتا گورجونن و گاما المن بود. بنابراین اسانس‌های درون شیشه‌ای *H. androsaemum* نیز از لحاظ

کمیت و کیفیت با هم تفاوت دارند. با توجه به موارد فوق می‌توان نتیجه گرفت که فاکتورهای مانند ارگان گیاه و شرایط رشد (محیط طبیعی یا درون شیشه‌ای) در ترکیب اسانس گل راعی نقش دارد.

جدول 1- ترکیبات تشکیل دهنده اسانس شاخساره‌های درون شیشه‌ای گل راعی بومی ایران توده آزادشهر.

شماره ترکیبات	نوع ترکیب	میزان (درصد)	شاخص بازدارندگی
1	2-Methyl-octane	2/721	857
2	n-Nonane	7/194	898
3	Alpha-Pinene	0/184	932
4	3-Methyl-nonane	0/724	966
5	Beta-Pinene	0/549	975
6	n-Decane	0/101	998
7	2-Methyl-decane	1/235	1060
8	n-Undecane	12/249	1098
9	n-Nonanol	0/729	1167
10	n-Decanal	0/868	1203
11	n-Decanol	0/691	1269
12	Methyl decanoate	0/189	1322
13	Alpha-Longipinene	0/332	1347
14	Alpha -Ylangene	0/546	1369
15	Alpha -Copaene	0/165	1373
16	Beta -Elemene	3/926	1389
17	Dodecanal	1/997	1406
18	(Z)-Caryophyllene	2/117	1409
19	(E)-Caryophyllene	1/759	1416
20	(E)-E-Beta -Farnesene	1/904	1415
21	Alpha -Acoradiene	1/098	1464
22	n-Dodecanol	6/931	1471
23	Gamma -Gurjunene	22/342	1481

پوستر	شهریور 1392 - دانشگاه بوعلی سینا	هشتمین کنگره علوم باغبانی ایران
1483	6/322	Gamma -Himachalene 24
1492	6/805	Alpha -Selinene 25
1497	0/866	Beta -Himachalene 26
1506	1/505	(E,E)- Alpha -Farnesene 27
1521	1/815	Delta -Cadinene 28
1540	0/219	Alpha -Calacorene 29
1561	0/083	(E)-Nerolidol 30
1635	1/632	Gamma -Eudesmol 31
1643	1/439	Beta -Acorenol 32
1651	1/745	Alpha -Cadinol 33
1673	3/244	n-Tetradecanol 34
1872	0/787	n-Hexadecanol 35
	0/733	Monoterpenes
	51/721	sesquiterpene hydrocarbons
	8/143	Oxygenated sesquiterpenes
	24/224	Alkans
	8/351	Alcohols
	3/084	Others

منابع

- آزادی، ر. 1378. فلور ایران. تیره گل راعی. شماره 27، سازمان جنگل‌ها و مراتع کشور، تهران.
- Barnes, J., A. Anderson, and D. Phillipson. 2001. St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.): A review of its chemistry, pharmacology and clinical properties. *Journal of pharmacy and pharmacology* 53: 583-600.
- Bombardelli, E. and P. Morazzoni. 1995. *Hypericum perforatum*. *Fitoterapia*. 66: 43-68.
- Gudes, A.P. 2009. Essential oil from plants and invitro shoot cultures of *Hypericum androsaemum* L., *Hypericum perforatum* L. and *Hypericum undulatum* Schousboeex Willd. PhD Thesis, Minho University.

Gudes, A.P., L.R. Amorim, A.M.S. Vicente, G. Ramos, and M. Fernandes- Ferreira. 2003. Essential oil from plants and invitro shoots of *Hypericum androsaemum* L. *Journal of Agricultural Food Phytochemical Analysis* 15: 146-151.

Mathis, C., and G. Ourisson. 1964. Étudechimio-taxonomique du genre *Hypericum*: II. Identification de constituants de diverseshuilesessentiellesd *Hypericum*. *Phytochemistry* 3: 115-131.

Study of essential oil from invitro shoot culture of Iranian *Hypericum perforatum* L. (population of Azadshahr)

M. Abdolahpour 1*, M. Azizi Arani 2, S. Kalantari 1, Y. Saedati

1- Dept. of Horticultural Sciences, Tehran University, Alborz- Iran. 2- Dept. of Horticultural Sciences, Ferdousi University, Mashhad- Iran.

*Corresponding author

Abstract

Hypericum perforatum L. (St. John's wort) is an important medicinal plant that contained a wide range of secondary metabolites such as naphthodianthrones, phloroglucinols and essential oil. The aim of this work was to study essential oil yield and components of Iranian *Hypericum perforatum* L. (population Azadshahr) in in vitro condition. essential oil of shoot cultures were established from seedlings grown from seeds germinated aseptically on MS medium devoid of growth regulators wick was proliferation on MS medium supplemented with 0,1 mg per liter of BA and 0,05 mg per liter of IBA were isolated by hydrodistillation in a Clevenger and analyzed by Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS). In this study, 35 compounds were identified in essential oil from in vitro shoot of *H. perforatum*. The essential oil yield of in vitro culture obtained 0,02 % (wight/wight) and The highest contents of sesquiterpene hydrocarbons (72/51%) were with the most gamma- Gurjunen (22/34%) recorded in the essential oil from shoots grown on Mg basal medium. The results showed that term of quality and quantity of the essential oil of *Hypericum perforatum* at invitro codition different in comparison to natural plant. The yields are also lower in vitro plants.

Keywords: essential oil, *Hypericum perforatum*, in vitro shoots, sesquiterpene hydrocarbons