

ترکیبات شیمیایی و اثرات زیستی گیاه (کما) *Ferula oopoda*

مسعود حیدری زاده^{۱*}، شهناز زارعی^۱، مراحم آشنگرف^۱ و حسین معروفی^۲

^۱ ایران، کردستان، دانشگاه کردستان، دانشکده علوم پایه، گروه علوم زیستی

^۲ ایران، کردستان، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی کردستان

تاریخ دریافت: ۹۷/۸/۲۸ تاریخ پذیرش: ۹۸/۱/۱۹

چکیده

امروزه توجه به ترکیبات طبیعی دارای خاصیت آنتی‌بیوتیکی و دگرآسیبی بیشتر شده است، زیرا عموماً اثرات جانبی کم‌تری دارند. مطالعاتی روی ترکیبات و اثرات زیستی گونه‌هایی از جنس *فرولا* صورت گرفته است اما در این زمینه از گونه *فرولا اوپودا* (*Ferula oopoda*) در ایران، گزارشی مشاهده نگردید. در این مطالعه ترکیبات شیمیایی موجود در برگ *Ferula oopoda* شناسایی و اندازه‌گیری شد. اثرات دگرآسیبی این گیاه بر شاخص‌های جوانه‌زنی کل، سرعت جوانه‌زنی، ضریب نسبی جوانه‌زنی دانه‌رست‌های گندم و چاودار بررسی گردید. ویژگی آنتی‌اکسیدانی و اثرات ضد میکروبی عصاره برگ و ریشه گونه *فرولا اوپودا* نیز اندازه‌گیری گردید. نتایج نشان داد عصاره آبی برگ *فرولا اوپودا* جوانه‌زنی کل، سرعت جوانه‌زنی، ضریب نسبی جوانه‌زنی گندم و چاودار را به‌طور معنی‌دار کاهش می‌دهد. نتایج نشان داد قدرت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد و پتانسیل آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ و ریشه *فرولا اوپودا* قابل‌مقایسه با ویتامین C است. بررسی اثرات ضد میکروبی نیز نشان داد درصد قطر نسبی ناحیه مهار رشد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشیرشیا کلی* در اثر غلظت‌های مختلف عصاره برگ و ریشه *فرولا اوپودا* به‌طور معنی‌دار تأییدکننده اثرات ضد باکتریایی آن است. آنالیز ترکیبات شیمیایی عصاره برگ *فرولا اوپودا* وجود ترکیبات مؤثر و فراری چون آلفا پینن، بتامیرسین و کاریوفیلین را نشان داد. بسیاری از اثرات زیستی را می‌توان به این ترکیبات ارتباط داد. بنابراین گیاه *فرولا اوپودا* می‌تواند منبع خوبی برای تهیه مواد آنتی‌بیوتیک و علف‌کش‌های طبیعی باشد. ترکیبات متعدد و متنوع موجود در اندام‌های این گیاه نیز ظرفیت استفاده از آن برای تهیه داروهای جدید با منشأ گیاهی را نشان می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: دگرآسیبی، ضد باکتریایی، آنتی‌اکسیدانی، شاخص‌های جوانه‌زنی

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۸۳۷۸۰۵۴۳، پست الکترونیکی: m.haidarizadeh@uok.ac.ir

مقدمه

ذاتی می‌شود. امروزه توجه به ترکیبات طبیعی دارای خاصیت آنتی‌بیوتیکی و دگرآسیبی بیشتر شده است زیرا عموماً اثرات جانبی کم‌تری دارند.

جنس *فرولا* (کما) (*Koma*) از خانواده *Peucedaneae* و زیر خانواده ایی از *Apiaceae* (چتریان)، با ۱۳۳ گونه در منطقه مدیترانه و آسیای مرکزی پراکندگی دارد. در فلور ایران ۳۰ گونه از جنس *فرولا* گزارش شده است. برخی از این گونه‌ها بومی هستند. *فرولا اوپودا* گیاهی است

استفاده‌ی بی‌رویه‌ی از سموم، حشره‌کش‌ها و علف‌کش‌ها باعث آسیب به محصول، خاک، آب، جانوران و انسان شده و با برهم زدن روابط طبیعی در اکوسیستم یک بحران زیست‌محیطی ایجاد کرده است. بررسی روابط آلوپاتیک (دگرآسیبی) میان گیاهان و استفاده از متابولیت‌های ثانویه‌ی طبیعی می‌تواند جایگزین مناسبی برای این مواد شیمیایی آسیب‌رسان باشد. استفاده بی‌رویه از آنتی‌بیوتیک‌های سنتزی نیز باعث گسترش مقاومت دارویی در میکروارگانیسم‌ها، ایجاد آلرژی و سرکوب سیستم ایمنی

اختلالات عصبی و درد معده، *Ferula persica* به‌عنوان ضد یبوست، ضد نفخ، ضد هیجان‌های شدید، درمان کمردرد، دیابت و روماتیسم استفاده می‌شود. پژوهش‌های علمی جدید نیز اثرات دارویی گونه‌های کما از جمله ضد باکتریایی، ضد فارچی، آنتی‌اکسیدان، ضد التهاب، ضد درد، ضد تشنج، ضد اسپاسم و کاهش‌دهنده فشارخون را تأیید کرده است. بخش‌های مختلف گیاهانی از جنس فرولا در درمان بیماری‌های مختلفی مانند اختلالات عصبی، التهاب، اسهال خونی، اختلالات گوارشی، روماتیسم، سردرد، ورم مفاصل و سرگیجه مورد استفاده هستند (۲ و ۷). گونه‌های کما منبعی از ترکیبات گیاهی (Phytochemical) مؤثری مانند مشتقات سزکوئی‌ترین (سزکوئی‌ترین کومارین و سزکوئی‌ترین لاکتون) و ترکیبات حاوی گوگرد هستند (۱ و ۱۳).

شهبازی و همکاران (۲۰۱۱) اثرات دگرآسیبی عصاره آبی دانه، ساقه و ریشه *Ferula gummosa* را بررسی کردند (۱۴). زیرک و همکاران (۲۰۱۳) نیز اثرات دگرآسیبی *Ferula assa-foetida* در مهار جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌های دو علف هرز را مطالعه کردند (۱۷). رشید و همکاران (۲۰۱۰) گزارش نمودند که کاهش جوانه‌زنی بذری می‌تواند ناشی از اثر منفی مواد بازدارنده رشد موجود در عصاره‌های گیاهی بر میتوز باشد. دهپور و همکاران (۲۰۰۹) فعالیت مهاری فرولا آسافوتیدا (*Ferula assafoetida*) را ارزیابی کردند (۵). نبوی و همکاران (۲۰۱۰) نشان دادند گل، ساقه و برگ فرولا گوموسا (*Ferula gummosa*) خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارد (۹). زناتی و همکاران (۲۰۱۷) فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس فرولا تونیتانا (*Ferula tunetana*) را اندازه‌گیری نمودند (۱۸).

