

## شناسایی عصاره هیدروالکلی برگ گیاه آلاله برفزی (*Ficaria kochii* (Ledeb.) Iranshahr and Rech.f.) در مرحله فنولوژیکی میوه‌دهی

خدیجه لطفی زاده<sup>۱</sup>، فرنوش فتاحی<sup>۲\*</sup>، صمد نژاد ابراهیمی<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> دانشجوی کارشناسی ارشد، مدیریت مرتع، گروه علوم و مهندسی مرتعداری، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی نور، دانشگاه تربیت مدرس

<sup>۲</sup> استادیار رشته گیاهان دارویی، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس

<sup>۳</sup> استادیار پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی، دانشگاه شهید بهشتی تهران، ایران

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

### چکیده

گیاه آلاله برفزی (*Ficaria kochii* (Ledeb.) Iranshahr and Rech.f.) متعلق به خانواده آلاله (Ranunculaceae) و یکی از گونه‌های بومی ایران است. در طب سنتی ایران از برگ‌های این گیاه در درمان بواسیر استفاده می‌کردند. در این مطالعه ترکیبات فنولی و فلاونویدی عصاره هیدروالکلی برگ گیاه آلاله برفزی در مرحله فنولوژیکی میوه دهی مورد بررسی قرار گرفت. عصاره هیدروالکلی برگ این گیاه به روش فراصوت استخراج و جهت شناسایی ترکیبات فنولی به دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) تزریق شد. طبق نتایج این تحقیق ترکیب فلاونویدی کاتچین شناسایی شد. میزان کاتچین و فلاونوید کل این به ترتیب (۱۰۲±۰/۰۱) و (۳۱۸±۰/۱۶) میلی‌گرم بر گرم وزن خشک ماده بود. نتایج آنالیزها وجود ترکیبات فلاونویدی برگ این گیاه را تأیید کرد. لازم است برای شناخت بهتر ترکیبات مطالعات بیشتری صورت گیرد.

**واژه‌های کلیدی:** آلاله برفزی، دستگاه کروماتوگرافی مایع، عصاره اتانولی، فراصوت

### مقدمه

گیاهان دارویی اخیراً مورد توجه بسیار زیادی قرار گرفته‌اند و استفاده از آن‌ها در درمان بیماری‌ها معمول شده است. این موضوع با شواهد علمی معتبری پشتیبانی می‌شود (Azwanida, 2015). ترکیبات فنولی گیاهان متابولیت‌های ثانویه‌ای هستند که با حضور یک حلقه آروماتیک با گروه‌های هیدروکسیل آزاد یا کربوهیدرات درگیر می‌شوند. این مولکول‌ها در همه بخش‌های گیاهان وجود دارند و در بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیکی مثل رشد سلول، شکل‌گیری ریشه، جوانه‌زنی دانه و رسیدن میوه نقش دارند. علاوه بر این، پلی‌فنول‌ها فعالیت‌های مختلف بیولوژیکی از جمله ضدقارچ، ضدباکتری، ضدویروس، ضدالتهاب، ضدآلرژی، گشادکننده عروق و محافظ قلب دارند. با این حال عواملی نظیر نوع اندام، مرحله رشدی، دما، زمان، نوع حلال استخراج (از طریق وابستگی‌های مختلف ترکیبات به قطبیت مولکول حلال) و فرآیندهای استخراج ترکیبات فنولی (مانند روش فراصوت که باعث افزایش عملکرد عصاره می‌شود) نقش مهمی در فعالیت‌های عصاره و ترکیبات مستخرج دارند (Falleh et al., 2012; Azwanida, 2015). خانواده Ranunculaceae در حدود ۱۵۰۰ گونه دارد. جنس *Ranunculus ficaria* برای اولین بار در سال ۱۸۶۷ در ایالات متحده ثبت شد (Neag et al., 2018). طبق گزارش فلور ایران فقط یک گونه از جنس *ficaria* در ایران وجود دارد. این گونه آلاله برفزی (*Ficaria kochii* (Ledeb.) Iranshahr and Rech.f.) نام دارد و عمدتاً در ارتفاعات کوه‌های شمال ایران، در نزدیک مناطق ذوب برف توزیع می‌شود. آلاله برفزی گیاهی چند ساله، دارای ریشه‌هایی با غدد کوچک، برگ‌های ضخیم قلبی شکل، گلبرگ‌های زرد ۹-۱۱ تایی با فندقه‌های مخروطی شکل هست (توکلی و همکاران، ۲۰۱۲؛ مظفریان، ۱۳۹۲). در طب سنتی از برگ‌های این گیاه در درمان بواسیر استفاده می‌کردند. همچنین در شمال ایران به عنوان غذا به مصرف می‌رسد. در خصوص بررسی ترکیبات بخش‌های مختلف گیاه هندوانه ابوجهل (ساقه، برگ، میوه و بذر) در دو مرحله رشدی گلدهی و بذردهی نتایج نشان داد که نوع اندام و مرحله

