بررسی محتوای ترکیبات فنیل پروپانوئیدی شیرابه و ترکیبات شیمیایی اسانس گیاه آنغوزه (*Ferula assa-foetida* L.) در برخی رویشگاه‌های طبیعی استان کرمان

سعیده نصیری بزنجانی[۱]، رویا رضوی‌زاده[۱*] و حکیمه علومی[۲]

[۱] تهران، دانشگاه پیام نور، گروه زیست شناسی

[۲] کرمان، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، گروه اکولوژی

تاریخ دریافت: ۹۴/۸/۳ تاریخ پذیرش: ۹۴/۱۲/۸

چکیده

در این پژوهش محتوای فنل کل، فلاونوئیدها، آنتوسیانین‌ها، تانن‌ها و فرولیک اسید شیرابه گیاه آنغوزه (*Ferula assa-foetida* L.) در برخی از مراتع استان کرمان (چترود، حسین‌آباد، کشتوئیه، جوپار و ساردوئیه) بررسی شد. همچنین اسانس مورد استفاده در این پژوهش با استفاده از روش تقطیر با آب از شیرابه آنغوزه استخراج شد. سپس آنالیز اسانس با استفاده از دستگاه کروماتوگراف گازی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC-MS) منجر به شناسایی ۵۱ ترکیب شد. عمده‌ترین ترکیبات در کل مناطق شامل: (E)ـ ۱ـ پروپنیل Secـ بوتیل دی سولفید، nـ پروپیل secـ بوتیل دی سولفید، (Z)ـ بتا اوسیمن و بتاـ پینن بودند. از مقایسه میانگین ترکیبات مؤثر شیرابه‌ها نشان داد که بیشترین مقدار فنل کل و فرولیک اسید در چترود، بیشترین محتوای تانن در کشتوئیه و بیشترین محتوای آنتوسیانین در ساردوئیه به دست آمد. همبستگی این ترکیب‌ها و عوامل محیطی نشان داد که بین متوسط ارتفاع از سطح دریاو محتوای تانن‌ها همبستگی منفی وجود دارد ولی بین متوسط ارتفاع و فنل کل (و فرولیک اسید) همبستگی مثبت و معنی‌دار در سطح ۵٪ مشاهده شد. کشتوئیه با بیشترین درصد ترکیبات سولفیدی بهترین کیفیت اسانس را نشان داد.

واژه‌های کلیدی: آنغوزه (*Ferula assa-foetida* L.)، شیرابه، ترکیب‌های فنلی، اسانس، عوامل محیطی

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۳۳۶۷۸۲۱۸ ، پست الکترونیکی: razavi.roya@gmail.com

مقدمه

گیاه آنغوزه (*Ferula assa-foetida* L.) از جمله گیاهان دارویی محسوب می‌شود که به دلیل وجود ترکیبات شیمیایی مختلف از دیرباز در درمان بیماری‌ها از آن استفاده می‌شده است. این گیاه گونه‌ای متعلق به جنس *Ferula* و خانواده چتریان (Umbeliferae) است (۴۹) و از گیاهان دارویی مشهور در هند، افغانستان و ایران می‌باشد (۷). اکثراً در مناطقی با ارتفاع حدود۱۹۰ تا ۲۴۰۰ متر، شیب ۱۵ تا ۷۰ درصد و میانگین بارندگی سالانه ۲۵۰ تا ۳۵۰ میلی-متر رویش می‌یابد (۵۴). که به صورت علفی و چندساله می‌باشد و تقریباً تا طول دو متر رشد می‌کند. از تیغ زدن ریشه آن شیرابه‌ای شیری رنگ بدست می‌آید که به صورت توده‌ای با بویی شبیه گوگرد و دارای مزه‌ای تلخ می‌باشد. این شیرابه شامل سه بخش مهم رزین (۶۴-۴۰ درصد)، صمغ (۲۵ درصد) و اسانس (۱۰-۷ درصد) می‌باشد (۳۰). قسمت رزین حاوی اسید فرولیک به همراه استرهای آن، کومارین‌ها، سسکوئی‌ترپن کومارین‌ها و دیگر ترپنوئیدها، قسمت صمغ شامل گلوکوز، گالاکتوز، Lـ آرابینوز، رامنوز، اسید گلوکرونیک ، پلی ساکاریدها و گلیکوپروتئین‌ها و قسمت اسانس نیز حاوی ترکیبات سولفوری، مونوترپن‌ها و دیگر ترپنوئیدهای فرار می‌باشد (۳۰). **خواص درمانی**

آن شامل اثر ضد باروری (۳۶)، آنتی‌اکسیدانی (۲۰)، ضد دیابت (۱۰)، ضد فشارخون (۲۳)، ضد زخم معده (۱۳)، ضد سرطان (۵۳) و غیره است.

عواملی چون درجه حرارت، میزان بارندگی، شدت نور و ارتفاع از سطح دریا که تعیین کننده اقلیم یک منطقه هستند، از جمله مهمترین عوامل محیطی تأثیرگذار در تجمع ترکیبات مؤثره (متابولیت‌های ثانویه) در گیاهان می‌باشند (۱۹). گزارش‌هایی مبنی بر وجود همبستگی بالا بین منشأ جغرافیایی گیاهان و ترکیبات مؤثره گزارش شده است (۱۷). گیاهان در طول زندگی خود توسط آفات و بیماری-های زیادی از جمله علف‌خوارها، نماتدها، قارچ‌ها و باکتری‌ها مورد حمله قرار می‌گیرند. لذا برای دفاع از خود، دو سازگار دفاعی مکانیکی (تولید خارها و کرک‌های سخت، اجسام سیلیسی، سلولز و لیگنین) و شیمیایی (تولید متابولیت‌های ثانویه مانند آلکالوئیدها، گلوکوزینولات‌ها و فنل‌ها) را اتخاذ می‌کنند. (۳۹).

پیش‌ماده‌های ساختاری متابولیت‌های ثانوی از متابولیت‌های اولیه (نوکلئیک اسیدها، آمینو اسیدها، کربوهیدرات‌ها، چربی‌ها و غیره) از طریق سه مسیر اصلی استات – مالونات (خاص تولید فنل‌ها و آلکالوئیدها)، استات – موالونات (ترپن‌ها، استروئیدها و آلکالوئیدها) و اسید شیکمیک (فنل‌ها، تانن‌ها و آلکالوئیدهای فرار) حاصل می-شوند (۳۴). آنزیم فنیل‌آلانین‌آمونیا لیاز (PAL) نقش کلیدی در تنظیم محصولات حاصل از مسیر فنیل پروپانوئیدی ایفا می‌کند (۱۵). متابولیت‌هایی که در نتیجه فعالیت PAL به وجود می‌آیند به عنوان مشتقات فنلی طبقه‌بندی می‌شوند. ترکیبات اولیه و ساده‌ی فنیل‌پروپانوئیدی که از اسید - سینامیک مشتق می‌شوند دارای ساختمان کربنی C6-C3 می‌باشند و شامل کافئیک اسید، فرولیک اسید، سیناپیک - اسید و کومارین‌های اولیه هستند (۴). ترکیب‌های فنلی در بسیاری از گیاهان وجود داشته و اهمیت زیادی در سلامت انسان دارند (۳۳).

روغن‌های اسانسی (ترپن‌ها) از دیگر متابولیت‌های ثانویه گیاهان، غنی از ترکیبات با هسته مرکزی ایزوپرنی‌اند و به صورت دی‌ترپن، تری‌ترپن و تتراترپن می‌باشند (۲۲). بسیاری از اسانس‌ها به عنوان ضد باکتری، ضد قارچ، ضد ویروس، ضد افسردگی، آرام‌بخش و محرک به کار برده می‌شوند (۲۶). اسانس آنغوزه نیز اثرات دارویی مختلف دارد. از جمله اثر ضد تشنجی (به دلیل حضور ترکیباتی مثل آلفاـ پینن و بتاـ پینن)، آنتی اکسیدانی و ضد باکتری اسانس آنغوزه (۵۱ و۳۲) دارند.