این پژوهش به دنبال پاسخ به این پرسش‌هاست که آیا عصاره برگ و ریشه فرولا / اوپودا اثرات ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی دارد؟ آیا عصاره برگ و ریشه فرولا / اوپودا بر روی جوانه‌زنی بذری گیاهان زراعی و علف‌های هرز آنها

چندساله، بدون کرک با ساقه‌هایی به ارتفاع حدود ۱۰۰ سانتی‌متر، ضخیم و شیاردار، برگ‌ها قاعده‌ای، شانه‌ای، بدون کرک با قطعات انتهایی نخ‌شکل، گل‌ها زردرنگ با گلبرگ‌های بدون کرک و میوه آن دراز یا بیضی‌شکل است (شکل ۱). پراکنش آن در ایران در کردستان، همدان، اراک، لرستان، کرمان، شاهرود و کاشان گزارش شده است. بیشترین پراکنش و فراوانی این‌گونه در ارتفاعات بالاتر از ۲۵۰۰ متر از سطح دریا می‌باشد (۱ و ۱۵) در مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان کردستان ۷ گونه ذیل از جنس فرولا از استان کردستان موجود است:

Ferula Macrocolea *Ferula Haussknechtii*
Ferula Persica *Ferula Orientalis* *F. Oopoda*
Ferula Angulata *Ferula Pseudalliacea*



شکل ۱- فرولا اوپودا در مرحله گلدهی (۱۵).

بسیاری از گونه‌های کما به‌عنوان یک منبع غنی از رزین (Resin) معطر شناخته‌شده و در طب سنتی به‌عنوان داروهای طبیعی برای انواع اختلالات و بیماری‌ها مورد استفاده هستند. فرولا آسافوتیدا (*Ferula assafoetida*) به‌عنوان ضد تشنج، ضد نفخ، ضد اسپاسم، نیروبخش *Ferula gummosa* و *Ferula badra-kema* به‌عنوان ضد تشنج، مقوی، ضد هیجان‌های شدید، ضد احتقان، درمان

تزریق و به کمک گاز حامل که معمولاً یک گاز بی‌اثر (هلیوم و یا نیتروژن) وارد ستون دستگاه می‌شود و با عبور نمونه اجزای آن جدا شده و توسط آشکارساز رؤیت می‌شود و در نهایت دیاگرام آن توسط دستگاه نمایش داده می‌شود.

مقدار ۲/۰ میکرولیتر از عصاره به دستگاه تزریق و درصد ترکیبات تشکیل‌دهنده عصاره پس از جداسازی به همراه شاخص بازدارنده محاسبه شد. در نهایت شناسایی ترکیبات موجود در عصاره با استفاده از اندیس بازدارنده بررسی طیف‌های جرمی و پیشنهادهای کتابخانه کامپیوتر دستگاه گاز کروماتوگراف متصل به طیف‌سنج جرمی و مقایسه آن‌ها با ترکیبات استاندارد انجام شد. دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی GC/MS فوق‌سریع Agilent مدل ca789 متصل به طیف‌سنج جرمی با ستون HP5 به طول ۳۰ متر قطر ۲۵/۰ میلی‌متر و ضخامت لایه فاز ساکن ۲۵/۰ میکرون مورد استفاده قرار گرفت. برنامه‌ریزی حرارتی از ۴۵ تا ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد با افزایش دمای ۵ درجه سانتی‌گراد در دقیقه بود. درجه حرارت محفظه تزریق ۲۸۰ درجه و درجه حرارت ترانسفرلاین ۲۹۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. گاز هلیوم به‌عنوان گاز حامل مورد استفاده قرار گرفت.

اثر مهاری عصاره فرولا اوپودا بر شاخص‌های جوانه‌زنی: شاخص‌های جوانه‌زنی شامل جوانه‌زنی کل (TG= Total germination)، سرعت جوانه‌زنی (S= Speed of germination) و ضریب نسبی جوانه‌زنی (CRG= Coefficient of the rate of germination) اندازه‌گیری و ارزیابی گردیدند. ۲۵ عدد از بذره‌های گندم و چاودار به ترتیب با وزن (۰/۰۰۱± ۰/۰۵± ۰/۰۰۱) ، (۰/۰۰۱± ۰/۰۵± ۰/۰۰۱) گرم انتخاب و با هیپوکلیت سدیم ۱/۵ درصد ضدعفونی گردیدند. برای هر تیمار سه تکرار در نظر گرفته شد. غلظت‌های ۰/۲ میلی مولار کومارین سنتتیک (کنترل مثبت) و غلظت ۵۰ گرم بر لیتر عصاره گیاه تهیه گردید.

اثر دارد؟ در این مطالعه ترکیبات شیمیایی گیاه *Ferula oopoda* شناسایی و اندازه‌گیری گردید. اثرات دگرآسیبی این گیاه بر شاخص‌های جوانه‌زنی کل، سرعت جوانه‌زنی، ضریب نسبی جوانه‌زنی دانه رست‌های گندم و چاودار (به‌عنوان علف هرز مزارع گندم) بررسی گردید. همچنین ویژگی آنتی‌اکسیدانی و اثرات ضد میکروبی عصاره برگ و ریشه گونه فرولا اوپودا اندازه‌گیری گردید. مطالعاتی روی متابولیت‌های ثانویه و اثرات زیستی گونه‌های دیگر جنس فرولا صورت گرفته است اما در این زمینه از گونه فرولا اوپودا در ایران، گزارشی مشاهده نشد. هدف این پژوهش اینست که نشان دهد گیاه فرولا اوپودا می‌تواند منبع خوبی برای تهیه مواد آنتی‌بیوتیک و علف‌کش‌های طبیعی باشد. ترکیبات متعدد و متنوع موجود در اندام‌های این گیاه نیز ظرفیت استفاده از آن برای تهیه داروهای جدید با منشأ گیاهی را نشان می‌دهد.