فنولوژیکی تأثیر قابل توجهی بر میزان فنول کل و فلاونوئید داشت (صابری و همکاران، ۱۳۹۵). در تحقیقی میزان کاتچین برگ گیاه چای (*Camellia sinensis*) در مراحل مختلف رشد مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد در گیاه چای، کاتچین به عنوان ترکیب اصلی پلی فنول‌های موجود در آن بود و مراحل مختلف رشد تأثیر معنی‌داری بر میزان کاتچین داشتند (Zhang et al, 2016). همچنین در مطالعه ای اثر زمان، تأثیر حلال اتانول، غلظت و دما بر استخراج ترکیبات فنولی برگ زیتون مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این مطالعه تأثیر مطلوب حلال اتانول را در استخراج ترکیبات فنولی تأیید کرد (Elboughdir, 2018). همچنین در تحقیقی برخی از ترکیبات فیتوشیمیایی اندام‌های (برگ و میوه) سه گونه سلمه تره (*Chenopodium*) در منطقه سیستان مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که اندام برگ حاوی بیشترین میزان فنول و فلاونوئید کل بود (دلارام و همکاران، ۱۳۹۸). با این حال به دلیل بومی بودن گیاه آلاله برف‌زی و این که تاکنون گزارشی از ترکیبات فنولی این گیاه صورت نگرفته است. لذا این مطالعه با هدف بررسی ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی برگ آن در مرحله فنولوژیکی میوه‌دهی انجام شد (شکل ۱).



شکل ۱- گیاه آلاله برف‌زی (*Ficaria kochii* (Ledebr.)).

#### مواد و روش‌ها

##### معرفی منطقه مورد مطالعه

مواد گیاهی مورد نیاز این مطالعه در ارتفاعات شهرستان خلخال استان اردبیل جمع‌آوری گردید. این منطقه دارای مختصات با طول جغرافیایی ۴۸ درجه و ۳۶ دقیقه شرقی، عرض جغرافیایی ۳۷ درجه و ۳۴ دقیقه شمالی، ارتفاع متوسط ۲۰۴۲ متر از سطح دریای آزاد و همچنین میانگین بارندگی سالیانه نیز ۳۵۰ میلی‌متر می‌باشد.

##### جمع‌آوری نمونه

برگ‌های گیاه آلاله برف‌زی در مرحله فنولوژیکی میوه‌دهی در اوایل اردیبهشت ماه در فصل بهار از منطقه مورد مطالعه برداشت شدند. نمونه‌های گیاهی به مدت یک هفته در دمای اتاق در سایه خشک و با آسیاب برقی پودر شدند.

##### روش عصاره‌گیری

یک گرم پودر مواد گیاهی (برگ) را با حلال آلی اتانول طی سه مرحله (حلال خالص ۱۰۰cc، آب/حلال ۷:۳cc، آب/حلال cc ۵:۵) به مدت ۳۰ دقیقه توسط امواج فرا صوت با دستگاه سونیک عصاره‌گیری کرده و جهت جدا سازی عصاره، از پودر گیاه به دستگاه سانتریفیوژ منتقل شد. عصاره نهایی توسط دستگاه روتاری تغلیظ شد. عصاره بدست آمده (سه تکرار) را تا زمان تزریق به دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) جهت آنالیز ترکیبات فنولی موجود آن در یخچال ۴-°C نگهداری شد.

