جداسازی و شناسایی ترکیب کومارینی Auraptene از گیاه انحصاری *Ferula persica* var. *latisecta* در ایران

سحر سروی[۱]، محبوبه طاهرخانی[۲*]، مجید قربانی نهوجی[۳]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه فیتوشیمی و شیمی فناوری اسانس، دانشکده شیمی دارویی، واحد علوم دارویی دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- استادیار، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تاکستان، دانشکده علوم پایه، گروه شیمی، تاکستان، ایران

۳- مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی، کرج، ایران

*آدرس مکاتبه: قزوین - تاکستان - کیلومتر ۵ جاده همدان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تاکستان، دانشکده علوم پایه، گروه شیمی، کدپستی: ۳۴۳۱۹۹۶۶۹۱

تلفن و نمابر: ۴۴۴۹۲۲۵۸ (۰۲۱)

پست الکترونیک: mahtaherkhani@yahoo.com، mah.taherkhani@tiau.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۶/۸/۱۲ **تاریخ تصویب:** ۹۶/۱۲/۱۶

چکیده

مقدمه: گیاهان دارویی جنس کما (*Ferula* spp.) پراکندگی وسیعی در دنیا دارند. بسیاری از آنها انحصاری و بومی ایران هستند و در طب سنتی به عنوان ضد نفخ، ضد تشنج و خلط‌آور مصرف می‌شوند. این گیاهان عمدتاً حاوی ترکیبات کومارینی، فلاونوئیدی و گوگردی هستند و اثرات بیولوژیکی متعددی از آنها گزارش شده است.

هدف: منظور از این تحقیق بررسی فیتوشیمیایی عصاره تام اندام هوایی و خالص‌سازی و شناسایی ترکیبات عمده موجود در عصاره گیاه دارویی و انحصاری *Ferula persica* Willd var. *latisecta* می‌باشد.

روش بررسی: در ابتدا مراحل عصاره‌گیری و سپس چربی‌گیری عصاره انجام شد. در مرحله بعد عصاره به ستون کروماتوگرافی برده شد و از نظر ترکیبات متشکله بررسی شد. پس از فراکشن‌گیری‌های متوالی، با استفاده از تکنیک کروماتوگرافی صفحه‌ای ترکیبات طبیعی موجود در گیاه خالص‌سازی شده و سپس ساختار ترکیبات توسط روش‌های طیف سنجی (^{1}H-NMR، ^{13}C-NMR، DEPT و IR) شناسایی شد.

نتایج: در اثر فرایند خالص‌سازی یک ترکیب شاخص حاصل شد و بررسی نتایج حاصل از تکنیک‌های طیف‌سنجی مختلف بر روی این ترکیب درنهایت منجر به شناسایی و معرفی یک ترکیب کومارینی جدید با نام (Auraptene) برای گیاه مورد مطالعه شد.

نتیجه‌گیری: گیاه *F. persica* یکی از گیاهان انحصاری ایران بوده و شامل ترکیبات طبیعی مختلفی از جمله کومارین‌ها می‌باشد و لذا لزوم حفاظت از گیاه جهت هرگونه بهره‌برداری‌های اقتصادی و علمی تأکید می‌شود.

گل‌واژگان: *Ferula persica* Willd var. *latisecta*، کمای ایرانی برگ پهن، استخراج، خالص‌سازی، کومارین

مقدمه

متابولیت‌های ثانویه گیاهی، ترکیبات آلی هستند که مستقیماً در رشد، نمو یا تولیدمثل گیاه دخیل نیستند و معمولاً دارای ساختار پیچیده‌ای بوده و ساختار آنها در مقایسه با ساختار متابولیت‌های اولیه که برای زنده ماندن سلول‌ها ضروری‌اند متفاوت است [۲، ۱]. خانواده‌های چتریان (Apiaceae) از خانواده‌های بزرگ گیاهان دارویی بوده و شامل ۱۱۴ جنس و ۴۲۰ گونه می‌باشد [۳]. گیاه *Ferula persica* Willd. با نام فارسی کمای ایرانی از جمله گیاهان انحصاری (بومی) ایران و متعلق به این تیره بوده و با توجه به پراکنش محدود و تهدیدهای مختلف که اکوسیستم‌های ایران را تهدید می‌کند امروزه جزء گیاهان در معرض خطر انقراض کشور محسوب می‌شود [۴]. طبق مستندات موجود در کتب معتبر گیاه‌شناسی مانند Flora Iranica، در ایران دو واریته از این گیاه گزارش شده است. واریته *Ferula persica* Willd. var. *persica* با نام فارسی کمای ایرانی برگ ریز و واریته D.F. Chamberline *Ferula persica* Willd. var. *latisecta* با نام فارسی کمای ایرانی برگ پهن این دو واریته می‌باشند. این گیاه، گیاهی چند ساله و یک بار مثمر (Monocarpic) بوده و بعد از گل دادن و میوه دادن از بین می‌رود [۵]. تحقیقات زیادی از نظر فیتوشیمیایی روی ریشه و اندام هوایی کمای ایرانی برگ ریز صورت گرفته، به طوری که در سال ۲۰۰۴، Iranshahi و همکاران از ریشه گیاه *Ferula persica* Willd var. *persica* چهار ترکیب کومارینی شناخته شده به نام‌های (farnesiferol A, farnesiferol B, badrakemone, gummosin) و یک ترکیب کومارین جدید به نام (farnesiferone A) جداسازی نمودند. همچنین از اندام هوایی گیاه مذکور ترکیبات (farnesiferone A, farnesiferol A و badrakemone) نیز جداسازی و توسط تکنیک‌های طیف‌سنجی NMR شناسایی شده است [۶].