مواد و روشها

نمونه‌برداری و عصاره‌گیری: گونه فرولا اوپودا در کوه‌های اطراف روستای دزلی بخش مرکزی شهرستان سروآباد در استان کردستان در موقعیتی با طول جغرافیایی ۳۵°۳۳′۴۰″ عرض جغرافیایی ۴۶°۱۶′۲۸″ درجه و ۱۷۳۴/۹ متر ارتفاع از سطح دریا، در سال ۱۳۹۵ جمع‌آوری شد. نمونه‌برداری در نیمه خرداد و قبل از گلدهی گیاه انجام شد. شستشو، خشک‌کردن، تهیه عصاره (برگ و ریشه) به روش سوکسله، تغلیظ عصاره‌ها به کمک دستگاه تقطیردوار (مدل Tecan sunrise) در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد و حذف کامل حلال، براساس روش‌های استاندارد انجام گردید (۳). بذره‌های گواهی شده گندم و ارپته‌ی پیشگام (۹۳) و چاودار (۹۴) از مرکز تحقیقات، آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان کردستان تهیه شدند.

آنالیز ترکیبات برگ فرولا اوپودا با استفاده از روش GC-Mas: عصاره متانولی برگ فرولا اوپودا به دستگاه

مهارکنندگی رادیکال DPPH با استفاده از رابطه ذیل محاسبه شد (۱۸).

$$\text{(\%)} = \frac{(A_{\text{control}} - A_{\text{sample}})}{A_{\text{control}}} \times 100$$

جذب واکنش کنترل شامل تمام واکنشگرها به جز نمونه مورد آزمایش است، A_{sample} جذب نمونه مورد آزمایش است.

اثر ضد باکتریایی عصاره فرولا اوپودا: بررسی خاصیت آنتی باکتریال به روش انتشار دیسک (Disk diffusion) انجام گرفت. برای کشت باکتری از محیط کشت جامد مولر هیتون استفاده شد. عصاره متانولی برگ و ریشه گیاه، غلظت‌های هیدروالکلی مختلف (۱۰۰، ۵۰، ۲۵، ۱۲/۵ گرم بر لیتر) تهیه شد. از متانول خالص درصد‌های (۱۰۰، ۵۰، ۲۵، ۱۲/۵٪ متانول) به‌عنوان کنترل استفاده شد. دیسک‌های بلانک استریل به مدت ۳۰ دقیقه در غلظت‌های مختلف عصاره و کنترل قرار داده شدند. سوسپانسیون میکروبی ۰/۵ مک فارلند به‌صورت کشت چمنی یکنواخت کشت داده شد. دیسک‌ها پنج دقیقه از تیمارها بیرون آورده شدند تا آب اضافی آن‌ها گرفته شود. پلیت‌های آماده شده به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری و سپس قطر هاله عدم رشد در مقابل نور اندازه‌گیری شد. درصد قطر نسبی ناحیه مهار به‌عنوان یک شاخص فعالیت ضد میکروبی با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$\text{RIZD (\%)} = \frac{\text{IZD}_{\text{zon diameter}} - \text{IZD}_{\text{negative control}}}{\text{IZD}_{\text{zon diameter}}}$$

RIZD، درصد قطر نسبی ناحیه مهار و IZD، قطر ناحیه مهار برحسب میلی‌متر است (۲) کشت باکتری و دیسک گذاری در سه تکرار انجام شد (۴).

روش آماری: تجزیه و تحلیل داده‌ها با نرم‌افزار Spss21 انجام شد. آنالیز واریانس تغییرات میانگین‌ها با روش فاکتوریل و در نظر گرفتن دو فاکتور گونه و غلظت‌های مختلف عصاره انجام شد. به‌منظور ارزیابی معنی‌دار بودن تفاوت میانگین‌ها آزمون دانکن طراحی گردید.

اتاقک رشد با دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، درجه حرارت روزانه ۲۵ و شبانه ۱۸ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۲۷ درصد قرار تنظیم شد. به مدت ۸ روز دانه‌های جوانه‌زده روزانه شمارش شدند. بذرهایی با ریشه‌چه یک میلی‌متر به‌عنوان جوانه‌زنی دانه در نظر گرفته می‌شود. برای محاسبه شاخص‌های جوانه‌زنی از روابط ذیل استفاده شد (۱۱).

$$\text{TG} = \frac{\sum \text{NT}}{N} \times 100$$

$$+ (N_2 - N_1) \times \frac{1}{2} + (N_3 - N_2) \times \frac{1}{3} + \dots + (N_n - N_{n-1}) \times \frac{1}{n}$$

$$S = (N_1 \times 1)$$

N_n تعداد بذره‌های جوانه زده در روز n

CRG

$$\frac{N_1 + N_2 + N_3 + \dots + N_n}{(N_1 \times T_1) + (N_2 \times T_2) + (N_3 \times T_3) + \dots + (N_n \times T_n)} \times 100$$

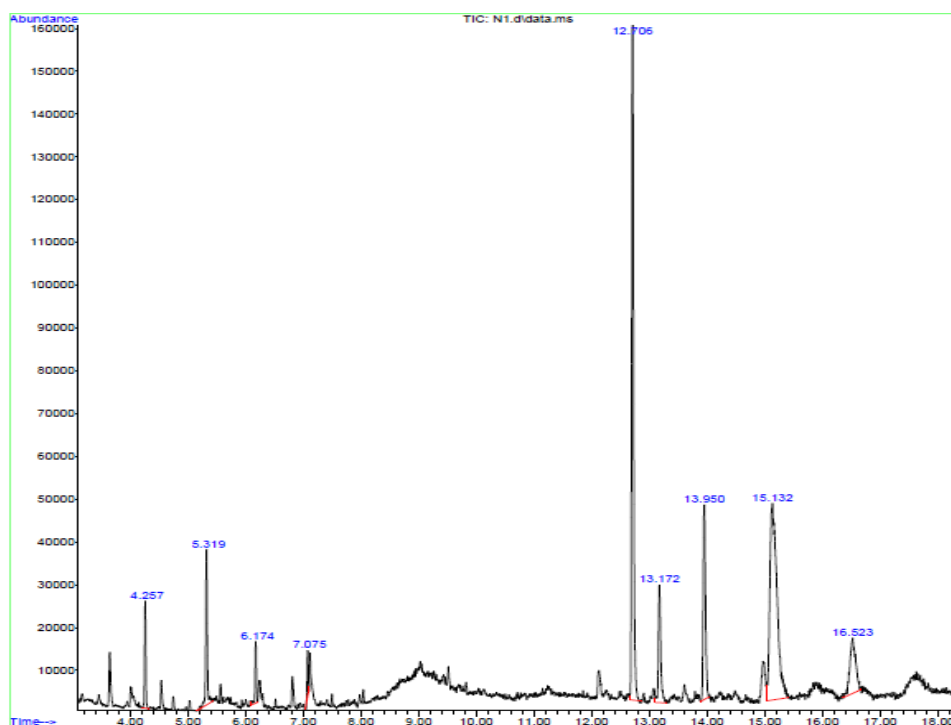
N_n تعداد بذره‌های جوانه زده در روز n، T_n شماره روز n

