

مقایسه میزان کاتچین در عصاره اتانولی و اتیل استات اندام زمینی گیاه آلاله برفزی (*Ficaria* *kochii* (Ledeb.) Iranshahr and Rech.f.) در مرحله فنولوژیکی رشد رویشی

خدیدجه لطفی زاده^۱، فرنوش فتاحی^{۲*}، صمد نژاد ابراهیمی^۳

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

^۲ استادیار رشته گیاهان دارویی، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس

^۳ استادیار پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی، دانشگاه شهید بهشتی تهران، ایران

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

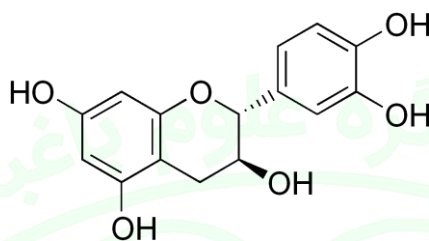
چکیده

شناخت خواص درمانی گیاهان دارویی و همچنین مضرات درمان‌های نوین منجر به تشویق مردم به استفاده از گیاهان دارویی شده است. گیاهان دارویی دارای ترکیبات مختلفی بوده که این ترکیبات می‌توانند در صنایع گوناگونی مورد استفاده قرار گیرند. بسیاری از داروهای گیاهی از ترکیبات موجود در گیاهان دارویی حاصل شده‌اند. از جمله این ترکیبات می‌توان به فلاونوئیدهایی چون کاتچین اشاره کرد. در این مطالعه با دو حلال میزان ترکیب کاتچین اندام زمینی گیاه آلاله برفزی در مرحله فنولوژیکی رشد رویشی مورد بررسی قرار گرفت. عصاره گیاه به روش فراصوت استخراج و جهت شناسایی ترکیبات به دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا تزریق شد. طبق نتایج این تحقیق ترکیب فلاونوئیدی کاتچین در عصاره اتانولی نسبت به عصاره اتیل استات بالاتر بود. بررسی و شناسایی ترکیبات گیاه آلاله برفزی در تحقیقاتی بیشتر می‌تواند اطلاعات دقیق تری نسبت به شناخت و خواص آن در اختیار قرار دهد.

واژه‌های کلیدی: آلاله برفزی، اندام، عصاره، مرحله فنولوژیکی

مقدمه

امروزه به دلیل سمیت و سرطان‌زایی ترکیبات مصنوعی، از داروهای گیاهی استفاده می‌شود. به گفته کارشناسان تغذیه، وجود میوه و سبزیجات در سید غذایی، به دلیل وجود ترکیبات فنولی موجب درمان و پیشگیری از بیماری‌های مزمن (مانند سرطان) می‌شود (FazeliNasab and Mirzaei, 2018). ترکیبات گیاهان تحت تأثیر عواملی مانند عوامل محیطی، نوع اندام، مرحله رشدی و نوع حلال استخراج نوسان دارند (Azwanida, 2015; Falleh et al, 2012). ترکیبات فنولی متابولیت‌های ثانویه گیاهی هستند. ساختار شیمیایی آن‌ها بر اساس حداقل یک حلقه معطر به یک یا چند گروه هیدروکسیل متصل شده است (Kulbat, 2016). فلاونوئیدها و دیگر ترکیبات فنولی گیاه مانند اسیدهای فنولی، استیلین، تانن‌ها، لیگنان‌ها و لیگنین‌ها معمولاً در برگ‌ها و بخش‌های چوبی مانند ریشه، ساقه و شاخه وجود دارند (فاضلی نصب و میرزایی، ۱۳۹۵). فلاونوئیدها ترکیبات بسیار فعال زیستی هستند که در گیاهان خوراکی و غیرخوراکی یافت می‌شوند. آن‌ها غالباً با متانول، اتانول، استون، آب یا مخلوط این حلال‌ها با استفاده از حرارت داده شده استخراج می‌شود (Khoddami et al., 2013). کاتچین فلاونوئیدی است که یک مکمل گیاهی، یک پلی فنول قوی، متابولیت ثانویه و محلول در آب است. این ترکیب یکی از مواد مهم در برگ سبز چای محسوب می‌شود. در برگ چای بیشتر به صورت اپی گالوکاتچین و اپی گالوکاتچین گالات وجود دارد. این ترکیب دارای ساختمان فلاونول است و فلاونوئید نامیده شده است (سیف زاده و خانی پور، ۱۳۹۲).