به طور کلی می‌توان بیان کرد که ریشه گونه‌های *Ferula* سرشار از اترهای سزکویی‌ترپن کومارینی است [۶]. از گیاه *F. persica* var. *persica* برخی ترکیبات کومارینی و همچنین ترکیبات فلاونوئیدی استخراج و شناسایی شده است [۸، ۷]. در سال ۲۰۰۳ از همین واریته از گیاه ترکیب سزکوئی-ترپن جرمکرنی استخراج و شناسایی نمودند [۹]. ایرانشاهی و همکاران از عصاره‌ی متانولی ریشهٔ گیاه *F. persica* متابولیت-های ثانویه‌ی قطبی نظیر گلیکوزیدهای سزکویی‌ترپنیِ کومارینی به نام (persicaosides) و دو گلیکوزید فیتواسترولی شناخته شده به نام‌های (sitosterol 3-O-β-glucoside و stigmasterol 3-O-β-glucoside) استخراج و شناسایی کردند [۱۰].

همان‌طور که اشاره شد تاکنون عمده تحقیقاتی که در مورد این گونه در ایران صورت گرفته است مربوط به واریته این گیاه با نام فارسی کمای ایرانی برگ ریز (*F. persica*. var. *persica*) می‌باشد و در این راستا تحقیقات نسبتاً زیادی از نظر فیتوشیمیایی بر روی ریشه و اندام هوایی صورت گرفته است، ولی تاکنون تحقیقی بر روی اندام هوایی واریته دیگر آن یعنی کمای ایرانی برگ پهن (*F. persica* var. *latisecta*) انجام نشده است و تنها در یک مطالعه محدود که در سال ۲۰۱۲ انجام شد یک ترکیب سزکویی‌ترپن کومارین جدید با نام (Latisectin) از ریشه گیاه استخراج و شناسایی شد [۱۱]. تحقیق حاضر اولین مطالعه انجام شده جهت شناسایی ترکیبات فیتوشیمیایی عصاره اندام هوایی در این واریته از گیاه بومی کمای ایرانی می‌باشد. به نظر می‌رسد که تفاوت دو واریته این گونه در تنوع تقسیمات انتهایی برگ‌ها باشد. اما امروزه این سوال مطرح است که آیا واریته‌های مختلف کمای ایرانی از نظر فیتوشیمیایی نیز متفاوت هستند یا خیر؟ به این منظور لازم است از روش‌های شناسایی جهت تعیین و تفکیک مواد مؤثره دو واریته سود جست.

مواد و روش‌ها

گیاه *F. persica* var. *latisecta* از شمال کشور ایران، مناطق مرتفع و کوهستانی استان مازندران، موقعیت جغرافیایی (E:51^{0}16'60"، N:36^0 06'86") و در خرداد ماه ۱۳۹۳ جمع-آوری شد. تعدادی از نمونه‌های گیاهی خشک و پرس شده و

سپس به آزمایشگاه گیاه‌شناسی پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی منتقل شد. پس از آماده‌سازی و تهیه نمونه‌های هرباریومی، گیاهان جمع‌آوری شده توسط منابع معتبر گیاه‌شناسی [۴] مورد شناسایی دقیق قرار گرفته و درنهایت به صورت معتبر و مؤثر در هرباریوم پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی با اختصاص کد و شماره معتبر (4503-IMPH) ثبت و مستندسازی شد. حلال‌های آلی نظیر هگزان، متانول، اتیل استات و دی اتیل اتر از شرکت (Merck) خریداری شد. همچنین سیلیکاژل با مش ۴۰۰-۲۳۰ مخصوص ستون کروماتوگرافی و از شرکت (Merck) آلمان تهیه شد. به منظور تهیه عصاره خشک از دستگاه روتاری مدل (EL 131) ساخت کشور آلمان مجهز به حمام آب گرم مدل (BUCHI 461) استفاده شد. برای توزین مواد از ترازوی مدل (AND HR-200) ساخت ژاپن با دقت ۴ رقم اعشار (۰/۰۰۰۱) استفاده شد. صفحات (TLC) و ستون‌های کروماتوگرافی نیز تهیه شدند. تکنیک‌های طیف‌سنجی ^{1}H-NMR و ^{13}C-NMR توسط دستگاه طیف‌سنجی تشدید مغناطیس هسته‌ای NMRموجود در دانشگاه امام حسین (ع) و ساخت شرکت BRUKER آلمان با قدرت ۲۵۰ مگاهرتز و حلال DMSO گرفته شد. تکنیک‌های طیف IR نیز از دستگاه FT-IR موجود در دانشگاه امام حسین (ع) و ساخت شرکت BRUKER حاصل شد.