ویژگی آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ و ریشه گونه فرولا اوپودا: (۱۱ دی فنیل-۲-پیکریل هیدرازیل) DPPH از رادیکال‌های آزاد پایدار است. در این روش توانایی دادن اتم هیدروژن یا الکترون توسط عصاره، از روی میزان تغییر رنگ محلول ارغوانی به محلول زردرنگ سنجیده می‌شود. بدین منظور ۱۰۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف عصاره (۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ گرم بر لیتر) با ۳ میلی‌لیتر از محلول متانولی DPPH (با غلظت ۱۵۰ میکرومولار) مخلوط شد. از اسید آسکوربیک ویتامین C (غلظت‌های ۱، ۰/۵، ۰/۲۵، ۰/۱۲۵ میلی‌مولار) به‌عنوان کنترل مثبت استفاده شد. جذب DPPH و متانول به‌عنوان کنترل منفی اندازه گرفته شد. برای هر آزمایش سه تکرار در نظر گردید. جذب نمونه‌ها بعد از ۳۰ دقیقه توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر (مدل Unico 2100) در ۵۱۷ نانومتر خوانده شد. تمام مراحل آزمایش در تاریکی و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و برای عصاره‌های ریشه و برگ انجام شد. درصد

نتایج

فراوانی به ترتیب مربوط به پیک‌های شماره ۵ و ۸ می‌باشد. دی‌اتیل فتالات ۳۳/۵۲٪ و کاربوفیلن ۲۹/۸۸٪ بیش از ۶۰٪ ترکیبات فرار و آلفا پینن، بتا میرسین، مشتقات نفتالین و بنزیدین، از اجزای فرار شناسایی شده عصاره متانولی برگ فرولا / اوپودا می‌باشند.

آنالیز ترکیبات برگ فرولا / اوپودا با استفاده از روش GC-Mas: شکل ۲ و جدول ۱ آنالیز ترکیبات عصاره متانولی برگ فرولا / اوپودا را نشان می‌دهد. در عصاره این گیاه نه ترکیب اصلی شناسایی شده است. بیشترین درصد

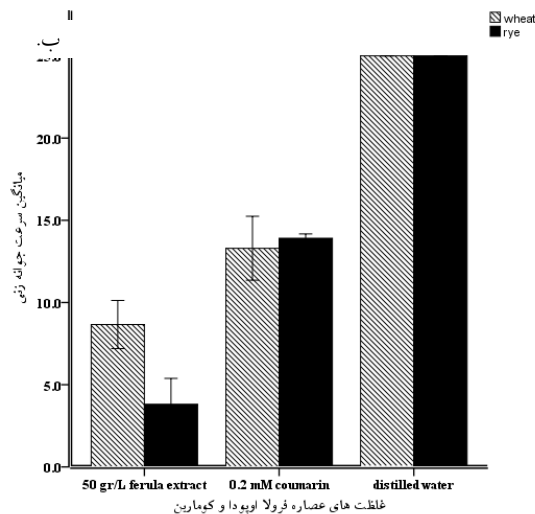


شکل ۲- دیاگرام به دست آمده از آنالیز عصاره متانولی برگ فرولا / اوپودا

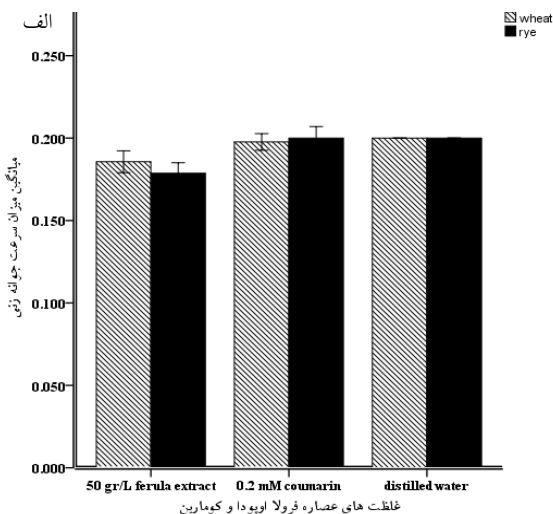
جدول ۱- آنالیز ترکیبات عصاره متانولی برگ فرولا / اوپودا با GC-Mass

شماره پیک	زمان ثبت شده (دقیقه)	مقدار (%)	ترکیب احتمالی	فرمول مولکولی
۱	۴/۲۵۷	۳/۰۲۶	Ribitol,1,3,2,4-di-O-benzylidene	C19H20O5
۲	۵/۳۱۹	۵/۷۸۴	1R-alpha-Pinene	C10H16
۳	۶/۱۷۴	۱/۹۵۷	beta-Myrcene	C10H16
۴	۷/۰۷۵	۱/۰۴۸	1-(4-Hydroxy-3-Methoxyphenyl)-1-ethoxyacetic acid ethyl ester O-trimethylsilyl	C16H26O5Si
۵	۱۲/۷۰۶	۲۹/۸۸۸	Caryophyllene	C15H24
۶	۱۳/۱۷۲	۶/۴۳۴	alpha-Caryophyllene	C15H24
۷	۱۳/۹۵۰	۱۰/۶۶۸	Cyclohexene,4-ethenyl-4-methyl-3-(1-methylethenyl)-1-(1-methylethyl)-,(3R-trans)	C15H24
۸	۱۵/۱۳۲	۳۳/۵۲۵	Diethyl Phthalate	C12H14O4
۹	۱۶/۵۲۳	۷/۶۷۰	Naphthalene, 1,2,3,4-tetrahydro-2,6-dimethyl-7-octyl	C20H32