تاکنون بر روی ترکیبات گونه‌های این جنس کارهای گوناگونی از جمله شناسایی سسکوئی ترپن‌ها، کومارین‌ها، ترکیبات گوگردی (۲۷، ۲۸ و ۲۹) و ترکیبات کربوهیدراتی (۶) صورت گرفته است. همچنین بررسی پراکنش جغرافیایی و ترکیبات مؤثره موجود در صمغ ریشه گیاه آنغوزه برای اولین بار در ایران (۷)، مقایسه ترکیبات اسانس شیرابه آنغوزه بین دو منطقه یزد و طبس (۲۵) و برخی از مناطق استان کرمان (۱)، ولی به طور خاص تحقیقی در رابطه با مقایسه میزان ترکیبات فنیل پروپانوئیدی این گیاه در رویشگاه‌های مختلف ایران صورت نگرفته است. هدف از انجام این پژوهش بررسی میزان برخی از مواد مؤثره موجود در شیرابه آنغوزه در پنج مرتع استان کرمان با شرایط کلیماتیکی متفاوت می‌باشد، تا بهترین رویشگاه از نظر هر کدام از این ترکیب‌ها مشخص شود. با استفاده از نتایج این پژوهش، نیازهای اکولوژیکی مناسب جهت تولید بیشتر متابولیت‌ها مشخص می‌شود که می‌توان گیاهانی با کیفیت بالا در شرایط آزمایشگاهی تولید نمود.

مواد و روشها

جمع آوری نمونه‌های گیاهی و اطلاعات رویشگاهی: در ابتدا با مراجعه به اداره کل منابع طبیعی استان کرمان پنج مرتع آنغوزه به صورت کاملاً تصادفی انتخاب و سپس با استفاده از سیستم موقعیت یاب جهانی (GPS) مشخصات رویشگاه‌ها از قبیل ارتفاع، طول و عرض جغرافیایی ثبت

شد. سپس در هر مرتع در زمان برداشت شیرابه‌ها که از اوایل مرداد ماه آغاز می شود، با استفاده از روش حلزونی با محور قرار دادن گونه مورد نظر اقدام به جمع‌آوری نمونه‌ها گردید. نمونه‌ها که شیرابه حاصل از برش عرضی ریشه گیاه آنغوزه بودند تا زمان انجام آزمایشات در فریزر نگهداری شدند.

تعیین میزان متوسط بارندگی و دمای سالانه: گرادیان بارندگی در استان کرمان به علت نحوه استقرار سلسله کوه-های جبال‌بارز، کوه لاله‌زار، کوه هزار و جهت جبهه مرطوب دارای گرادیان مشخص و یکسانی نیست، به همین جهت به طور کلی گرادیان بارندگی در استان به چهار گروه تقسیم می‌شود (۱). در این تحقیق از اطلاعات مربوط به گروه سوم (ارتفاعات مکزی استان) و چهارم (شمال و شرق استان) که شامل رویشگاه‌های مورد مطالعه آنغوزه بودند، جهت تعیین میزان متوسط بارندگی سالانه استفاده شد. بررسی دمای متوسط سالانه نیز در مراتع مورد مطالعه با استفاده از رابطه (۱) محاسبه گردید. در این رابطه H معرف متوسط ارتفاع و T_{mean} معادل میزان متوسط دمای سالانه می‌باشد (۱).

$$T_{mean}= ۲۸/۵۴ – ۶/۹۲ \times ۱۰^{-۳} H \pm ۱/۶۱$$ رابطه (۱)

جدول ۱- مشخصات رویشگاه‌های مورد مطالعه آنغوزه

مناطق بر اساس گرادیان بارندگی (استان کرمان)	رابطه محاسبه میزان متوسط بارندگی	رویشگاه‌ها	متوسط ارتفاع (m)	متوسط بارندگی سالانه (mm)	متوسط دمای سالانه (˚c)
ارتفاعات مرکزی	P= ۶۷/۶ + ۰/۰۴۱ Elev ± ۳۴	ساردوئیه (نزدیک دهستان گور)	۲۲۹۹	۱۶۲±۳۴	۱۲/۶۳±۱/۶۱
		جوپار	۲۴۵۰	۱۶۸±۳۴	۱۱/۵ ±۱/۶۱
شمال و شرق	P= ۱/۷ + ۰/۰۶ Elev ± ۲۴/۴	حسین‌آباد	۲۹۴۵	۱۷۸±۲۴/۴	۸/۱۶±۱/۶۱
		چترود (تیکدر)	۲۴۸۲	۱۵۰±۲۴/۴	۱۱/۳۶±۱/۶۱
		کشتوئیه	۱۶۲۷	۹۹±۲۴/۴	۱۷/۲۸±۱/۶۱

Elev معرف متوسط ارتفاع می‌باشد.

تعیین محتوای ترکیبات فنیل پروپانوئیدی: اندازه‌گیری محتوای فنل کل: برای سنجش محتوای فنل کل از روش فولین سیوکالتیو (۵۵)، با اعمال کمی تغییرات استفاده گردید. ۰/۰۵ گرم شیرابه انغوزه بدست آمده در هر منطقه (با سه تکرار) با ۲/۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد مخلوط و به مدت ۲۴ ساعت در اتاق تاریک قرار داده شد. مقدار ۱ میلی‌لیتر از محلول رویی با ۱ میلی‌لیتر اتانول مخلوط و با آب دوبار تقطیر به حجم ۵ میلی‌لیتر رسانده شد. به هر لوله آزمایش به ترتیب ۰/۵ میلی‌لیتر معرف فولین سیوکالتیو ۵۰ درصد و ۱ میلی‌لیتر محلول کربنات سدیم ۵ درصد اضافه شد. لوله‌ها به مدت یک ساعت در محل تاریکی قرار گرفتند و سپس شدت جذب هر کدام در طول موج ۷۲۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر UV-Visible مدل Cary 50 قرائت شد. تعیین غلظت فنل کل نمونه‌ها توسط معادله خطی به دست آمده از منحنی استاندارد اسید گالیک ($y= ۱۱۲/۸۲x - ۱۱/۸۷۱، r^2= ۰/۹۸۴۸$) انجام شد.

اندازه‌گیری محتوای اسید فرولیک: غلظت فرولیک اسید از روش به کار رفته توسط Jadhav و همکاران (۲۰۱۲) با کمی تغییرات سنجیده شد. مقدار ۴ گرم شیرابه در ۱۵ میلی‌لیتر متانول خالص ۹۶ درصد حل شد. از فیلتر و تبخیر حلال، پسماند قهوه‌ای رنگی بدست آمد. ۰/۰۵ گرم از پسماند حاصل با متانول ۲۰ درصد به حجم ۲۵ میلی‌لیتر رسانده و از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ عبور داده شد. ۱ میلی‌لیتر از عصاره فیلتر شده در لوله آزمایش ریخته و ۰/۵ میلی‌لیتر معرف فولین سیوکالتیو ۵۰ درصد و ۲ میلی‌لیتر محلول کربنات سدیم ۱۵ درصد آن به اضافه شد. با آب

مقطر به حجم نهایی ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس شدت جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۱۸ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر UV-Visible مدل Cary 50 قرائت شد. جهت تعیین غلظت نمونه‌ها از معادله به دست آمده از منحنی استاندارد اسید فرولیک (r^2= ۰/۹۹۱۳، ۰/۰۰۸ - y= ۰/۰۵۷۴x) استفاده شد.

اندازه‌گیری محتوای تانن: این سنجش بر اساس روش Luthar (۱۹۹۲) انجام گرفت. مقدار ۰/۱ گرم شیرابه با ۵ میلی‌لیتر متانول خالص در هاون خوب سائیده، سپس عصاره حاصل به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۳۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ گردید. مقدار ۲۰۰ میکرولیتر از بخش محلول با ۲ میلی‌لیتر معرف وانیلین (وانیلین ۱٪، HCl ۸٪ با نسبت ۵۰:۵۰ در متانول) مخلوط گردید. پس از گذشت ۱۵ دقیقه شدت جذب نمونه‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتر UV-Visibleمدل Cary 50 در طول موج ۵۰۰ نانومتر خوانده شد و محتوای تانن بر اساس شدت جذب بیان گردید.

اندازه‌گیری محتوای آنتوسیانین‌ها: مقدار ۰/۰۵ گرم شیرابه با ۱۰ میلی‌لیتر متانول اسیدی (الکل متیلیک ۹۹/۵ و اسید کلریدریک خالص به نسبت ۹۹ به ۱) عصاره‌گیری شد و عصاره بدست آمده به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی در دمای اتاق قرار گرفت. پس از گذشت ۲۴ ساعت عصاره‌ها به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ و شدت جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۵۰ نانومتر خوانده شد. جهت محاسبه غلظت آنتوسیانین‌ها از فرمول A= εbc استفاده شد. در این فرمول: A معادل با میزان جذب خوانده شده در طول موج ۵۵۰ نانومتر، ε برابر با ضریب خاموشی (Mm^{-1} cm^{-1} ۳۳۰۰۰)، b معادل با عرض کووت (۱سانتیمتر) و c نیز برابر با مقدار آنتوسیانین می‌باشد (۵۸). در نهایت میزان آنتوسیانین بر حسب نانومول بر گرم وزن خشک شیرابه بیان شد.