شکل ۱- ساختار ترکیب کاتچین

طبق گزارش فلور ایران، فقط یک گونه *Ficaria* در ایران وجود دارد، این گونه آلاله برفزی با نام علمی *Ficaria kochii* (Ledeb.) Iranshahr and Rech.f است. آلاله برفزی گیاهی چندساله، دارای ریشه‌هایی با غدد کوچک، برگ‌های ضخیم قلبی شکل و گلبرگ‌های ۹-۱۱ تایی، زرد رنگ با فندقه‌های مخروطی شکل است (مظفریان، ۱۳۹۱؛ Tavakoli et al., 2012). اندام هوایی گیاه آلاله برفزی (*F. kochii*) به عنوان سبزی در شمال ایران استفاده می‌شود (Hadaruga, 2012; Tavakoli et al., 2012). در تحقیقی انجام شده بر ترکیبات اسانس و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاه آلاله برفزی گزارش شد که اسانس آن حاوی ۶۱ ترکیب می‌باشد، که ۸۶/۰۱٪ کل ترکیبات اسانس را تشکیل می‌دهند. ترکیبات فیتول^۱ (۱۰٪/۴۹)، فarnesol (۷٪/۷۲)، متیل‌لینولیت^۲ (۵٪/۵۷) و آلفافارنسن^۳ (۴٪/۹۶) اجزای اصلی اسانس را تشکیل می‌دادند.

همچنین فعالیت آنتی‌اکسیدانی اندام هوایی این گیاه با حلال‌های مختلف ارزیابی شد. نتایج مطالعه حاضر حاکی از آن است که اندام هوایی *F. kochii* می‌تواند به عنوان مکمل غذایی طبیعی و بی‌خطر به جای مکمل‌های مصنوعی استفاده شود (Tavakoli et al., 2012). در مطالعه‌ای ترکیبات فنولی ریشه شیرین‌بیان با استفاده از روش مایکروویو و سوکسله شامل حلال (اتانول ۸۰٪، متانول ۸۰٪ و آب) استخراج شد. نتایج نشان داد که شرایط استخراج اثر معنی‌داری بر میزان ترکیبات فنولی داشت. در میزان استخراج ترکیبات فنولی، حلال اتانول ۸۰٪ به عنوان مؤثرترین حلال استخراج بود. در مطالعه‌ای محتوای متابولیت‌های ثانویه اندام‌های هوایی و زیرزمینی گیاه دارویی مامیران (*Chelidonium majus* L.) در مراحل مختلف فنولوژیکی بررسی شد. طبق نتایج به دست آمده از این بررسی ریشه مامیران در مراحل مختلف فنولوژیکی از میزان فنول کل بیشتری در مقایسه با اندام‌های هوایی در مراحل مشابه برخوردار بود. همچنین بیشترین میزان فنول کل ریشه به ترتیب به مرحله رویشی و گلدهی اختصاص داشت. در مجموع ریشه گیاه مامیران در مرحله فنولوژیکی رشد رویشی از مواد مؤثره بیشتری برخوردار بود (جرجانی و همکاران، ۱۳۹۷). با این حال گیاه آلاله برفزی بومی و اندمیک ایران است و تاکنون مطالعات اندکی درباره شناسایی ترکیبات آن صورت گرفته است. در این مطالعه میزان ترکیب کاتچین در مرحله رویشی آن با دو حلال به روش فراصوت انجام شد.