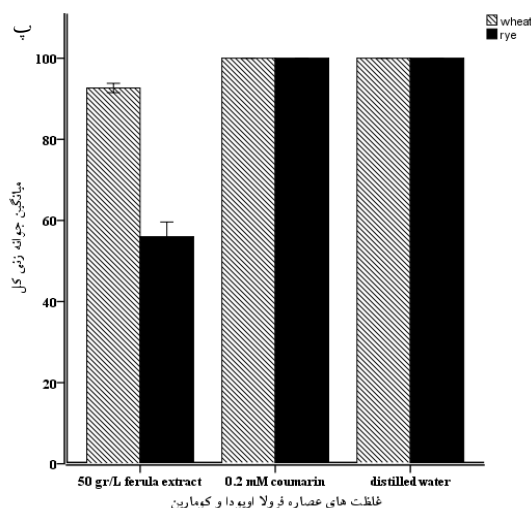
جوانه‌زنی گندم و چاودار را نشان می‌دهد. غلظت ۵۰ گرم بر لیتر عصاره فرولا / اوپودا بطور معنی‌دار نسبت به دو گروه کنترل سرعت جوانه‌زنی بذرهای گندم و چاودار را کاهش داده است. به‌طور معنی‌دار کاهش سرعت جوانه‌زنی چاودار نسبت به گندم بیشتر است. نمودار پ، اثر عصاره گیاه و کومارین سنتتیک بر ضریب نسبی جوانه‌زنی گندم و چاودار را نشان می‌دهد. در این شاخص هم عصاره فرولا / اوپودا بطور معنی‌دار نسبت به دو گروه کنترل ضریب نسبی جوانه‌زنی بذرهای گندم و چاودار را کاهش داده است. به‌طور معنی‌دار کاهش ضریب نسبی جوانه‌زنی چاودار نسبت به گندم بیشتر است.



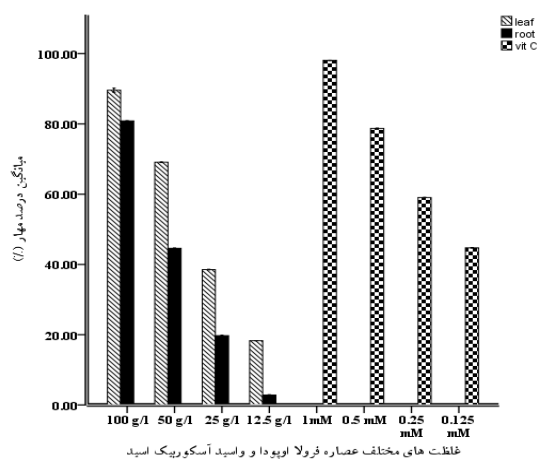
اثر بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذرهای گندم و چاودار: شکل ۳ اثر عصاره آبی برگ فرولا / اوپودا (۵۰ گرم بر لیتر) و غلظت ۰/۲ میلی مولار از کومارین (کنترل مثبت) بر شاخص‌های جوانه‌زنی، بذرهای گندم و چاودار را نشان می‌دهد. نمودار الف، اثر عصاره فرولا / اوپودا و کومارین سنتتیک بر جوانه‌زنی کل گندم و چاودار را نشان می‌دهد. غلظت ۵۰ گرم بر لیتر عصاره فرولا / اوپودا بطور معنی‌دار نسبت به دو گروه کنترل جوانه‌زنی کل، بذرهای گندم و چاودار را کاهش داده است. به‌طور معنی‌دار کاهش جوانه‌زنی کل چاودار نسبت به گندم بیشتر است. نمودار ب، اثر عصاره گیاه و کومارین سنتتیک بر سرعت



شکل ۳- اثر غلظت ۵۰ گرم بر لیتر از عصاره طبیعی و غلظت ۰/۲ میلی مولار از کومارین، و کنترل منفی (آب مقطر) بر، جوانه‌زنی کل (پ)، سرعت جوانه‌زنی (الف)، ضریب نسبی جوانه‌زنی (ب)



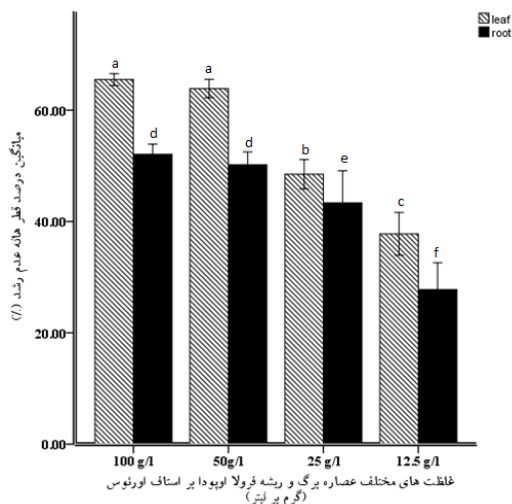
باکتریایی عصاره است. در مورد هر دو باکتری عصاره برگ نسبت به عصاره ریشه اثر مهاری قوی‌تری دارد. در مقایسه بین دو باکتری، عصاره برگ و ریشه گیاه اثر مهاری قوی‌تری بر باکتری *اشیرشیا کلی* گذاشته است.



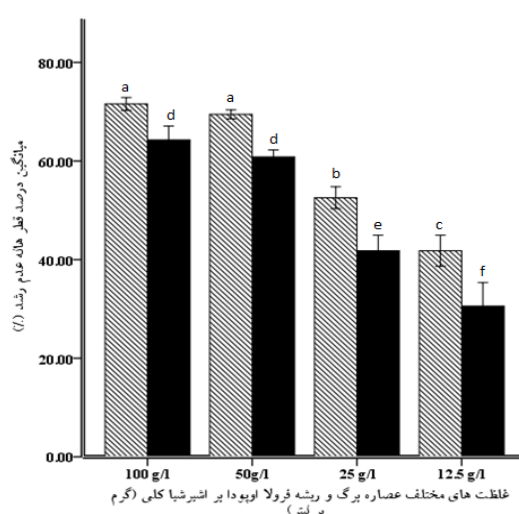
شکل ۴- اثر غلظت‌های مختلف عصاره برگ و ریشه فرولا اوپودا و ویتامین C بر درصد مهارکنندگی رادیکال DPPH را نشان می‌دهد. غلظت‌های مختلف عصاره فرولا اوپودا و واسید آسکوربیک اسید

اثر آنتی‌اکسیدانی: درصد مهارکنندگی رادیکال DPPH مبنایی برای ارزیابی ویژگی پاداکسایدنگی می‌باشد. شکل ۴ اثر غلظت‌های مختلف عصاره برگ و ریشه فرولا اوپودا (۱۰۰، ۵۰، ۲۵، ۱۲/۵ گرم بر لیتر) و ویتامین C (۱، ۰/۵، ۰/۲۵، ۰/۱۲۵ میلی مولار) بر درصد مهارکنندگی رادیکال DPPH را نشان می‌دهد. شکل ۳ نشان می‌دهد قدرت مهارکنندگی رادیکال DPPH عصاره برگ و ریشه فرولا اوپودا قابل مقایسه با ویتامین C است. هرچه درصد بازدارندگی بیشتر باشد به معنای خاصیت آنتی‌اکسیدانی بیشتر می‌باشد. نتایج (شکل ۳) نشان می‌دهد درصد بازدارندگی و ویژگی آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ به‌طور معنی‌دار بیشتر از عصاره ریشه فرولا اوپودا است.