اندازه‌گیری محتوای فلاونوئیدها: برای این سنجش از هر منطقه ۰/۰۵ گرم شیرابه با ۵ میلی‌لیتر اتانول اسیدی (اتانول: اسید استیک، ۹۹ به ۱) عصاره‌گیری و عصاره حاصل به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ گردید. محلول رویی جدا و سپس نمونه‌ها در حمام آب ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ده دقیقه قرار داده شدند. در ادامه شدت جذب نمونه‌ها در طول موج‌های ۲۷۰، ۳۰۰ و ۳۳۰ نانومتر قرائت گردید و نتایج براساس شدت جذب خوانده شده بیان شد (۳۸).

استخراج اسانس و جداسازی ترکیبات اسانس: برای استخراج اسانس از روش تقطیر با بخار آب توسط دستگاه کلونجر استفاده شد. مرحله اسانس‌گیری برای هر نمونه (۲۰ گرم) به مدت ۴ ساعت طول کشید. سپس اسانس‌های جمع‌آوری شده توسط سولفات سدیم آب‌گیری و تا زمان انجام آنالیزهای کیفی در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در ظرف‌های مخصوص نگهداری شدند. به منظور آنالیز اسانس از دستگاه گاز کروماتوگراف متصل به طیف‌سنج جرمی (GC–MS) مدل (Agillent Technologies – 5975C) مجهز به ستون HP-5 MS به طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه نازک ۰/۲۵ میکرومتر استفاده شد. دمای آون از ۶۰ درجه سانتی‌گراد تا ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۵ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه افزایش یافت و به مدت ۱۰ دقیقه در ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد نگه داشته شد. از گاز حامل هلیوم با سرعت جریان ۱/۱ میلی‌لیتر بر دقیقه و از انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت استفاده گردید (۱۹). شناسایی ترکیب‌های اسانس با استفاده از شاخص‌های بازداری (که با تزریق هیدروکربن‌های نرمال C9-C20 تحت شرایط یکسان با تزریق اسانس‌ها صورت گرفته بود) و بررسی طیف‌های جرمی ترکیب‌ها و مقایسه آنها با طیف‌های جرمی پیشنهادی توسط کتابخانه‌های کامپیوتر دستگاه GC–MS و همچنین با مقایسه طیف‌های جرمی ترکیب‌های استاندارد موجود در کتاب Adams (۲۰۰۷) انجام شد.

آنالیزهای آماری: تجزیه و تحلیل داده‌های این پژوهش با استفاده از نرم‌افزار آماری $SPSS_{16}$ انجام شد. مقایسه میانگین‌ها توسط آنالیز واریانس یک‌طرفه و بررسی اختلاف بین میانگین‌ها توسط آزمون دانکن در سطح $P<۰/۰۵$ انجام شد. برای آنالیز و محاسبه همبستگی از ضریب همبستگی پیرسون استفاده شد.

نتایج

محتوای ترکیبات فنیل پروپانوئیدی: فنل کل: مقایسه میانگین محتوای فنل کل در رویشگاه‌های مورد مطالعه (شکل ۳ـ الف) نشان داد که بیشترین میزان فنل کل در چترود و بعد در حسین‌آباد قرار دارد. مراتع ساردوئیه، کشتوئیه و جوپار از نظر محتوای فنل کل تفاوتی با هم نشان ندادند.

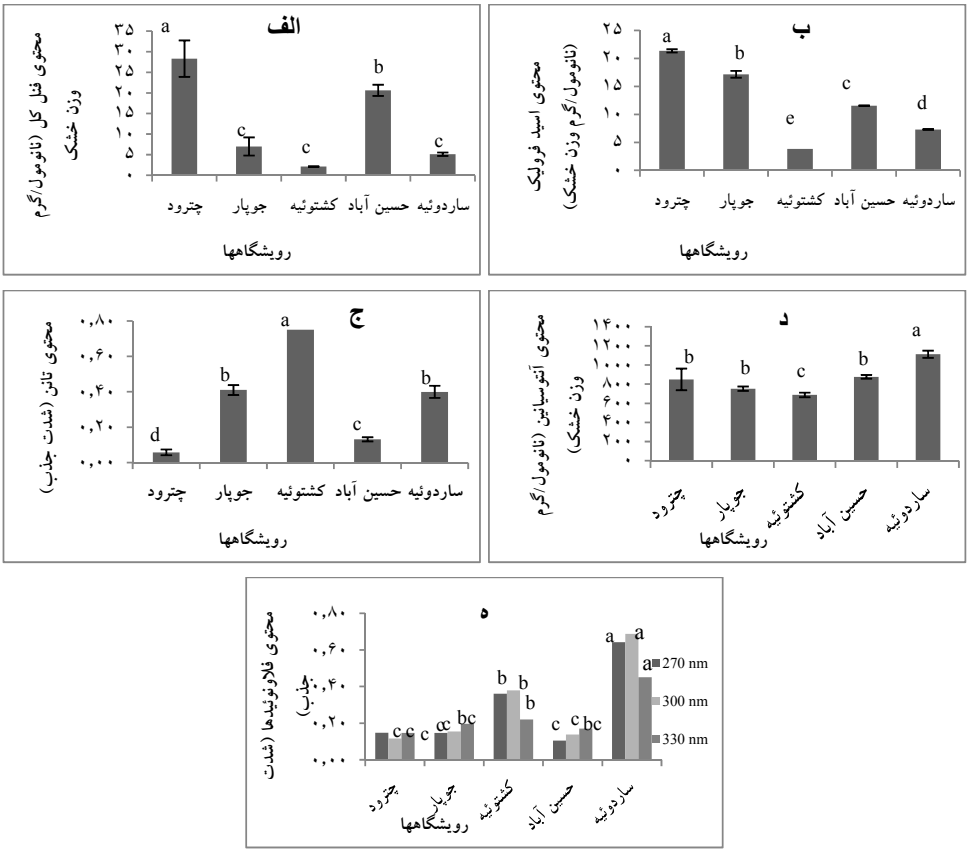
اسید فرولیک: شیرابه‌های به دست آمده از چترود و کشتوئیه به ترتیب بیشترین و کمترین مقدار اسید فرولیک را نشان دادند. جوپار نیز بعد از چترود بیشترین مقدار را داشت. مراتع حسین‌آباد و ساردوئیه به ترتیب بعد از جوپار قرار گرفتند (شکل ۳ـ ب). مشابه اسید فرولیک، در چترود بیشترین و در کشتوئیه کمترین میزان فنل کل مشاهده شد.

تانن: بالاترین میزان تانن در کشتوئیه و کمترین میزان نیز در چترود مشاهده شد. اختلاف مقدار تانن بین این دو مرتع قابل توجه بود. ساردوئیه و جوپار که از این نظر تفاوتی نداشتند بعد از کشتوئیه بیشترین مقدار را نشان دادند. (شکل ۳ـ ج).

آنتوسیانین‌ها: بیشترین و کمترین میزان آنتوسیانین‌ها به ترتیب در ساردوئیه و کشتوئیه مشاهده شد. حسین‌آباد، چترود و جوپار از نظر محتوای آنتوسیانین‌ها تفاوتی نشان ندادند و بعد از ساردوئیه قرار گرفتند (شکل ۳ـ د).

فلاونوئیدها: بیشترین میزان فلاونوئیدها در شیرابه‌های مربوط به ساردوئیه مشاهده شد. این منطقه بیشترین آنتوسیانین را نیز داشت. کمترین مقدار نیز با طول موج‌های ۲۷۰ و ۳۰۰ نانومتر در حسین‌آباد مشاهده شد. در طول موج‌های۲۷۰ و ۳۰۰ نانومتر چترود، جوپار و حسین‌آباد تفاوتی با هم نداشتند. از طرفی در طول موج ۳۳۰ نانومتر نیز حسین‌آباد و جوپار شبیه هم و بعد از کشتوئیه قرار گرفتند و چترود کمترین مقدار را نشان داد (شکل ۳ـ ه).