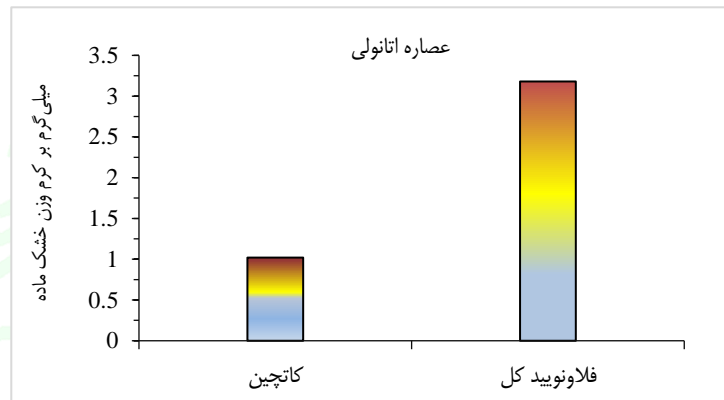
## نتایج و بحث

در این مطالعه عصاره مورد نظر با ۱۷ ترکیب استاندارد ترکیبات فنولی دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا شناسایی شد (جدول ۱). عصاره هیدروالکلی برگ گیاه آلاله برفزی در مرحله فنولوژیکی میوه‌دهی علاوه بر ترکیب کاتچین حاوی میزان قابل توجهی فلاونوئید کل بود. نتایج به شرح زیر در شکل ۲ آمده است.

جدول ۱- نتایج میانگین مقدار ترکیبات فنولی موجود در عصاره هیدرواتانولی برگ گیاه آلاله برفزی در مرحله فنولوژیکی میوه‌دهی

ترکیبات فنولی	برگ (میلی گرم بر گرم ماده خشک)
کاتچین	(۱/۰۲±۰/۰۱)
کامپفول	—
رزمارینیک	—
کلروجنیک اسید	—
وانیلیک اسید	—
کافئیک اسید	—
۲.۵dhb	—
سیرجنیک اسید	—
کوماریک اسید	—
فرولیک اسید	—
سینامیک اسید	—
شیکوریک اسید	—
سالسیلیک اسید	—
اپیجنین	—
کوئرستین	—
روتین	—
گالیک اسید	—
۳.۴dhb	—
فلاونوئید کل	(۳/۱۸±۰/۱۶)

ترکیبات شناسایی شده به صورت انحراف معیار  $\pm$  میانگین می‌باشند.



شکل ۲\_ میزان ترکیبات فنولی و فلاونویید کل عصاره هیدروالکلی برگ‌های آلاله برف زی در مرحله فنولوژیکی میوه‌دهی. هر ستون نشان‌دهنده میانگین ۳ تکرار می‌باشد.

گیاه آلاله برف‌زی از گونه‌های بومی ایران می‌باشد و برای اولین بار عصاره برگ مرحله فنولوژیکی میوه‌دهی آن، مورد بررسی قرار گرفته است. نتایج حاصل از بررسی عصاره با دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا وجود ترکیب کاتچین و میزان قابل توجهی از فلاونویید کل را تأیید می‌کند. میزان ترکیب کاتچین و فلاونویید کل به ترتیب  $(1.0 \pm 0.1)$  و  $(3.18 \pm 0.16)$  میلی گرم بر گرم وزن خشک ماده بود. مطابق تحقیق شکوه صارمی و همکاران (۱۳۹۵) که اثر چندین روش استخراج (ماسراسیون، اولتراسوند و سیال فوق بحرانی) بر ترکیبات فنولی عصاره هیدروالکلی برگ گیاه اناریجه *Pimpinella affinis* مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که روش استخراج اولتراسوند بیشترین میزان ترکیبات فنولی را داشت. همچنین در مطالعه دیگر ترکیبات فنولی و فلاونوییدی برگ دو نوع *E. angustifolia* با استفاده از حلال‌های مختلف (اتانول و متانول) مورد بررسی قرار گرفت. طبق نتایج به دست آمده تأثیر حلال اتانول در استخراج بالاترین میزان ترکیبات فنولی اندام برگ هر دو نوع *E. angustifolia* با استفاده از حلال اتانول تأیید شد (et al., 2013 Saboonchian). در مجموع، برگ گیاه آلاله برف‌زی در مرحله فنولوژیکی میوه‌دهی از میزان مناسبی از فلاونویید کل برخوردار بود. بنابراین شاید بتوان از آن به عنوان منبع مناسبی جهت استحصال ترکیبات دارویی استفاده نمود. به طور کلی از این گونه جهت انجام مطالعات بیشتر به منظور مصارف دارویی پیشنهاد می‌گردد.