اثر ضد باکتریایی: شکل ۵، درصد قطر نسبی ناحیه مهار رشد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشیرشیا کلی* در اثر غلظت‌های مختلف عصاره برگ و ریشه فرولا اوپودا (۱۰۰، ۵۰، ۲۵، ۱۲/۵ گرم بر لیتر) را نشان می‌دهد. با افزایش غلظت عصاره، قطر ناحیه‌ی مهار و درصد قطر ناحیه‌ی مهار افزایش می‌یابد که به معنای خاصیت ضد



شکل ۵- میانگین درصد قطر هاله عدم رشد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشیرشیا کلی* توسط غلظت‌های مختلف عصاره برگ و ریشه فرولا اوپودا



علف‌های هرز را داشته و می‌تواند به‌عنوان علف‌کش یا آفت‌کش طبیعی عمل کنند (۱۶ و ۱۹).

بحث و نتیجه‌گیری

پژوهش‌های متعدد نشان می‌دهد که مواد شیمیایی آزاد شده توسط گیاه و همچنین مواد تجزیه‌شده گیاهی توانایی کنترل

آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که باعث محافظت در برابر آسیب سلولی ناشی از رادیکال‌های آزاد می‌شوند. (۱ و ۱) دی فنیل-۲-پیکریل هیدرازیل (DPPH) به‌عنوان یک معرف برای بررسی مهار رادیکال آزاد توسط عصاره بکار می‌رود. دهپور و همکاران (۲۰۰۹) فعالیت مهاری رادیکال آزاد DPPH گیاه *فرولا آسافوتیدا* (*Ferula assafoetida*) را به فنل و فلاونوئیدهای گیاه نسبت دادند (۵). نبوی و همکاران (۲۰۱۰) نشان دادند که عصاره هیدروالکلی گل، ساقه و برگ *فرولا گوموسا* (*Ferula gummosa*) خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارد (۹). زناتی و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند که فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس *فرولا تونیتانا* (*Ferula tunetana*) می‌تواند به فعالیت‌های سینرژستیک (synergistic) (هم‌افزایی) ترکیبات غیراشباع چندشکلی مانند آلفا پنینین مربوط شود (۱۸). یافته‌های ما نشان داد عصاره برگ و ریشه *فرولا اوپودا* خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان را می‌توان عمدتاً به حضور ترکیبات فنولی نسبت داد. ترکیبات فنولی تقریباً در تمام بخش‌های گیاه وجود دارند و در بسیاری از فرایندهای فیزیولوژیک مانند رشد سلولی، جوانه‌زنی دانه و رسیدن میوه نقش دارند. خاصیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنولی امکان از دست دادن هیدروژن و به دام انداختن رادیکال آزاد را می‌دهد. نشان داده شده است که ترکیبات فنولی فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل‌توجهی دارند. (۱ و ۱) دی فنیل-۲-پیکریل هیدرازیل (DPPH) یک رادیکال آزاد پایدار نیتروژن دار است که رنگ آن از طریق فرایند الکترون‌گیری هیدروژنی از بنفش تا زرد تغییر می‌یابد. موادی که قادر به انجام این واکنش هستند می‌توانند به‌عنوان آنتی‌اکسیدان و مهارکننده رادیکال در نظر گرفته شوند (۱۸).

مقاومت میکروبی در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها و اثرات مخرب افزودنی‌ها و مواد نگهدارنده غذایی از مشکلات رایج سیستم بهداشتی و درمانی است که کنترل و رفع آن دستیابی به گروه‌های جدیدی از ترکیبات ضد میکروبی را

شهبازی و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند عصاره آبی دانه، ساقه و ریشه *Ferula gummosa* باعث کاهش درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و طول محور زیر لپه گیاهچه های گیاهان موردبررسی می‌شود (۱۴). زیرک و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند اندام‌های زیرزمینی و هوایی *Ferula assa-foetida* در مهار جوانه‌زنی و رشد گیاهچه های دو علف هرز مورد مطالعه مؤثر بوده و اندام‌های زیرزمینی اثر مهاری بیشتری از اندام‌های هوایی دارند (۱۷). نتایج این پژوهش نشان داد که اندام‌های هوایی گیاه *فرولا اوپودا* حاوی مواد بازدارنده رشد هستند که موجب کاهش جوانه‌زنی و رشد گندم و چاودار شده است نتایج این آزمایش بیانگر خاصیت آلوپاتی *فرولا اوپودا* می‌باشد آزمایش‌های بیشتری در این زمینه و در شرایط مزرعه لازم است صورت بگیرد. با انجام تحقیقات تکمیلی شاید بتوان از این گیاه برای ساخت علف‌کش‌های طبیعی استفاده نمود. سازوکاری که سبب کاهش جوانه‌زنی بذر می‌گردد، احتمالاً مربوط به کاهش فعالیت آنزیم‌هایی مانند آلفا آمیلاز است که در جوانه‌زنی بذر نقش دارند. همچنین برآیند عوامل متعددی مانند کاهش میتوز در مریستم ریشه، کاهش فعالیت آنزیم‌های کاتالیز کننده فرایندهای حیاتی گیاه و اختلال در جذب یون‌های معدنی که در حضور آلوکمیkal ها رخ می‌دهد، سبب کاهش رشد می‌شود. مکانیزم کاهش رشد گیاهان مورد آزمایش بطور دقیق مشخص نیست.

رشید و همکاران (۲۰۱۰) گزارش نمودند که کاهش جوانه‌زنی بذر می‌تواند ناشی از اثر منفی مواد بازدارنده رشد موجود در عصاره‌های گیاهی بر میتوز باشد (۱۱). نتایج این پژوهش نشان داد که گیاه *فرولا اوپودا* حاوی اثرات آلوشیمیایی است که موجب کاهش جوانه‌زنی در گندم و چاودار شده است. کومارین‌ها از مواد فنلی در گیاهان بوده که از نظر فیزیولوژیکی فعال هستند و بر آنزیم‌هایی مثل آمیلازها یا ساکارازها (انورتازها) اثر بازدارندگی دارند. کومارین در غلظت‌های بالاتر اثر مهاری شدیدی دارد.