همبستگی ترکیبات فنیل پروپانوئیدی و عوامل محیطی: همبستگی بین عوامل محیطی و متابولیت‌های ثانویه شیرابه آنغوزه **در رویشگاه‌های مورد مطالعه** (جدول ۲) مشخص کرد که محتوای تانن با متوسط دمای سالانه همبستگی مثبت (r= ۰/۸۶۴) ولی با متوسط بارندگی سالانه و ارتفاع همبستگی منفی (به ترتیب r= −۰/۷۲۷ و r= −۰/۸۶۶) داشته است، به‌طور کل با افزایش ارتفاع و به تبع آن افزایش بارندگی و کاهش دما، محتوای تانن شیرابه‌ها کاهش یافته بود، از طرفی مقدار اسید فرولیک و فنل کل با ارتفاع همبستگی مثبت (به ترتیب با ضرایب r= ۰/۵۶۱ و r= ۰/۶۳۲) و با متوسط دمای سالانه همبستگی منفی (به ترتیب با ضرایب r= −۰/۵۶۵ و r= −۰/۶۲۸) و معنی‌دار در سطح ۵٪ نشان دادند. همچنین نتایج همبستگی حاکی از وجود همبستگی مثبت بین مقدار آنتوسیانین‌ها و فلاونوئیدها بود. محتوای اسید فرولیک با محتوای فنل کل همبستگی مثبت (r= ۰/۶۹۳) و معنی‌داری در سطح ۵٪ ولی با محتوای تانن همبستگی منفی (r= −۰/۷۳۷) و معنی‌دار در سطح ۱٪ نشان داد. همبستگی منفی و معنی‌داری بین محتوای اسید فرولیک و فلاونوئیدها مشاهده شد. محتوای تانن با محتوای فنل کل همبستگی منفی (r= −۰/۸۶۳) و معنی‌داری در سطح ۵٪ داشت. یعنی با افزایش تانن محتوای فنل کل کم شده بود.



شکل۱- محتوای متابولیت های ثانویه شیرابه گیاه آنغوزه رویش یافته در پنج رویشگاه طبیعی استان کرمان، الف) فنل کل، ب) اسید فرولیک، ج) تانن-ها، د) آنتوسیانین‌ها و ه) فلاونوئیدها (حروف متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۹۵٪ می‌باشند).

جدول ۲- ضرایب همبستگی بین عوامل محیطی و متابولیت‌های ثانویه در رویشگاه‌های مورد مطالعه

	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰
۱. فنل کل (mg/ml)	۱									
۲. تانن (٪)	-۰/۸۶۳**	۱								
۳. اسید فرولیک (µg/ml)	-۰/۶۹۳**	-۰/۷۳۷**	۱							
۴. فلاونوئید (۲۷۰nm)	-۰/۵۶۵*	۰/۴۶۶	-۰/۶۴۰*	۱						
۵. فلاونوئید (۳۰۰nm)	-۰/۶۱۲*	۰/۴۸۵	-۰/۶۹۱**	۰/۹۸۶**	۱					
۶. فلاونوئید (۳۳۰nm)	-۰/۵۵۲*	۰/۳۲۲	-۰/۵۲۳*	۰/۹۰۰**	۰/۹۲۷**	۱				
۷. آنتوسیانین (nM)	۰/۱۶	-۰/۳۰۴	-۰/۰۹۵	۰/۵۲۶*	۰/۵۴۵*	۰/۶۵۶**	۱			
۸. متوسط دما (°C)	-۰/۶۲۸*	۰/۸۶۴**	-۰/۵۶۵*	۰/۴۸۹	۰/۴۵۵	۰/۲۳	-۰/۳۰۸	۱		
۹. متوسط بارندگی (mm)	۰/۳۸۷	-۰/۷۲۷**	۰/۴۹۶	-۰/۲۵۰	-۰/۲۱۳	۰/۰۵۳	۰/۴۵۳	-۰/۹۲۸**	۱	
۱۰. متوسط ارتفاع (m)	۰/۶۳۲*	-۰/۸۶۶**	۰/۵۶۱*	-۰/۴۸۶	-۰/۴۵۲	-۰/۲۲۸	۰/۳۱۲	-۱/۰۰۰**	۰/۹۲۶**	۱

** و * به ترتیب در سطح احتمال ۱ و ۵ ٪ معنی‌دار هستند.

ترکیبات شیمیایی اسانس: طبق نتایج به دست آمده از جدول ۳ مشخص شد که در پنج جمعیت مورد مطالعه در مجموع ۵۱ ترکیب در اسانس شیرابه آنغوزه‌ها شناسایی شده است. عمده‌ترین ترکیبات در کل مناطق شامل: (E)ـ ۱ـ پروپنیل Secـ بوتیل دی سولفید، nـ پروپیل secـ بوتیل دی سولفید، (Z)ـ بتا اوسیمن و بتاـ پینن بودند.

درجوپار ۳۲ ترکیب شناسایی شد که ۹۶/۲۶ درصد کل ترکیبات اسانس آن منطقه را تشکیل داد. بیشترین ترکیب این منطقه مربوط به nـ پروپیل secـ بوتیل دی سولفید (۴۴/۸۲ درصد) بود. ترکیبات کوپائن و توجپسن مختص این منطقه بودند. در اسانس نمونه‌های به دست آمده از حسین آباد ۳۱ ترکیب (۹۲/۶۹ درصد از کل اسانس) شناسایی شد. (E)ـ ۱ـ پروپنیل Secـ بوتیل دی سولفید بیشترین ترکیب (۴۷/۴۴ درصد) بود. در مناطق حسین‌آباد، کشتوئیه، ساردوئیه و چترود به ترتیب ۳۱ (۹۲/۶۹ درصد)، ۲۴(۹۵/۷۹ درصد)، ۳۴ (۹۷/۵۷ درصد) و ۳۰ (۷۹/۴۴ درصد) ترکیب در کل اسانس به دست آمده از هر منطقه شناسایی شد. در اسانس هر یک از این مناطق (E)ـ ۱ـ پروپنیل Secـ بوتیل دی سولفید به ترتیب بیشترین درصد (۴۷/۴۴، ۶۳/۹۶، ۵۵/۴ و ۴۲/۲۵) کل ترکیبات را به خود اختصاص داد.

۱۵ ترکیب در تمامی این مراتع شامل آلفاـ پینن، بتاـ پینن، میرسن، دکان، ۲، ۳،۴ـ تری میل تیوفن، لیمونن، (Z)ـ بتا اوسیمن، آلفاـ ترپینولن، nـ پروپیل secـ بوتیل دی سولفید، دو دکان، (E)ـ ۱ـ پروپنیل Secـ بوتیل دی سولفید، bis (۱ـ متیل پروپیل) دی سولفید ، تترا دکان، آلفاـ کادینن و هگزادکان به طور مشترک وجود داشت.

بعضی از ترکیب‌ها نیز فقط محدود به یک مرتع بودند. به طور مثال تری سایکلین، Dـ جرماکرن و اپی زونارن فقط در حسین‌آباد، ۴ـ اتیل اوکتان و ژرانیل پروپانیوآت در کشتوئیه، ۵، ۵، دی متیل پیرازولیدین ...، دی پروپیل دی - سولفید، تری دکان، بتا کامیژرن و بتا سیلن در ساردوئیه و پلجون، کارواکرول، اسپاتولن، بوتیل فتالید و اسید هگزانوئیک در چترود دیده شدند.

درصد مجموع ترکیبات سولفیدی اسانس شیرابه آنغوزه در مراتع مورد مطالعه نشان داد که مرتع کشتوئیه بالاترین (۵۷/۶۲) و مرتع ساردوئیه پایین‌ترین (۳/۷۸) درصد مجموع این ترکیبات سولفیدی را دارند.