مواد و روش‌ها

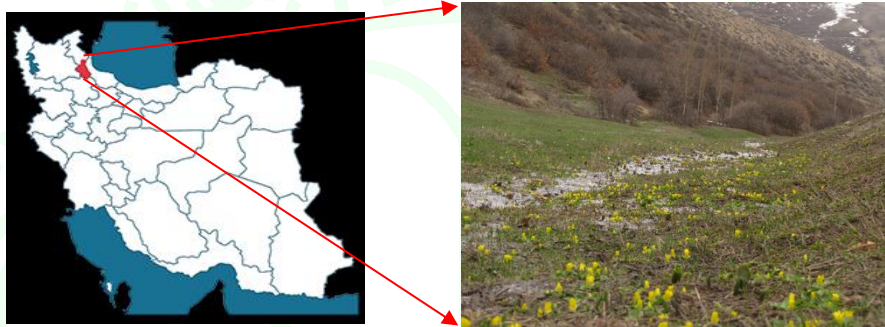
معرفی منطقه مورد مطالعه

با شروع فصل بهار و همزمان با آب شدن برف مناطق مرتفع و سردسیر روستای ماجارا، شهرستان خلخال، استان اردبیل گیاه آلاله برفزی شروع به رویدن می‌کند. مواد گیاهی مورد نیاز این مطالعه در مرحله رشد رویشی جمع‌آوری گردید. ارتفاع متوسط این منطقه ۲۰۴۲ متر از سطح دریای آزاد است. و دارای مختصات با طول جغرافیایی ۴۸ درجه و ۳۶ دقیقه شرقی، عرض جغرافیایی ۳۷ درجه و ۳۴ دقیقه شمالی و همچنین میانگین بارندگی سالانه نیز ۳۵۰ میلی‌متر می‌باشد.

- 1- Phytol
- 2- Farnesol
- 3- Methyl linoleate

جمع‌آوری نمونه

نمونه‌های گیاهی (ریشه) در مرحله فنولوژیکی رشد رویشی در بیست فروردین ماه 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.



شکل ۲- موقعیت منطقه مورد مطالعه

آماده‌سازی نمونه‌های گیاهی جهت تهیه عصاره

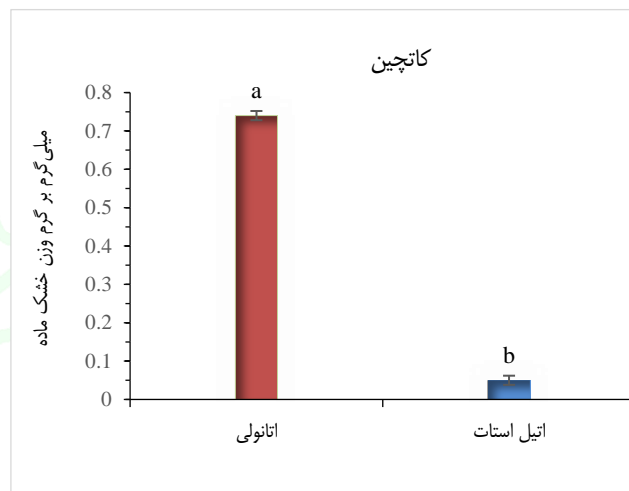
یک گرم پودر مواد گیاهی (ریشه) را با حلال (اتانول و اتیل استات) طی سه مرحله (حلال خالص cc ۱۰، آب/حلال cc ۷:۳، آب/حلال cc ۵:۵) به مدت ۳۰ دقیقه توسط امواج فراصوت با دستگاه سونیک عصاره‌گیری کرده و جهت جدا سازی عصاره، از پودر گیاه به دستگاه سانتریفیوژ منتقل شد. عصاره نهایی توسط دستگاه روتاری تغلیظ شد. عصاره به دست آمده (سه تکرار) را تا زمان تزریق به دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) جهت آنالیز ترکیبات فنولی موجود آن در یخچال 4°C - نگهداری شد (WójciakKosior et al, 2017).

روش آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS انجام شد. آنالیزها به صورت تجزیه واریانس دو طرفه در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار و مقایسه میانگین‌ها با آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) انجام شد.

نتایج و بحث

در مطالعه حاضر از ریشه گیاه آلاله برف‌زی با دو حلال (اتانول و اتیل استات) به روش فراصوت عصاره‌گیری شد. شناسایی عصاره‌ها توسط دستگاه کروماتوگرافی بالا (HPLC) صورت گرفت. در نتایج به دست آمده از آنالیز عصاره‌ها میزان کاتچین در هر دو عصاره مشخص شد. بر اساس این نتایج، عصاره اتانولی حاوی بالاترین میزان کاتچین با مقدار (0.175 ± 0.02) و در عصاره اتیل استات معادل (0.105 ± 0.02) میلی‌گرم بر گرم وزن خشک ماده بود (شکل ۳).