## منابع

- صابری، م.، نیک نهداد، ح.، حشمتی، غ.، بارانی، ح. و شهریاری، ح. ۱۳۹۵. بررسی میزان تغییرات برخی مواد مؤثره عصاره اندام‌های گیاه هندوانه ابوجهل *Citrullus colocynthis* L. Schrab در دو رویشگاه استان سیستان و بلوچستان. مجله حفاظت زیست بوم گیاهان، ۵(۱۱): ۶۳-۴۹.
- دلارام، ج.، اسمعیل زاده بهابادی، ص. و ایجباری، ح. ۱۳۹۸. بررسی برخی از ترکیبات فیتوشیمیایی و فعالیت پاداکسیدانی اندام‌های مختلف سه‌گونه سلمه تره (*Chenopodium*) در منطقه سیستان. مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست شناسی ایران)، ۳(۳)، ۵۳۶-۵۴۶.
- شکوه صارمی، ا.، حبیبی نجفی، م.، حداد خداپرست، م. و بحرینی، م. ۱۳۹۵. اثر روش‌های استخراج بر میزان ترکیبات فنولیک و خصوصیات ضد میکروبی عصاره برگ گیاه اناریجه (*Pimpinella affinis*). نشریه پژوهش‌های علوم و صنایع غذایی ایران، ۱۴(۱): ۵۹-۶۸.
- Azwanida, N. N. 2015. A review on the extraction methods use in medicinal plants, principle, strength and limitation. *Med Aromat Plants*, 4(196): 2167-0412.

- Elboughdir, N. 2018. Effect of time, solvent-solid ratio, ethanol concentration and temperature on extraction yield of phenolic compounds from olive leaves. Eng. Technol. Appl. Sci. Res, 8(2): 2805-2808.
- Falleh, H., Ksouri, R., Lucchessi, M. E., Abdelly, C. and Magné, C. 2012. Ultrasound-assisted extraction: Effect of extraction time and solvent power on the levels of polyphenols and antioxidant activity of *Mesembryanthemum edule* L. Aizoaceae shoots. Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 11(2), 243-249.
- Neag, T., Olah, N.K., Hanganu, D., Benedec, D., Pripon, F.F., Ardelean, A. and Toma, C.C. 2018. The Anemonin Content of Four Different *Ranunculus* Species. Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences, 31(5 (Supplementary)): 2027-2032.
- Saboanchian, F., Jamei, R. and Sarghein, S.H. (2014). Phenolic and flavonoid content of *Elaeagnus angustifolia* L. (leaf and flower). Avicenna journal of phytomedicine, 4(4): 231.
- Tavakoli, R., Mohadjerani, M., Hosseinzadeh, R., Tajbakhsh, M. and Naqinezhad, A. 2012. Essential-Oil and Fatty-Acid Composition, And Antioxidant Activity of Extracts of *Ficaria Kochii*. Chemistry and Biodiversity, 9(12): 2732-2741.
- Zhang, L. Q., Wei, K., Cheng, H., Wang, L. Y. and Zhang, C.C. 2016. Accumulation of catechins and expression of catechin synthetic genes in *Camellia sinensis* at different developmental stages. Botanical studies, 57(1): 1-8.

## Identify compounds of hydroalcoholic extract of leave (*Ficaria kochii* (Ledeb.) Iranshahr and Rech.f) plant in the phenological stage of fruiting

Khadijeh Lotfizadeh<sup>1</sup>, Farnoosh Fattahi<sup>\*2</sup>, Samadnejad Ebrahimi<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Masters student Rangeland management, Faculty of Natural Resources, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

<sup>2</sup>Faculty Member of Rangeland management, Natural Resources Faculty, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

<sup>3</sup>Faculty Member of Institute plants and Basic drug materials, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran

\*Corresponding Author: [f.fattahi@modares.ac.ir](mailto:f.fattahi@modares.ac.ir)

### Abstract

The Plant (*Ficaria Kochii* (Ledeb.) Iranshahr and Rech.F.) Belongs to The Family (Ranunculaceae) and is One of The Native Species of Iran. In Traditional Iranian Medicine, The Leaves of This Plant Were Used To Treat Hemorrhoids. in This Study, Phenolic and Flavonoid Compounds of Hydroalcoholic Extract of Leaves *Ficaria Kochii* Were Studied in The Phenological Stage of Fruiting. The Hydroalcoholic Extract of The Leaves of This Plant was Extracted by Ultrasound and Injected into High Performance Liquid Chromatography (HPLC) To Identify Phenolic Compounds. According To The Results Of This Study, The Flavonoid Composition Of Catechin Was Identified. The amount of catechins and Total flavonoids in Leaves Extract of *Ficaria kochii* plant in the phenological stage of fruiting, respectively was (1.02±0.01) and (3.18±0.16) mg dry weight(mg/g). The Results of The Analyzes Confirmed The Presence of Flavonoid Compounds in The Leaves of This Plant. Further studies are needed to better understand the compounds.

**Keywords:** Ethanolic Extract, *Ficaria kochii*, HPLC, Ultrasound