جدول ۳- نتایج تجزیه اسانس شیرابه ۵ رویشگاه آنغوزه مورد مطالعه در استان کرمان

ردیف	ترکیب‌ها	شاخص بازداری	مقدار ترکیب‌ها در مناطق مختلف (٪)				
			جوپار	حسین آباد	کشتوئیه	ساردوئیه	چترود
۱	3,4-Dimethylthiophene	۹۰۵	۰/۰۵	–	–	۰/۰۵	–
۲	5,5-Dimethylpyrazolidin-3-one	۹۱۵	–	–	–	۰/۰۳	–
۳	Tricyclene	۹۲۶	–	۰/۰۵	–	–	–
۴	α-pinene	۹۳۳	۲/۶۹	۵/۹۲	۱/۳۹	۱/۱	۲/۱۴
۵	Camphen	۹۴۷	۰/۰۹	۰/۱۳	–	۰/۱۶	–
۶	4-Ethyloctane	۹۵۳	–	–	۰/۲۱	–	–
۷	3-methyl Nonane	۹۶۹	۰/۱۱	۰/۱۳	۰/۵۸	–	۰/۱۶
۸	β-pinene	۹۷۵	۴/۲۶	۱۳/۹	۳/۰۰	۱۵/۶۹	۳/۴۵
۹	Myrcene	۹۹۰	۱/۰۱	۱/۴۲	۰/۷	۱/۴	۰/۷۸
۱۰	Decane	۹۹۹	۲/۲۹	۳/۱۲	۱۱/۹۴	۱/۰۲	۳/۵۵
۱۱	α-phellandrene	۱۰۰۳	۱/۹۱	۱/۶۱	–	–	۱/۷۲
۱۲	2,3,4-Trimethylthiophene	۱۰۱۲	۰/۹۴	۰/۵۶	۰/۳۷	۰/۶۲	۰/۵۷
۱۳	α-terpinene	۱۰۱۶	۰/۰۸	۰/۱	–	۰/۰۴	۰/۱۸

۱۴	Para-cymene	۱۰۲۳	۰/۲۹	۰/۲۳	–	–	۰/۲۴
۱۵	Limonene	۱۰۲۹	۲/۵۹	۲/۳۶	۰/۵۵	۰/۵۱	۲/۲۵
۱۶	(Z)- β-ocimene	۱۰۴۵	۲۳/۸۷	۱۲/۴۷	۳/۹۹	۱۷/۳۴	۱۰/۹۱
۱۷	γ-terpinene	۱۰۵۹	۰/۱۱	۰/۱۵	–	۰/۰۶	–
۱۸	α-terpinolene	۱۰۸۸	۰/۵	۰/۵۶	۰/۹۲	۰/۴۱	۰/۷۳
۱۹	Dipropyl disulfide	۱۱۰۷	–	–	–	۰/۱۶	–
۲۰	Tetramethylthiophene	۱۱۱۸	۰/۲۸	۰/۱۵	–	۰/۰۷	۰/۲۴
۲۱	Alloocimene	۱۱۳۰	۱/۱۸	۰/۷۱	۰/۱۹	۰/۶۶	–
۲۲	Pulegone	۱۱۴۰	–	–	–	–	۱/۷۱
۲۳	n-propyl sec-butyl disulfide	۱۱۶۳	۴۴/۸۲	۰/۵۳	۰/۶۳	۰/۷۵	۰/۳۵
۲۴	(E)-1-propenyl sec-butyl disulfide	۱۱۷۲	۶/۳۸	۴۷/۴۴	۶۳/۹۶	۵۵/۴	۴۲/۲۵
۲۵	Dodecane	۱۲۰۰	۰/۶۸	۰/۰۷	۳/۰۱	۰/۳۳	۰/۹۴
۲۶	bis(1-methyl propyl) disulfide	۱۲۱۲	۰/۲۸	۰/۵۳	۰/۸۶	۰/۵۷	۰/۴۵
۲۷	Carvacrol	۱۲۶۰	–	–	–	–	۱/۳۸
۲۸	Tridecane	۱۳۰۰	–	–	–	۰/۰۵	–
۲۹	(E)-3-Tetradecene	۱۳۹۲	۰/۰۹	۰/۱	۰/۲۲	۰/۱۴	–
۳۰	Tetradecane	۱۳۹۹	۰/۱۹	۰/۲۶	۰/۸۵	۰/۲۲	۰/۳۲
۳۱	Copaene	۱۴۲۰	۰/۱۱	–	–	–	–
۳۲	Selin-4,7(11)-diene	۱۴۵۲	–	–	۰/۵۶	۰/۱۳	۰/۲۷
۳۳	α-humulene	۱۴۶۲	–	–	۰/۴	–	۰/۲۳
۳۴	(+)-Epi-bicyclosesquiphellandrene	۱۴۷۱	۰/۰۹	۰/۰۶	–	۰/۰۴	–
۳۵	Germacrene D	۱۴۷۴	–	۰/۰۸	–	–	–
۳۶	β-Chamigrene	۱۴۸۵	–	–	–	۰/۰۳	–
۳۷	beta.-Selinene	۱۴۹۲	–	–	–	۰/۰۴	–
۳۸	Cadina-1-4-diene	۱۴۹۸	۰/۱۱	۰/۱	–	۰/۱۱	–
۳۹	Epizonarene	۱۵۰۲	–	۰/۱۳	–	–	–
۴۰	β-dihydro Agarofuran	۱۵۰۶	۰/۱۲	–	–	۰/۱۱	–
۴۱	β-bisabolene	۱۵۱۳	۰/۱	–	–	۰/۰۷	–
۴۲	γ –cadinene	۱۵۲۰	۰/۱۵	۰/۱۸	۰/۳	۰/۰۹	–
۴۳	δ-cadinene	۱۵۳۰	۰/۲۱	۰/۱۸	۰/۲۶	۰/۱۲	۰/۱۸
۴۴	(E)- γ- bisabolene	۱۵۳۹	–	۰/۱۱	۰/۲۹	–	۰/۱۶
۴۵	cis-Thujopsene	۱۵۴۰	۰/۰۶	–	–	–	–
۴۶	Aristolene	۱۵۴۶	–	–	–	۰/۰۲	–
۴۷	Spathulenol	۱۵۷۹	–	–	–	–	۰/۰۶
۴۸	Hexadecane	۱۶۰۰	۰/۰۶	۰/۰۶	۰/۲۸	۰/۰۳	۰/۱۱
۴۹	Geranyl propionate	۱۶۱۳	–	–	۰/۳۳	–	–
۵۰	Butylphthalide	۱۷۵۰	–	–	–	–	۰/۱۷
۵۱	Hexadecanoic acid	۱۹۶۶	–	–	–	–	۰/۲
۵۲	تعداد ترکیبات شناخته شده	–	۳۲	۳۱	۲۴	۳۴	۳۰
۵۳	درصد ترکیبات شناخته شده	–	۹۶/۲۶	۹۲/۶۹	۹۵/۷۹	۹۷/۵۷	۷۹/۴۴

بحث و نتیجه‌گیری

امروزه ترکیب‌های شناسایی شده در گیاهان به عنوان داروهای جدید مورد استفاده قرار می‌گیرند و می‌توانند به عنوان کلیدی برای شناسایی روش‌های درمانی کم‌هزینه و دارای عوارض جانبی کمتر در درمان بسیاری از بیماری‌ها به‌کار روند. در واقع شناسایی گیاهان متنوعی که در طبیعت وجود دارند همراه با مطالعه خصوصیات دارویی آنها به‌دین منظور مهم می‌باشد (۱۴). تعیین بهترین کیفیت دارویی اصل مهمی محسوب می‌شود، باید در نظر داشت که کیفیت گیاهان دارویی با توجه به ویژگی‌های ژنتیکی، بیوماس گیاهی و محتوای متابولیت‌های ثانویه آنها مشخص می‌شود. در واقع گیاهان در شرایط بهینه کنترل شده محیطی از جمله عوامل فیزیکی مانند رطوبت نسبی، دما، خاک، نور و ... کیفیت بهتری دارند (۳۹). در پژوهش حاضر بررسی مقادیر ترکیب‌های فعال ثانوی در رویشگاه‌های مورد مطالعه استان کرمان نشان داد که محتوای این ترکیبات در مراتع مختلف ثابت نیست و تحت تأثیر شرایط محیطی متغیر بودند. به طورکل تولید مواد مؤثره در گیاهان می‌تواند نتیجه نمو گیاه در نظر گرفته شود که شامل تغییرات متابولیسمی، مورفولوژیکی و تمایز می‌باشد. به‌طور مثال سلطانی و همکاران (۱۳۸۷) طی بررسی ترکیبات اسانس گونه *Mentha piperita* در دو مرحله از رشد، بیان داشتند که عامل سن در این گونه برروی کیفیت اسانس اثر دارد.