شکل ۳- مقایسه میزان کاتچین موجود در عصاره اتانولی و اتیل استات ریشه گیاه آلاله برفزی در مرحله فنولوژیکی رشد رویشی. هر ستون نشان دهنده میانگین سه تکرار \pm خطای استاندارد است، حروف متفاوت در شکل نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد با آزمون LSD می باشد.

بر اساس نتایج به دست آمده نوع عصاره دارای اثر معنی داری در سطح احتمال ۱ درصد بر میزان کاتچین نشان داد. با توجه به اهمیت دارویی گیاهان، محققین به دنبال راهکارهایی به منظور تولیدات گیاهی هر چه بیشتر و استخراج ترکیبات با ارزش در گیاهان هستند. گیاه آلاله برفزی گیاهی بومی ایران است و تاکنون تحقیقات گسترده‌ای در جهت شناسایی آن صورت نگرفته است. در این تحقیق وجود ترکیب دارویی و مهم کاتچین اندام ریشه در مرحله رشد رویشی تایید شد. لذا برای شناسایی دقیق آن مطالعات بیشتری می‌طلبید.

منابع

- سیف زاده، م. و خانی پور، ع. ۱۳۹۲. بررسی و مقایسه خواص ضدباکتریایی کاتچین، فرولیک اسید و عصاره دانه انگور بر باکتری‌های عامل مسمومیت غذایی در میگوی پرورشی. مجله پژوهش‌های جانوری (مجله زیست‌شناسی ایران)، ۲۸(۳): ۳۵۳-۳۶۰.
- فاضلی نسب، ب. و میرزایی، ن. ۱۳۹۵. ارزیابی محتوای فنل تام و فلاونوئید در طیف گسترده‌ای از گیاهان بومی و وارداتی. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی ایلام، ۲۶(۲): ۱۵۴-۱۴۱.
- مظفریان، و. ۱۳۹۱. شناخت گیاهان دارویی و معطر ایران، گردآوری، تألیف و ترجمه. فرهنگ معاصر، چاپ اول، ص: ۱۴۴۴.
- جرجانی، آ.، نیاکان، م. و غلامعلی پور علمداری، ا. ۱۳۹۷. بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی، سنجش محتوای متابولیت‌های ثانویه و اسمولیت‌های اندام‌های هوایی و زیرزمینی گیاه دارویی مامیران (*Chelidonium majus* L.) در مراحل مختلف فنولوژیکی. فیزیولوژی محیطی گیاهی، ۱۳(۵۱): ۶۶-۵۱.
- 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.
- 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.
- Khoddami, A., Wilkes, M. A. and Roberts, T. H. 2013. Techniques for analysis of plant phenolic compounds. *Molecules*, 18(2): 2328-2375.

- Kubalt, K. 2016. The role of phenolic compounds in plant resistance.
- 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.
- Wójciak-Kosior, M., Sowa, I., Pucek, K., Szymczak, G., Kocjan, R. and Luchowski, P. 2017. Evaluation of Seasonal Changes of Triterpenic Acid Contents in *Viscum Album* from Different Host Trees. *Pharmaceutical Biology*, 55(1): 1-4.



Comparison of catechin content in Ethanolic and Ethyl acetate extracts of Terrestrial organ (*Ficaria kochii* (Ledeb.) Iranshahr and Rech.f.) plant In the phenological stage of vegetative growth

Khadijeh Lotfizadeh¹, Farnoosh Fattahi^{*2}, Samadnejad Ebrahimi³

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

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

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

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

Abstract

Recognition of the therapeutic properties of medicinal plants as well as the disadvantages of modern treatments has led to encouraging people to use medicinal plants. Plants have different combinations that can be used in various industry. Many plant medicines have been produced from compounds in medicinal plant. These compounds include flavonoids such as catechins. In this study, with two solvents, the amount of catechin composition of the terrestrial organ of the (*Ficaria Kochii* (Ledeb.) Iranshahr and Rech.F.) plant in the phenological stage of vegetative growth was investigated. The extracts of this plant was extracted by ultrasound and injected into the HPLC device to identify phenolic compounds. According to the results of this study, the flavonoid composition of catechin in ethanolic extract was higher than ethyl acetate extracts. The study and accurate knowledge of *Ficaria Kochii* (Ledeb.) Plant compounds in further research can provide more detailed information about the plant's cognition and its properties.

Keywords: Extract, *Ficaria kochii*, Organ, Phenological stage