استخراج، خالص سازی و شناسایی ترکیب طبیعی

برای تهیه عصاره تام از گیاه، حدود ۴۰۰ گرم از اندام هوایی گیاه پس از خشک شدن، کاملاً خرد شده و پودر همگنی تهیه شد. سپس جهت استخراج ترکیبات طبیعی گیاه با استفاده از روش ماسراسیون، پودر حاصله به مدت ۴۸ تا ۷۲ ساعت در مخلوط حلال‌های متانول: دی اتیل اتر: هگزان به نسبت ۱:۱:۱ در یک تانک مجزا خیسانده شده و در محلی تاریک قرار گرفت. پس از سپری شده زمان لازم، مخلوط حاصل را با قیف بوخنر و پمپ خلا صاف کرده و در مرحله بعد محصول حاصله توسط دستگاه روتاری تبخیر و تغلیظ شد. در انتها شیره غلیظ و ویسکوزی به رنگ سبز تیره به دست آمد. برای جدا کردن چربی‌ها و ترکیبات اشباع شده با زنجیره بلند، حدود ۱۵۰ تا ۲۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به یک دکانتور دو لیتری اضافه شد و سپس عصاره حاصل با میزان بسیار کمی از متانول حل و به دکانتور منتقل شد. سپس بر روی محلول حاصله حدود ۲۰۰ میلی‌لیتر حلال هگزان اضافه شده و سیستم دکانتور به خوبی تکان داده شد. پس از هم خوردن کامل محلول، دکانتور در جای ساکن و بی‌حرکتی مستقر شده و به آن زمان داده شد تا جداسازی فازها به طور کامل انجام شود. پس از جداسازی کامل، فاز بالایی که شامل فاز هگزان و مواد چربی و هیدروکربن‌های حل شده در آن است، جدا شد و مجدداً، محلول فاز پایین به دکانتور منتقل شد. مرحله بالا برای فاز جداشده چندبار مجدداً انجام شد. در مرحله آخر کل عصاره با حدود ۵۰۰ میلی‌لیتر از هگزان شسته شد، به طوری که فاز هگزان مصرفی به بی‌رنگی رسیده و این نشان می‌داد که تمامی چربی‌ها و ترکیبات اشباع شده عصاره خارج شده است. در این مرحله فاز هگزان که شامل مواد چربی و مواد غیرقطبی است، کنار گذاشته شد و فاز پایین یا فاز اصلی مجدداً به دکانتور منتقل شد. مجدداً مشابه با مرحله‌ی قبل عمل شد، با این تفاوت که در این مرحله، از ۵۰۰ میلی‌لیتر از اتیل استات برای حل کردن مواد قطبی به جای حلال هگزان استفاده شد. حدود ۲۰۰ میلی‌لیتر اتیل استات به دکانتور که شامل فاز پایین از مرحله قبل است، افزوده و دکانتور تکان داده شد. پس از گذشت زمان کافی برای جداسازی، فاز بالا که فاز اتیل استات و مواد قطبی است، جمع‌آوری شد. مجدداً این عمل تکرار شد تا جایی که فاز اتیل استات مصرفی به بی‌رنگی رسید. درنهایت فاز اتیل استات که همان فاز اصلی آزمایش است، جمع‌آوری شد. در مرحله بعد فازهای اتیل استاتی حاصله با دستگاه روتاری تغلیظ شد و عصاره ویسکوزی به دست آمد. جهت فراکسیون‌سازی از عصاره حاصله، پس از آماده کردن ستون کروماتوگرافی، عصاره‌ای که جذب سیلیکاژل شده است به ستون افزوده شد. برای جداسازی ترکیبات موجود در عصاره که قطبیت‌های مختلف دارند، لازم است که قطبیت حلال‌های شست و شو دهنده ستون به تدریج تغییر کند. به همین دلیل شست و شوی ستون را با هگزان که یک حلال غیرقطبی است، آغاز کرده و به تدریج با افزودن تدریجی حلال اتیل استات، قطبیت حلال را به سمت نیمه قطبی و سپس در مرحله بعدی

با افزودن مقادیر مشخصی از حلال متانول، قطبیت را به سمت حلال قطبی تغییر دادیم. از ستون اول ۳۰ فراکسیون به دست آمد و پس از سه روز در فراکسیون ۷+۸+۹ بلور مشاهده شد. از فراکسیون ۸+۹+۱۰ کروماتوگرافی لایه نازک (TLC) انجام شد و لکه بنفش مربوط به وجود ترکیب طبیعی زیر لامپ (UV) نیز مشاهده شد. سپس در مرحله بعد جهت شناسایی و تعیین ساختار مولکولی از بلور به دست آمده، طیف (DEPT-135، IR، ^{1}H-NMR و ^{13}C-NMR) گرفته شد.

نتایج

طیف‌های متعدد (IR، DEPT، ^{1}H-NMR و ^{13}C-NMR) اخذ شده به دقت مورد ارزیابی و آنالیز قرارگرفت که در جداول شماره ۱ و ۲، مشخصات طیف (^{1}H-NMR و ^{13}C-NMR) ارائه شده است.