به‌طور کل گزارش شده است که تولید مواد مؤثره گیاهی به دلیل فعال شدن مسیر سنتز متابولیت‌های ثانویه می‌باشد که اغلب در گیاهان مختلف، به شکل‌های متفاوتی دیده می‌شود. در حالی‌که متابولیت‌های اولیه مانند کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها و لیپیدها در تمام گیاهان به شکل مشابهی دیده می‌شوند. به‌نظر می‌رسد تولید متابولیت‌های ثانویه تحت تأثیر شرایط محیطی گیاه می‌باشد (۵). از جمله مکان رشد گیاه، که می‌تواند از طریق تغییرات دمایی و رطوبتی بر فرآیند تشکیل مواد مؤثره تأثیرگذار باشد. مثلاً بیشترین میزان تجمع هایپرسین در *Hypericum perforatum* زمانی انجام می‌شود که رشد و نمو گیاه در مناطقی با رطوبت نسبی بالا صورت گیرد (۴۱). همچنین Saijo (۱۹۸۰) بیان کرد که دماهای بالاتر باعث می‌شود برگ‌های چای تانن بیشتری تولید کنند، در حالی‌که دماهای پایین‌تر مانع از سنتز تانن می‌شوند. بر اساس تحقیقات انجام گرفته توسط Mossi و همکاران (۲۰۰۷) بر روی گیاه *Maytenus ilicifolia*، همبستگی مثبت و معنی‌داری در سطح ۵٪ بین متوسط دمای سالانه و محتوای تانن مشاهده شد، که با نتایج این پژوهش مطابقت داشت. مطالعات Kadu (۲۰۱۲) مشخص کرد که بین محتوای اسید فرولیک و متوسط بارندگی همبستگی منفی وجود دارد اما در این پژوهش بین این دو شاخص همبستگی مشاهده نشد. مشاهدات Mpofu و همکاران (۲۰۰۶) نیز در مورد اثر تغییرات محیطی و ژنوتیپی روی محتوای فنل و اسیدهای فنلی گندم بهاره، مشخص کرد که بین محتوای اسید فرولیک و فنل کل همبستگی مثبت و معنی‌داری در سطح ۱٪ وجود دارد، این پژوهش نیز همبستگی مثبت (r=۰/۶۳۸) و معنی‌دار در سطح ۵٪ بین این دو ترکیب نشان داد. در اتفاعات بالا به دلیل کاهش دما که از آسیب‌زاترین تنش‌ها برای برهم زدن تعادل در گیاه محسوب می‌شود ترکیب‌های فنلی، تشکیلات ثانوی (لیگنین و سوبرین) و آنتوسیانین‌ها در گیاهان افزایش می‌یابند (۵۰). تحقیقات رضانژاد و طراحی (۱۳۹۲) نشان داد که بیان و یا فعالیت آنزیم‌های بیوسنتزی آنتوسیانین به ویژه PAL و CHS در مراحل نهایی توسط نور تحریک می‌شود. به‌علاوه یافته‌های مشابهی در مورد عدم تشکیل یا میزان بسیار کم آنتوسیانین در تاریکی وجود دارد. در بسیاری از گونه‌های گیاهی مشخص شده که سنتز برخی از مشتقات مسیر فنیل پروپانوئید مانند آنتوسیانین‌ها در پاسخ به اشعه فرابنفش تشویق می‌شود (۱۸). همچنین Tajali و Khazaeipoor (۲۰۰۲) با بررسی تأثیر ارتفاع بر روی فنل کل و فلاونوئیدهای گیاه *Cerateagus microphylla* بیان داشتند

که این گیاه در ارتفاع ۱۰۰۰ متری، دارای بیشترین میزان این ترکیب‌ها نسبت به گیاهان رشد یافته در ارتفاعات پست بود. این تحقیقات با نتایج این پژوهش برای فنل کل و اسید فرولیک تطابق داشت. با توجه به مطالعه همبستگی بین عوامل محیطی و میزان ترکیب‌های ذکر شده می‌توان نتیجه‌گیری کرد که عوامل اکولوژیکی شامل متوسط ارتفاع و متوسط دمای سالانه بیشترین تأثیر را در تولید متابولیت-های ثانویه شیرابه آنغوزه داشته‌اند.

Ku و همکاران (۲۰۱۴) نیز با بررسی همبستگی بین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ترکیب‌های فنلی در نوعی ذرت به همین نتایج رسیدند، ولی در رابطه با نوع همبستگی بین فنل کل و فلاونوئیدها، بررسی‌های Ku و همکاران (۲۰۱۴) نتایج عکسی با نتایج این پژوهش نشان داد. در واقع همبستگی بین آنتوسیانین و فلاونوئیدها طبیعی است، زیرا آنتوسیانین‌ها از مشتقات فلاونوئیدی می‌باشند (۴۸). محتوای تانن با محتوای فنل کل همبستگی منفی (۰/۶۳۷- =r) و معنی‌داری در سطح ۵٪ دارد. یعنی با افزایش تانن محتوای فنل کل کم شد. در حالی‌که تحقیقات Mayworm (۲۰۱۴) همبستگی مثبت و معنی‌داری را بین محتوای این دو ترکیب نشان داد. آنتوسیانین‌ها و فلاونوئیدها در مرتع ساردوئیه بیشترین مقدار خود را داشتند. به احتمال زیاد در این مرتع تنش اشعه فرابنفش بیشتر بوده که باعث تولید بیشتر این ترکیب‌ها در شیرابه آنغوزه شده است.

در آنالیزهای شیمیایی بر روی گیاه آنغوزه مشخص شده است که بیشترین ترکیبات شیمیایی مربوط به پلی فنل‌هایی مانند اسید فرولیک و تانن بوده است (۱۲). این دو ترکیب اثرات دارویی مهمی از جمله اثر ضد دیابت، ضد درد، ضد سرطان، ضد ویروس و ضد باکتری و آنتی اکسیدانت دارند (۲۰، ۱۲ و ۱۶). وهابی و همکاران (۱۳۹۲) وجود مقادیر بسیار بالای فنل را در عصاره‌های هیدروالکلی و آبی صمغ گیاه آنغوزه گزارش کردند. به‌طوری‌که میزان فنل این عصاره‌ها به‌ترتیب ۲۲۸ و ۱۶۷/۳۳ میلی‌گرم عصاره خشک بر گرم اسیدگالیک به دست آمد.

ترکیبات فنلی به طور مؤثری به عنوان دهنده هیدروژن عمل نموده و لذا به عنوان یک آنتی‌اکسیدان مؤثر عمل می-کنند (۲۴). به نظر می‌رسد گیاهانی که میزان ترکیبات فنلی بالایی دارند قدرت آنتی‌اکسیدانی بیشتری داشته و در بیماری‌های صعب‌العلاج مؤثر باشند (۴۳). وهابی و همکاران (۱۳۹۲) در رابطه با گیاه آنغوزه این همبستگی مثبت بین محتوای فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی را گزارش کردند.

نتایج تجزیه اسانس آنغوزه در مناطق مختلف استان کرمان مشخص کرد (E)ـ ۱ـ پروپنیل Secـ بوتیل دی سولفید، nـ پروپیل secـ بوتیل دی سولفید، بتاـ پینن و (Z)ـ بتا اوسیمن از جمله ترکیب‌های عمده اسانس می‌باشند که با نتایج حاصل از تحقیقات Khajeh و همکاران (۲۰۰۵) و Sefidcon و همکاران (۱۹۹۸) مطابقت داشت.

اسانس‌های گیاهی به دلیل داشتن ترکیباتی خاص مانند آلفاـ پینن، بتاـ پینن و لیمونن در ساخت ترکیبات معطر مصنوعی و ترکیبات روغنی معطر، لوازم آرایشی، ادویه‌ها، چاشنی‌های خوراکی، ضد عفونی کننده‌ها، تولید رزین‌های ترپنی و حشره‌کش‌ها استفاده می‌شوند. همچنین در محیط کشت زنده می‌توانند به عنوان عامل ضد میکروبی در مقابل طیف وسیعی از عوامل بیماریزای میکروبی عمل کنند (۲۶). بهترین کیفیت اسانس گیاه آنغوزه متعلق به شیرابه‌ای است که بیشترین درصد ترکیبات گوگردی را داشته باشد (۱). رنگ صمغ نیز اهمیت زیادی در ارزش گذاری تجاری صمغ دارد. صمغ‌هایی با رنگ روشن‌تر ترجیح داده می-شوند (۴۷).

بنابراین مراتع چترود، کشتوئیه و حسین‌آباد به ترتیب به دلیل داشتن میزان بیشتری از (فنل کل و اسید فرولیک)، تانن و (آلفاـ پینن، بتاـ پینن و لیمونن) جهت مصارف دارویی پیشنهاد می‌شوند. همچنین از نظر کیفیت اسانس، با

توجه به رنگ روشن و بیشتر بودن درصد ترکیبات گوگردی اسانس کشتوئیه کیفیت بالاتری دارد. (E)ـ ۱ـ پروپنیل Secـ بوتیل دی سولفید یک ترکیب شاخص در اسانس شیرابه آنغوزه در کل مناطق برسی شده بود. ترکیب nـ پروپیل secـ بوتیل دی سولفید در جوپار به میزان قابل توجهی تولید شده بود، که احتمالاً به دلیل تفاوت شرایط محیطی خاصی بوده است. بهتر است که در تحقیقات بعدی دیگر عوامل محیطی (انواع تنش‌ها و شرایط خاک) در شرایط یکسان مورد بررسی قرار گیرد. پیشنهاد می‌گردد شناسایی دقیق میزان ترکیبات اسانس نیز در قالب تجزیه واریانس و مقایسه میانگین انجام شده و سپس اقدام به جمع‌آوری شیرابه گردد.