از ترکیبات اصلی فرار عصاره است. این ترکیب حلقوی شباهت بسیاری به ترکیبات فنلی ساده و مرکب دارد ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی شناسایی شده در گزارش-های دیگر با توجه به روش این مطالعه ممکن است بصورت دی اتیل فتالات شناسایی شده باشند. از طرف دیگر نتایج نشان داد آلفاپینن یکی از ترکیبات اصلی و عمده برگ می‌باشد. زناتی و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند که پینن‌ها (آلفاپینن، بتاپینن) در برابر بسیاری از میکروارگانیسم‌ها فعال هستند. پینن‌ها می‌توانند یکپارچگی سلول را از بین ببرند، در نتیجه، تنفس و فرایندهای انتقال یون را مهار می‌کنند. علاوه بر این می‌توانند نفوذپذیری غشاء را در سلول‌های مخمر و میتوکندری‌های جدا شده افزایش دهند (۱۸). فعالیت ضد باکتریایی عصاره برخی از گونه‌های فرولا را می‌توان به فنل‌ها، فلاونوئیدها و سزکوئی-ترین‌ها نیز نسبت داد (۸). عصاره برگ و ریشه‌ی فرولا / اوپودا حاوی ترکیبات ضد میکروبی است که می‌تواند بر روی باکتری‌های گرم مثبت و منفی تأثیر گذارد،

نتیجه‌گیری

عصاره آبی برگ فرولا / اوپودا جوانه‌زنی کل، سرعت جوانه‌زنی و ضریب نسبی جوانه‌زنی گندم و چاودار را به‌طور معنی‌دار کاهش داد که این اثر آللوپاتی و دگرآسیبی این عصاره را تأیید می‌نماید. نتایج نشان داد قدرت مهارکنندگی رادیکال DPPH و پتانسیل آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ و ریشه فرولا / اوپودا قابل‌مقایسه با ویتامین C است. بررسی اثرات ضد باکتریایی نیز نشان داد درصد قطر نسبی ناحیه مهار رشد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و شیرشیا کلی در اثر غلظت‌های مختلف عصاره برگ و ریشه فرولا / اوپودا به‌طور معنی‌دار نسبت به گروه شاهد بیشتر بوده و تأییدکننده اثرات ضد میکروبی آن است. آنالیز ترکیبات شیمیایی عصاره برگ فرولا / اوپودا وجود ترکیبات مؤثر و فراری چون آلفا پینن، بتامیرسین و کاربوفیلین را نشان داد. بسیاری از اثرات زیستی را می‌توان به این

ضروری می‌سازد. در این راستا ترکیبات موجود در عصاره‌های گیاهی به‌عنوان منابع بالقوه حائز اهمیت زیادی هستند. این مطالعه باهدف معرفی ترکیبات جدید با اثرات ضد میکروبی در عصاره گیاه فرولا / اوپودا انجام گرفت. ابراهیم و همکاران (۲۰۱۲) فعالیت ضد میکروبی هفده ترکیب استر سزکوئی‌ترین از ریشه فرولا هرمونیس را با روش میکروداپلوشن برات در برابر شش باکتری و یک قارچ بررسی کرده و نشان دادند این ترکیبات در برابر باکتری‌های گرم مثبت فعالیت قوی دارند اما هیچ فعالیتی در برابر سویه‌ی قارچی نشان ندادند (۶). کاووسی و همکاران (۲۰۱۳) اولتوگوم رزین (OGRs) فرولا آسا فوتیدا را بر باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی تأثیر نشان دادند که این اسانس بر هر دو گروه باکتری تأثیر داشته و بیشترین تأثیر را بر روی باکتری‌های گرم مثبت دارد (۸) اوزک و همکاران (۲۰۱۴) فعالیت ضد میکروبی اسانس برگ و ساقه‌ی فرولا زوئیت سیانا (Ferula szowitsiana) را به روش برات میکروداپلوشن (Broth micro dilution) بررسی کرده و نشان دادند که این گیاه پتانسیل استفاده به‌عنوان یک عامل ضد میکروبی را برای چند باکتری بیماری‌زا دارد (۱۰). اخیراً تمایل رو به رشدی برای کشف و معرفی مواد ضد میکروبی با منشأ گیاهی به وجود آمده است زیرا گیاهان ترکیبات متنوع با ساختمان مولکولی پیچیده‌ای می‌سازند که برخی از آن‌ها با خواص ضد میکروبی گیاهی مرتبط هستند، آلکالوئیدها، فلاونوئیدها، ایزوفلاونوئیدها، تانن‌ها، گلیکوزیدها، ترین‌ها و ترکیبات فنلی از جمله این متابولیت‌های ثانویه هستند که قادرند خواص ضد میکروبی به وجود آورند. از نقطه نظر شیمیایی، عصاره‌های گیاهی اغلب دارای پلی‌پرنوئیدها، ترکیبات آروماتیک و سزکوئی‌ترین‌هایی هستند که به دلیل دارا بودن گروه‌های فنلی می‌توانند بر روی طیفی از باکتری‌ها اثرات ضد میکروبی به وجود آورند (۳ و ۱۲).

نتایج ارزیابی ترکیبات شیمیایی عصاره برگ با روش GC-Mass (شکل ۲ و جدول ۱) نشان داد دی اتیل فتالات یکی

بررسی شود. مطالعات میکروبی تکمیلی بر روی عصاره و اسانس فرولا / اوپودا، جهت تعیین حداقل غلظت مهاری انجام شود. نتایج این پژوهش نشان داد گیاه فرولا / اوپودا می‌تواند منبع خوبی برای تهیه مواد آنتی بیوتیک و علف‌کش‌های طبیعی باشد. ترکیبات متعدد و متنوع موجود در اندام‌های این گیاه نیز ظرفیت استفاده از آن برای تهیه داروهای جدید با منشأ گیاهی را نشان می‌دهد.