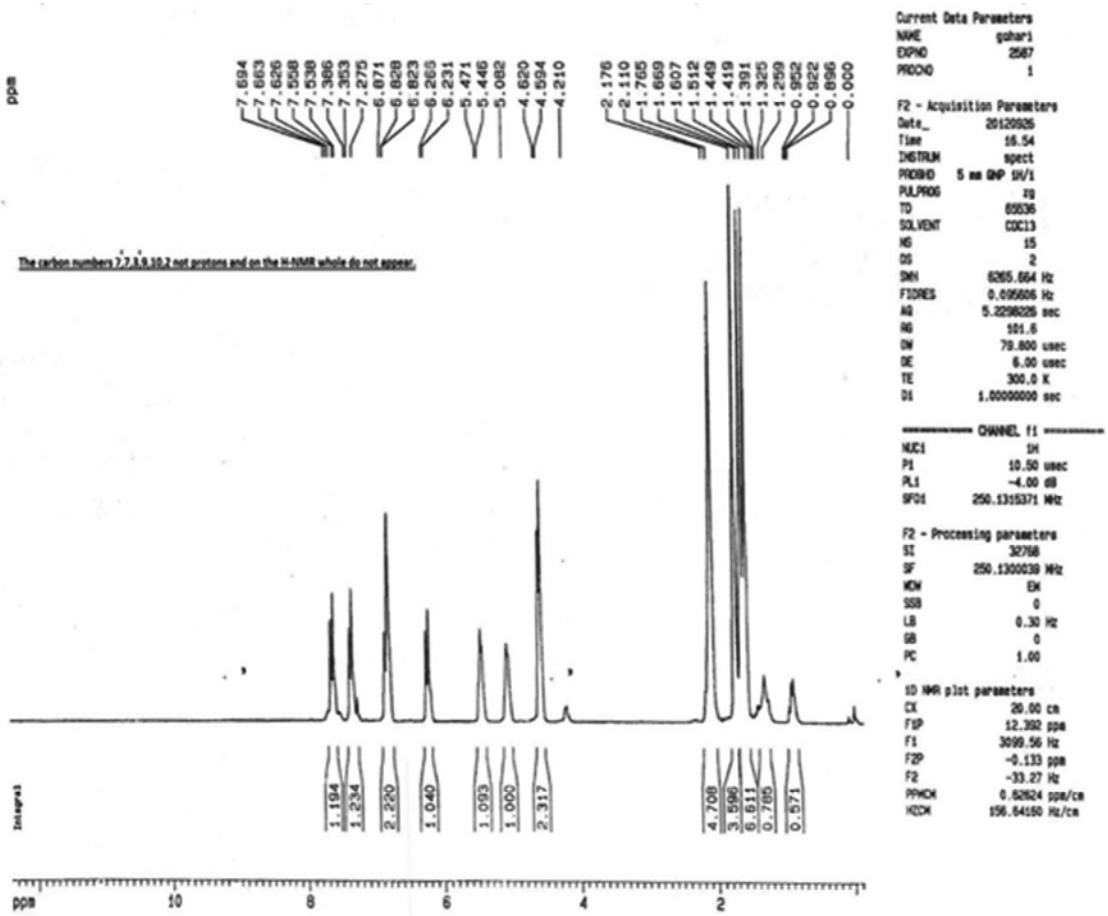
همان‌طور که در طیف ^{1}H-NMR این ترکیب (شکل شماره ۱) دیده می‌شود، ۹ پروتون در ناحیه ۱/۵ تا ۱/۸ مربوط به سه گروه متیل ($-CH_3$) با شماره‌های ۸'، ۹' و ۱۰' است. ناحیه‌ی ۴/۵ ppm هیدروژن ۱' ($O-CH_2$) به صورت دوشاخه با انتگرال دو هیدروژن مشخص است. همچنین در ناحیه ۵ ppm تا ۷/۶ هیدروژن‌های باند دوگانه (=CH) با شکافتگی و انتگرل‌های مربوطه مطابق با جدول شماره ۱ آمده‌اند.

جدول شماره ۱- نتایج طیف (^{1}H-NMR)

شماره هیدروژن	δ (ppm)	شکافتگی	J (HZ)	انتگرال
۲	–	–	–	–
۳	۶/۲۳	d	~ ۹/۵	۱H
۴	۷/۶۶	d	۹/۵	۱H
۵	۷/۳۵	d	۷	۱H
۶	۶/۸۷	d.d	۲و۷	۱H
۷	–	–	–	–
۸	۶/۸۲	d	۲	۱H
۹	–	–	–	–
۱۰	–	–	–	–
۱'	۴/۵۹	d	۷	۲H
۲'	۵/۴۷	t	۷	۱H
۳'	–	–	–	–
۴'	۲/۱۱	m	۰	۲H
۵'	۲/۱۷	m	۰	۲H
۶'	۵/۰۸	t	۷	۱H
۷'	–	–	–	–
۸'	۱/۷۶	s	–	۳H
۹'	۱/۶۶	s	–	۳H
۱۰'	۱/۶۰	s	–	۳H