منابع

۱- پیرمرادی، م. ر. (۱۳۹۰) ارزیابی خصوصیات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی، فیتوشیمیایی و ژنتیکی گیاه دارویی آنغوزه (*Ferula assa-foetida* L.) در استان کرمان، پایان نامه دکتری، رشته علوم باغبانی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ۱۵۳ صفحه.

۲- رضانژاد، ف. و طراحی، ر. (۱۳۹۲) اثر نور و تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی بر کالوس‌زایی و تجمع آنتوسیانین در کالوس‌های حاصل از جداکشت‌های مختلف در رز گالیکا (*Rosa gallica* L.). مجله زیست شناسی ایران، ۲۶ (۲): ۱۹۵-۱۸۴.

۳- سلطانی، ف. شریفی، م. خواجه، خ. و یوسف زادی، م. (۱۳۸۷) بررسی ترکیبات اسانس، فعالیت آنزیم منتون ردوکتاز و فعالیت ضد میکروبی گونه *Mentha piperita* در دو مرحله از رشد. مجله زیست شناسی ایران، ۲۱ (۵): ۷۰-۶۲.

۴- ضیائی، م. شریفی، م. نقدی بادی، ح. ع. تحصیلی، ژ. و قربانی نهوجی، م. (۱۳۹۳) مروری بر گیاه دارویی ریحان (*Ocimum basilicum* L.) با تأکید بر عمده‌ترین ترکیبات ثانویه و ویژگی‌های زراعی و دارویی آن. فصلنامه گیاهان دارویی، ۴ (۵۲): ۴۰-۲۶.

۵- علومی، ح. و حسیبی، ن. (۱۳۹۱) بررسی محتوای متابولیت‌های ثانویه ریشه گیاه شیرین‌بیان در برخی رویشگاه‌های طبیعی استان کرمان. فصلنامه گیاهان دارویی، ۲ (۹): ۱۴۴-۱۳۷.

۶- محمدزاده میلانی، ج. امام جمعه، ز. صفری، م. و حامدی، م. (۱۳۸۶) بهینه سازی شرایط استخراج صمغ از گیاه باریجه (*Ferula galbaniflua*). علوم کشاورزی ایران، ۱: ۱۱۱-۱۰۵.

۷- مزدیستا، م. (۱۳۱۹) آنغوزه ایران و بررسی آن. پایان نامه دکتری، دانشکده داروسازی، دانشگاه تهران، ۹۰ ص.

۸- وهابی، ل. شاهانی‌پور، کهین. و منجمی، رامش. (۱۳۹۲) بررسی عملکرد آنتی‌اکسیدانی و میزان فنل عصاره‌های مختلف صمغ گیاه آنغوزه (*Ferula assa-foetida L.*) در خراسان جنوبی. فصلنامه اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی، ۴: ۹۶-۸۹.

9- Abd El-Razek, M.H. Ohta, S. Ahmed, A.A. and Hirata, T. (2001) Sesquiterpene coumarins from the roots of *Ferula assa-foetida*. Phytochemistry, 58(8): 1289-1295.

10- Abu- Zaiton, A.S. (2010) Anti-diabetic activity of *Ferula assa-foetida* extract in normal and alloxan-induced diabetic rats. Pakistan Journal of Biological Sciences, 13(2): 97-100.

11- Adams, R.P. (2007) Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. 4th edition, Allured Publishing Corporation, Carol Stream, USA.

12- Akhlaghi, F. Rajaei, Z. Hadjzadeh, M.A.R. Iranshahi, M. and Alizadeh, M. (2012) Antihyperglycemic effect of Asafoetida (*Ferula assa-foetida* Oleo-Gum-Resin) in streptozotocin-induced diabetic rats. World Applied Sciences Journal, 17(2): 157-162.

13- Alqasoumi, S. Al-dosari, M. Alhowiriny, T. Al-yahya, M. Al-mofleh, I. and Rafatullah, S. (2011) Gastric antiulcer activity of a pungen spice *Ferula assa-foetida* L. in rats. Farmacia, 59(6): 750-759.

14- Asadi-Samani, M. Rafieian-Kopaei, M. and Azimi, N. (2013) Gundelia: A systematic review of medicinal and molecular perspective. Pakistan Journal of Biological Sciences, 16(21): 1238-1247.

15- Bagal, U.R. Leebens mack, J.H. Walter Lorenz, W. and Dean, J.F.D. (2012) The phenylalanine ammonia lyase (PAL) gene family shows a gymnosperm specific line age. BMC Genoms, 13(3): 1471-2164.

16- Bagheri, S.M. Dashti-R, M. H. and Morshedi, A. (2014) Antinociceptive effect of *Ferula assa-foetida* oleo-gum-resin in mice. Research in Pharmaceutical Sciences, 9(3): 207-212.

17- Bertome, J. Isabel Arrillage, M. and Segura, J. (2007) Essential oil variation whitin and among natural population of *Lavandula latifolia* and its relation to their ecological areas. Biochemical Systematics and Ecology, (35): 479-488.

18- Buchholz, G. Ehmann, B. and Wellmann, E. (1995) Ultraviolet light inhibition of phytochorome-induced flavonoid biosynthesis and DNA photolyase formation in mustard cotyledons (*Sinapis alba* L.). Plant Physiology, 108(1): 227-234.

19-Davies, F.S. and Albrigo, L.G. (l994) Environmental constraints on growth, development and physiology of citrus. In: Citrus (Eds. Davies, F. S. and Albrigo, L. G) 51-82. CAB International, Wallingford, UK.

20-Dehpour, A.A. Ebrahimzadeh, M.A. Fazeland, N.S. and Mohammad, N.S. (2009) Antioxidant activity of the methanol extract of *Ferula assa-foetida* and its essential oil composition. Grasasy Aceites (International Journal of Fats and Oils), 60: 405-412.

21- Delavar, H. Saharkhiz, M.J. and Kazerani, N. (2014) Essential oil analysis and phytotoxic activity of *Ferula assa-foetida* L. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 30(3): 433-444.

22- Dholwani, K.K. Saluja, A. K. Gupta, A.R. and Shah, D.R. (2008) A review on plant-derived natural products and their analogs with anti-tumor activity. Indian Journal of pharmacology, 40: 49-58.

23- Fatehi, M. Farifteh, F. and Fatehi-Hassanabad, Z. (2004) Antispasmodic and hypotensive effects of *Ferula assa-foetida* gum extract. Journal of Ethno pharmacology, 91(2-3): 321-324.

24- Golluce, M. Sahin, F., Sokmen, M. Ozer, H., Daferera, D. Sokmen, A. Polissiou, M. and Adiguzel Aozken, H. (2007) Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from *Mentha longifolia* L. Food Chemistry, 103: 1449-1456.

25- Hadavand Mirzaei, H. and Hasanloo,T. (2014) Assessment of chemical composition of essential oil of *Ferula assa-foetida* oleogum-resin from two different sites of Yazd province in center of Iran. Research Journal of Pharmacognosy, 1(2): 51-54.

26- Hamid, A.A. Aiyelaagbe, O.O. and Usman, L.A. (2011) Essential oils: its medicinal and pharmacological uses. International Journal of Current Research, 33(2): 086-098.

27- Iranshahi, M. Amin, G. Amini, M. and Shafiee, A. (2003a) Sulfur containing derivatives from *Ferula persica* var. latisecta. Phytochemistry, 63: 965-6.

28- Iranshahi, M. Amin, G. Jalalizadeh, H. and Shafiee, A. (2003b) New germacrane derivative from *Ferula persica*. *Pharmaceutical Biology*, 41: 431-3.

29- Iranshahi, M. Arfa, P. Ramezani, M. Jaafari, M.R. Sadeghian, H. Bassarello, C. Piacente, S. and Pizza, C. (2007) Sesquiterpene coumarins from *Ferula szowitsiana* and in vitro antileishmanial activity of 7-prenyloxycoumarins against promastigotes. Phytochemistry, 68: 554-61.