ترکیبات ارتباط داد. پژوهش‌های بیشتری برای یافتن کمترین غلظت مهاری و همچنین یافتن ماده‌ی مؤثره این گیاه لازم است. پیشنهاد می‌شود تأثیر آلوپاتی اندام‌های مختلف گیاه بر بذر خود گیاه، علف‌های هرز و گونه‌های زراعی دیگری نیز بررسی شود. خواص آنتی اکسیدانی اسانس و عصاره اندام‌های مختلف گیاه به روش‌های مختلف فعالیت آنتی اکسیدانی مانند پراکسیداسیون لیپیدی

منابع

- ۱- ایرانشاهی، م.، و همکاران ۱۳۸۸. خالص سازی و تعیین ساختمان ترکیبات موجود در ریشه کما (*Ferula ovina* Boiss)، فصلنامه گیاهان دارویی، سال نهم، دوره چهارم، شماره ۳۶، صفحات ۸۰-۷۲.
- ۲- شریفی یزدی، م.، و همکاران ۱۳۸۷. آت اکولوژی گونه *Ferula oopoda* (Boiss & Buhse) در استان کرمان، فصلنامه علمی- پژوهشی تحقیقات مرتع و بیابان ایران، جلد ۱۵، شماره ۴، صفحات ۴۵۴-۴۴۷.
- 3- Amiri, H., 2014. Chemical composition and antioxidant activity of essential oil and methanolic extracts of *ferula microcolea* (Boiss.) boiss (Apiaceae). International journal of food properties 17(4), PP: 722-730.
- 4- Ashrafpour, M., et al., 1394. Survey of the Antibacterial Properties of Aqueous Ethanolic and Methanolic Extraction of *Artemisia Annu* Around the City of Babol. Journal of Ilam University of Medical Sciences, 23(6), PP: 129-141.
- 5- Dehpour, A. A., et al., 2009. Antioxidant activity of the methanol extract of *Ferula assafoetida* and its essential oil composition, *Grasas y aceites*, 60(4), PP: 405-412.
- 6- Ibraheim, Z. Z., et al. 2012. Antimicrobial antioxidant daucane sesquiterpenes from *Ferula hermonis* Boiss. *Phytotherapy Research*, 26(4), PP: 579-586.
- 7- Kasaian, J., et al. 2014. Sesquiterpene lactones from *Ferula oopoda* and their cytotoxic properties, *Journal of Asian natural products research*, 16(3), PP: 248-253.
- 8- Kavooosi, G., and Rowshan, V., 2013. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of essential oil obtained from *Ferula assa-foetida* oleo-gum-resin: effect of collection time. *Food chemistry*, 138(4), PP: 2180-2187.
- 9- Nabavi, S. F., et al., 2010. Antioxidant activity of flower, stem and leaf extracts of *Ferula gummosa* Boiss, *Grasas y aceites*, 61(3), PP: 244-250.
- 10- Özek, G., et al., 2008. Composition and antimicrobial activity of the oils of *Ferula szowitsiana* DC, from Turkey. *Journal of Essential Oil Research*, 20(2), PP: 186-190.
- 11- Rashid, M. H., et al., 2010. The allelopathic potential of kudzu (*Pueraria montana*), *Weed Science* 58(1), PP: 47-55.
- 12- Razavi, S. M., et al., 2016. Ferulone A and ferulone B: two new coumarin esters from *Ferula orientalis*, L., roots., *Natural product research*, 30(19), PP: 2183-2189.
- 13- Sahebkar, A., and Iranshahi, M., 2011. Volatile constituents of the genus *Ferula* (Apiaceae): A review, *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 14(5), PP: 504-531.
- 14- Shahbazi, A., et al., 2011. Effect of Persian galbanum (*Ferula gummosa* L.) extract on seed germination and growth of some weeds, *African Journal of Agricultural Research*, 6(22), PP: 5106-5111.
- 15- Sharifiyazdi, M., et al., 1387. Autecology of *Ferula oopoda* (Boiss & Buhse) ". iranian journal of rangelands and desert research, 15(4), PP: 447-544.
- 16- Sodaeizade, H., and Hakimi Maybodi, M. H., 1389. Allelopathic Effects of *Capparis spinosa*, *Herttia angustifolia* and *Peganum harmala* on Germination] and Seedling Growth of Wheat and Alfalfa, *journal of Agricultural science and sustainable production*, 20(1), PP:181-189.

- 17- Zirak, S., et al., 2014. Study on allelopathic potential of Asafoetida (*Ferula assa*) medical plant on germination and seedling growth of *Cardaria draba* and *Plantago major*, International Journal of Agriculture and Crop Sciences, 7(10), PP: 724.743.
- 18- Znati, M., et al., 2017. Chemical Composition and In Vitro Evaluation of Antimicrobial, Antioxidant and Antigerminative Properties of the Seed Oil from the Tunisian Endemic *Ferula tunetana* Pomel ex Batt. Chemistry & biodiversity, 14(1), e1600116 p.
- 19- Zobel, A., and Brown, S., 1995. Coumarins in the interactions between the plant and its environment, Journal Allelopathy, 2(1), PP: 9-20.

Chemical Composition and Biological effects of (Koma) *Ferula oopoda*

Haidarizadeh M.,¹ Zareie S.,¹ Ashengroph M.¹ and Maroofi H.²

¹ Dept. of Biological Science, Faculty of Science, University of Kurdistan, Sanandaj, I.R. of Iran.

² Researcher, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Kurdistan, Sanandaj, I.R. of Iran.

Abstract

Consideration to Natural compounds that have antibiotic and allelopathic effects recently increased because they generally have fewer side effects. Studies on secondary metabolites and biological effects of compounds of other species of the *Ferula* have been carried out but there was no report in this regard about the *Ferula oopoda* in Iran. In this study, leaves chemical compositions of *Ferula oopoda* were identified and measured. Allelopathic effects of this plant on total germination, speed of germination, coefficient of the rate of germination indices, of wheat and rye seeds were investigated. Antioxidant properties and antimicrobial effects of leaf and root extract of *Ferula oopoda* were also measured. The results showed the aqueous leaf extract of *Ferula Oopoda* significantly reduces total germination, Speed of germination, Coefficient of the rate of germination in wheat and rye seeds. The results showed that the radical inhibitory potency and the antioxidant potential of the extract of Leaf and Root of *Ferula oopoda* are comparable to vitamin C. The results showed that the Relative inhibitory zone diameter of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* due to different concentrations of Leaf and Root of *Ferula oopoda* extract significantly confirms its antimicrobial effects. The analysis of the chemical composition of the *Ferula oopoda* leaf extract showed the presence of compounds such as alphaPinene, betamycin and caryophylline. Many of the biological effects can be attributed to these compounds. Thus, *Ferula oopoda* can be a good source for production of natural antibiotics and herbicides the numerous and varied compounds in the organs of this plant also show the capacity to use it for the preparation of new herbal remedies.

Key words: Allelopathy, Antimicrobial effects, Antioxidant potential, Germination indices