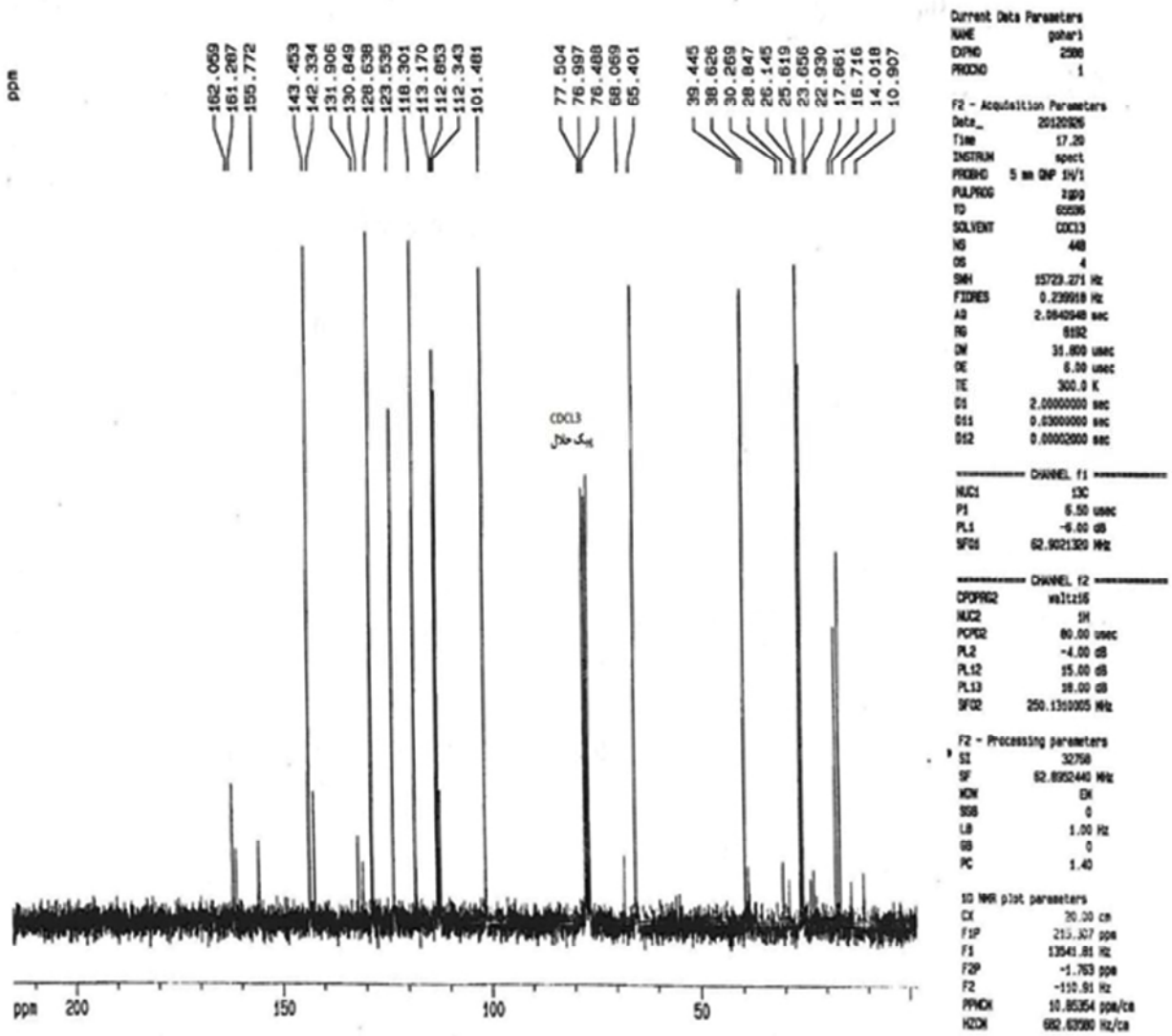
جدول شماره ۲- نتایج طیف (^{13}C-NMR)

شماره کربن	δ (ppm)	شماره کربن	δ (ppm)
۲'	۱۱۸/۳۰	۲	۱۶۱/۲۸
۳'	۱۴۲/۳۳	۳	۱۱۲/۸۵
۴'	۳۹/۴۴	۴	۱۴۳/۴۵
۵'	۲۶/۱۴	۵	۱۲۸/۶۳
۶'	۱۲۳/۵۳	۶	۱۱۳/۱۷
۷'	۱۳۱/۹۰	۷	۱۶۲/۰۵
۸'	۱۶/۷۱	۸	۱۰۱/۴۸
۹'	۲۵/۶۱	۹	۱۵۵/۷۷
۱۰'	۱۷/۶۶	۱۰	۱۱۲/۳۴
		'۱	۶۵/۴۰



شکل شماره ۱- طیف (^{1}H-NMR)