30- Iranshahi, M. and Iranshahi, M. (2011) Traditional uses, phytochemistry and pharmacology of Asafoetida (*Ferula assa-foetida* oleo-gumresin), a review. Journal of Ethnopharmacol, 134: 1-10.

31- Jadhav, A.P. Kareparamban, J.A. Nikam, P.H. and Kadam, V.J. (2012) Spectrophotometric estimation of ferulic acid from *Ferula assa-foetida* by folin-ciocalteu's reagent. Der Pharmacia Sinica, 3(6): 680-684.

32- Jahani, S. and Shakiba, A. (2015) Fabrication of gelatin nano-capsules incorporate *Ferula assa-foetida* essential oil with antibacterial and antioxidant properties. Zahedan Journal of Research in Medical Sciences, 15: 29-33.

33- Jovancevic, M. Balijagic, J. Menkovic, N. Savikin, K. Zdunic, G. Jankovic, T. and Dekic-Ivankovic, M. (2011) Analysis of phenolic compounds in wild populations of bilberry (*Vaccinium myrtillus*) from Montenegro. Journal of Medicinal Plants Research, 5(6): 910-914.

34- Kabera, J.N. Semana, E. Mussa, A.R. and He, X. (2014) Plant Secondary Metabolites: Biosynthesis, Classification, Function and Pharmacological Properties. Journal of Pharmacy and Pharmacology, 2: 377-392.

35- Kadu, C.A. Parich, A. Schueler, S. Konrad, H. Muluvi, G.M. Eyog-Matig, O. Muchugi, A. Williams, V.L. Ramamonjisoa, L. Kapinga, C. Foahom, B. Katsvanga, C. Hafashimana, D. Obama, C. Vinceti, B. Schumacher, R. and Geburek, T. (2012) Bioactive constituents in *Prunus africana*: Geographical variation throughout Africa and associations with environmental and genetic parameters. Phytochemistry, 83: 70-78.

36- Keshri, G. Lakshmi, V. Singh, M.M. and Kamboj, V.P. (1999) Post-coital antifertility activity of *Ferula assa-foetida* extract in female rats. Pharmaceutical Biology, 37: 273-276.

37- Khajeh, M. Yamini, Y. Bahramifara, N. Sefidkon, F. and Pirmoradei, M.R. (2005) Comparison of essential oils compositions of *Ferula assa-foetida* obtained by supercritical carbon dioxide extraction and hydrodistillation methods. Food Chemistry, 91(4): 639-644.

38- Krizek, D.T. Antonjuk, V.P. and Mirecki, R.M. (1998) Inhibitory effects of ambient levels of solar UV-A and UV-B radiation on growth of cv. new red fire lettuce. Physiologia Plantarum, 103:1-7.

39- Kroymann, J. Donnerhacke, S. Schnabelrauch, D. and Mitchell-Olds, T. (2003) Evolutionary dynamics of an Arabidopsis insect resistance quantitative trait locus. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA, 100: 14587-14592.
40- Ku, K.M. Kim, H.S. Kim, S.K. and Kang, Y.H. (2014) Correlation analysis between antioxidant activity and phytochemicals in Korean colored Corns using principal component analysis. Journal of Agricultural Science, 6(4): 1-9.
41- Laurel, F.R. Servio, R.P. Valerie, B.K. Gregory, M.J. and Ian, C.P. (1999) Direct and effects of climate change on St. John's wort, *Hypericum perforatum* L. (Hypericaceae). Oecologia, 120: 113-122.
42- Luthar, Z. (1992) Polyphenol classification and tannin content of buckwheat seeds (*Fagopyrum esculentum* M.). Fagopyrum, 12: 36-42.
43- Mathew, S. and Abraham, T.E. (2006) In vitro antioxidant activity and scavenging effects of Cinnamomum verum leaf extract assayed by different methodologies. Food and Chemical Toxicology-Journal, 44: 198-206.
44- Mayworm, M.A.S. Lima, C.A. Tomba, A.C.B. Fernandes-Silva, C.C. Salatino, M.L.F. and Salatino, A. (2014) Does propolis contain tannins? Evidence-based Complementary and Alternative Medicine, 1-4.
45- Mossi, A.J. Mazutti, M. Paroul, N. Corazza, M.L. Dariva, C. Cansian, R.L. and Oliveira, J.V. (2009) Chemical variation of tannins and triterpenes in Brazilian populations of *Maytenus ilicifolia* Mart. Ex Reiss. Brazilian Journal of Biology, 69(2): 339-345.
46- Mpofu, A. Sapirstein, H.D. and Beta, T. (2006) Genotype and environmental variation in phenolic content, phenolic acid composition, and antioxidant activity of hard spring wheat. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54: 1265-1270.
47- Nussinovitch, A. (2010) Plant gum exudates of the world: Sources, distribution, properties, and applications. CRC Press, Taylor and Francis Group.
48- Petrussa, E. Braidot, E. Zancani, M. Peresson, C. Bertolini, A. Patui, S. and Vianello, A. (2013) Plant flavonoids-biosynthesis, transport and involvement in stress responses. International *Journal* of *Molecular Sciences,* 14: 14950-14973.
49- Pimenov, M.G. and Leonov, M.V. (2004) The Asian umbelliferae biodiversity database (ASIUM) with particular reference to south-west Asian taxa. Turkish Journal of Botany, 28: 139-145.
50- Ramakrishna, A. and Ravishankar, G.A. (2011) Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. Plant Signaling and Behavior, 6(11): 1720-1731.
51- Sadraei, H., Ghannadi, A. Malekshahi, K. (2003) Composition of the essential oil of asa-foeptida and spasmolytic action. Saudi Pharmaceutical Journal, 11(3): 136-140.
52- Saijo, R. (1980) Effect of shade treatment on biosynthesis of catechins in tea plants. Plant and Cell Physiology, 21: 989-998.
53- Saleem, M. Alam, A. and Sultana, S. (2001) Asafoetida inhibits early events of carcinogenesis: A chemopreventive study. Life Sciences, 68(16): 1913 - 21.
54- Shah, N.C. and Zar, A. (2004) Asafoetida (Heeng): The well known medicinal condiment of India and Iran. A review. The Scitech Journal Issn, 1(4): 30-36.
55- Sonald, S.F. and Laima, S.K. (1999) Phenolics and cold tolerance of *Brassica napus*. Plant Agriculture, 1: 1-5.
56- Sefidkon, F. Askari, F. and Mirza, M. (1998) Essential oil composition of *Ferula assa-foetida* L. from Iran. Journal of Essential Oil Research, 10(6): 687-689.
57- Tajali, A. and Khazaeipoor, M. (2002) Effect of height and organs on flavonoids of *Crataegus microphylla*. International Journal of Biosciences, 7: 54-58.
58- Wanger, G.J. (1979) Content and vacuole/extra vacuole distribution of neutral sugars, free amino acids, and anthocyanins in protoplasts. Plant Physiology, 64: 88-93.

Evaluation of content of phenylpropanoid compounds of latex and chemical composition of essential oil of *Ferula assa-foetida* L. in some natural pasturelands of Kerman, Iran

Nasiri Bezenjani S.[1], Razavizadeh R.[1] and Oloumi H.[2]

[1] Biology Dept., Payame Noor University, Tehran, I.R. of Iran

[2] Ecology Dept., Institute of Science and High Technology and Environmental Sciences, Graduate University of Advanced Technology, Kerman, I.R. of Iran

Abstract

In this study, total phenolic content, flavonoids, anthocyanin, tannins and ferulic acid of latex of *Ferula assa-foetida* L. were investigated in some pastures of Kerman province (Chatroud, Hossein Abad, Keshtuiyeh, Joopar and Sarduieh). The essential oil used in this study was extracted by hydro-distillation from the latex of the plant. The results of the essential oil analysis by Gas chromatography– mass spectrometry (GC-MS) indicated that a total of 51 components were identified in the essential oil. The major compounds in the total regions were included: (E)-1-propenyl sec-butyl disulfide, n-propyl sec-butyl disulfide, (Z)- β-ocimene and β-pinene. Comparison of effective components concentrations of latexs showed that the highest total phenolic content and acid ferulic was observed in Chatroud. The highest tannin content in Keshtuiyeh and the highest anthocyanins content in Sarduieh were obtained. Correlation of these compounds and environmental factors showed that there was a negative correlation between the average altitude and the content of tannins but significant and positive correlation at the 5% level between the average altitude and total phenolics (and ferulic acid) was observed. Keshtuiyeh showed the best quality of essential oil by heighest rate of sulfide compounds.

Key words: *Ferula assa-foetida* L., Latex, Phenylpropanoid contents, Environmental factors.