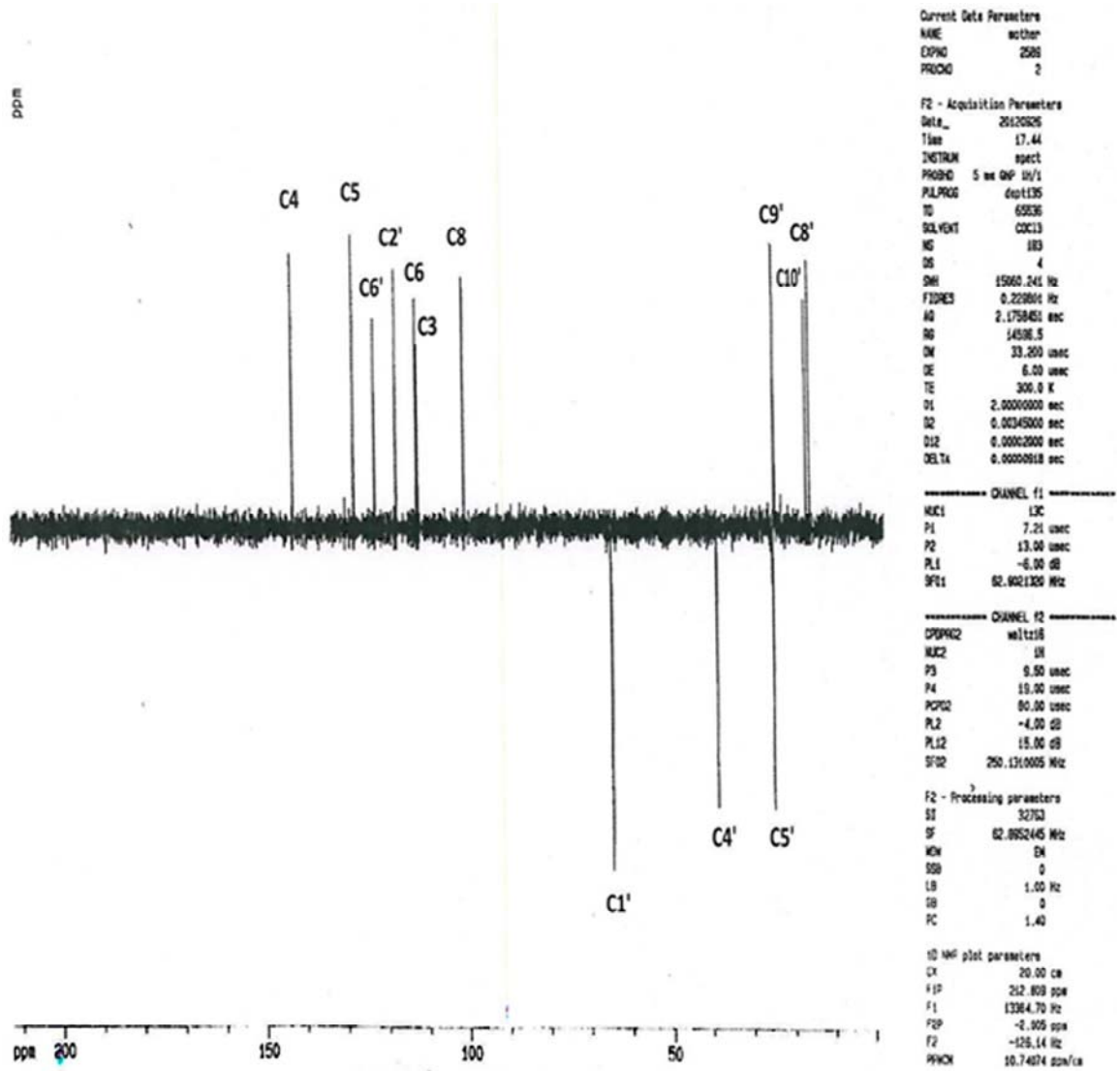
در نواحی ppm ۱۶ تا ۶۵ پیک های مربوط به کربن‌های آلکانی (اشباع) ظاهر می‌شود که از این میان کربن ۱ به دلیل اتصال به اکسیژن ($-CH_2O$) در دلتای بالاتری (در ناحیه ۶۵/۴) ظاهر شده است. در ناحیه ۱۰۱ تا ۱۵۵ کربن‌های اولفینی موجود بر روی باند دوگانه و یا حلقه آروماتیک ظاهر شده‌اند که مطابق با شکل شماره ۲ پیک‌های کوتاه قد مربوط به کربن های نوع چهارم می‌باشد. در ناحیه ppm ۱۶۱/۲۸ پیک مربوط به گروه کربونیل قابل رویت بوده و همچنین در نواحی ppm ۱۶۲/۰۵ پیک مربوط به کربن ۷ متصل به اکسیژن ظاهر شده است که به دلیل بهره‌مندی از رزونانس در دلتای بالاتری ظاهر شده است.



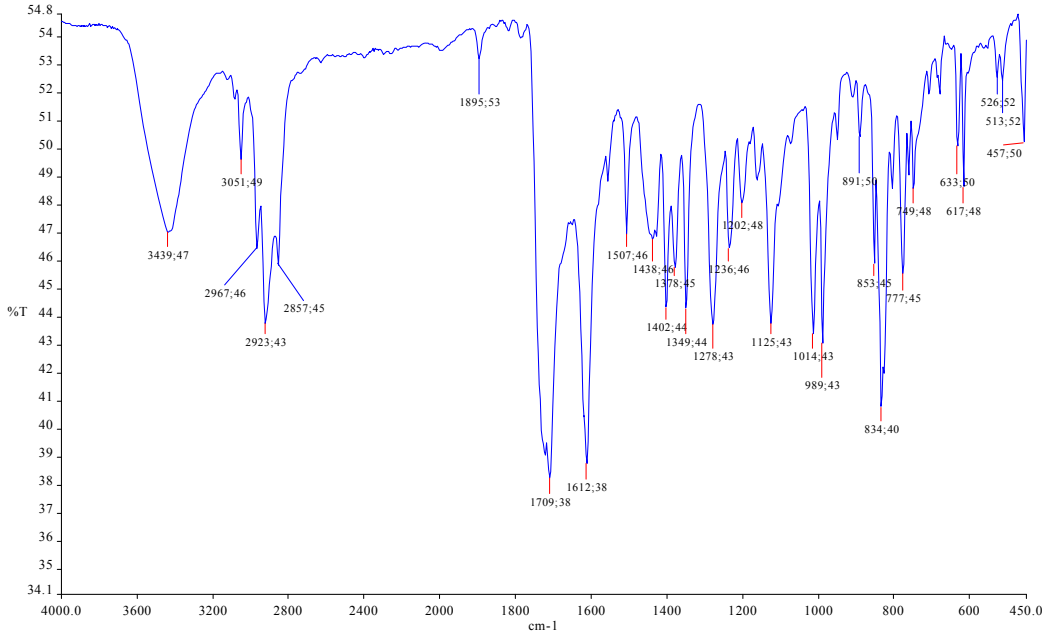
شکل شماره ۲- طیف (^{13}C-NMR)

همان‌طور که در شکل شماره ۳ دیده می شود، در طیف DEPT کربن‌های نوع چهارم ظاهر نشده و به ازای کربن‌های CH و CH_3 پیک‌های رو به بالا و به ازای کربن‌های CH_2 پیک‌هایی رو به پایین ظاهر می‌شود.

مطابق شکل شماره ۴، وجود پیک در ناحیه ۳۴۳۹/۴۷ و ۳۰۵۱/۴۹ گروه هیدروکسیل (OH) را اثبات می‌نماید که بر اثر توتومری انول-کتو در حلقه لاکتونی دیده می‌شود. همچنین جذب در ناحیه ۲۸۵۷/۴۵، ۲۹۶۷/۴۶ و۲۹۲۳/۴۳ وجود ارتعاش کششی پیوند C-H= آلکنی را اثبات می‌نماید. جذب در ناحیه‌ی ۱۷۰۹/۳۸ نشان‌دهنده وجود پیوند (C=O) مربوط به کتون می‌باشد. جذب در ناحیه ۱۶۱۲/۳۸ وجود پیوند (C=C) را اثبات می‌کند. پیک ناحیه ۱۳۷۸/۴۵ مربوط به ارتعاش خمشی CH_3 می‌باشد. پیک ۱۱۲۵/۴۳ و ۱۲۰۲/۴۸ به ترتیب مربوط به ارتعاشات کششی C-O و C-C می‌باشد.

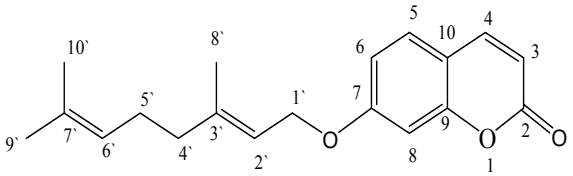


شکل شماره ۳- طیف کلی (DEPT)



شکل شماره ۴- طیف (IR) ترکیب Auraptene

با توجه به طیف‌های (IR, DEPT, ^{13}C-NMR, ^{1}H-NMR) اثبات می‌شود که ترکیب استخراج شده از گیاه *F. persica* var. *latisecta* نوعی کومارین با نام Auraptene با مشخصات زیر می‌باشد که شناسایی و تعیین ساختار مولکولی شد. ساختار شیمیایی و نام ترکیب موردنظر به صورت زیر است.



شکل ظاهری: کریستال سفید

نام ترکیب شناسایی شده: (Auraptene)

نام دیگر: (7-genaryloxycoumarin)

فرمول مولکولی: ($C_{19}H_{22}O_3$)

جرم مولکولی: (g/mol) ۲۹۸

نقطه ذوب: ۶۳ درجه سانتی‌گراد

بحث

گیاه *Ferula* شامل ترکیبات زیادی از کومارین‌ها و پلی سولفیدها است و دارای خواص دارویی زیادی نظیر ضد سرطان، ضد باکتری، ضد قارچ، مهار فعالیت ضد التهاب هستند [۱۱]. ریشه گونه‌های *Ferula* سرشار از اترهای کومارینی و سزکویی‌ترپنی است [۱۲]. شاه‌وردی و همکاران توسط روش‌های اسپکتروسکوپی از عصاره ریشه واریته دیگر این گونه با نام *F. persica* var. *persica* کومارین جدیدی با نام (Umbelliprenin) شناسایی کردند [۱۳]. حبیبی و روستایی از عصاره کلروفرمی گیاه *Ferula hirtella* که از رویشگاه طبیعی خود در آباده فارس جمع‌آوری شده بود دو کومارین به نام فارنسیفرول C (Farneciferol C) و اومبلی پرنین (Umbelliprenin) استخراج و شناسایی نمودند [۱۴]. در مطالعه دیگری سمیت سلولی این ترکیب کومارینی (Umbelliprenin) در گونه‌های دیگری از جنس *Ferula* از جمله *F. assa-foetida* و *F. szowitsiana* نشان داده شد [۱۵]. همچنین در مطالعه دیگری خواص بیولوژیکی سزکویی

ترپن کومارینی در جنس *Ferula* مشخص شده است [۱۶]. در سال ۲۰۱۲ یک سزکویی‌ترپن کومارین جدید با نام (*Latisectin*) از ریشه گیاه *F. persica* var. *latisecta* استخراج و شناسایی شد [۱۱]. در سال ۲۰۱۶ به بررسی خواص آنتی‌باکتریال کومارین‌های سزکویی‌ترپنی و دی سزکویی‌ترپنی گیاه *F. pseudoalliacea* پرداخته شد [۱۷]. قنادی و همکاران نیز به بررسی خواص ضد ویروسی سه کومارین سزکویی‌ترپنی با نام‌های (badrakemin acetate، kellerin و samarcandin) از صمغ ریشه گیاه *F. assa-foetida* پرداختند [۱۸]. صفایی و همکاران به بررسی اثر ضد باکتریایی عصاره الکلی گیاه اندمیک کمای بینالودی *F. flabelliloba* بر روی باکتری‌های گرم مثبت و منفی پرداخته و دریافتند که جنس *Ferula* به دلیل داشتن ترکیبات شیمیایی مختلف از جمله ترپنوئید کومارین‌ها و سزکویی‌ترپن‌های لاکتونی دارای فعالیت ضد میکروبی هستند [۱۹]. در مطالعه دیگری هم که در سال ۲۰۱۳ انجام شد به بررسی فعالیت مهارکنندگی آنزیم استیل کولین استرازی عصاره برخی گونه‌های جنس *Ferula* شامل: *F. hezarlalezarica*، *F. hirtella*، *F. oopoda*، *F. ovina* و *F. persica* var. *persica* و *F. szowitsiana* پرداخته و چنین بیان شد که ترکیبات نسبتاً غیر قطبی گیاه *F. persica* var. *persica* دارای اثرات مهارکننده آنزیم استیل کولین استرازی می‌باشد. در نتیجه با توجه به وجود سزکویی‌ترپن کومارین‌ها به عنوان ترکیبات شاخص جنس *Ferula* شاید بتوان این ترکیبات را عامل اصلی اثرات مهار آنزیمی این گیاه دانست [۲۰]. در تحقیق دیگری که در سال ۲۰۰۸ انجام شد، بیان شد که گونه‌های جنس *Ferula* با تولید کومارین آمبلی پرنین (Umbelliprenin) اثرات ضد سرطانی و اثر ضد لیشمانیوز در مقابل پروماسیتگوت‌ها دارند [۲۱]. هیلان و همکاران نیز به فعالیت آنتی‌اکسیدانی و نیز فعالیت ضد میکروبی عصاره در مقابل باکتری‌های گرم مثبت به دلیل وجود کومارین آمبلی پرنین (Umbelliprenin) در گونه‌های مختلف جنس *Ferula* پی‌بردند [۲۲]. طبق بررسی-های انجام شده روی سوابق جنس *Ferula* هیچ‌گونه مطالعه فیتوشیمیایی بر روی اندام هوایی گیاه *F. persica* var. *latisecta* انجام نشده است و لذا ترکیب کومارینی حاصل از مطالعه حاضر، برای اولین بار در اندام هوایی این جنس و واریته شناسایی و گزارش شده است. تاکنون ترکیب Auraptene، به طور عمده تاکنون از گیاهان خانواده (Rutaceae) جدا شده است که بسیاری از آنها مانند مرکبات به عنوان غذا در بسیاری از کشورها استفاده می‌شود [۲۳]. در مطالعه مجزایی اثر ضد التهابی و ضد سرطانی ترکیب Auraptene استخراج شده از مرکبات اثبات شده است [۲۴، ۲۳]. همان‌طور که اشاره شد در تحقیقات گذشته در مورد جنس *Ferula* وجود ترکیبات کومارینی ثابت شده و اثرات بیولوژیکی مختلفی هم برای برخی از این ترکیبات گزارش شده است. نتایج حاصله در این مطالعه برای اولین بار نشان دهنده حضور یک ترکیب کومارینی با نام Auraptene در گیاه مورد مطالعه بود و تأییدکننده نتایج تحقیقات پیشینیان می‌باشد. این ترکیب یک ترکیب شناخته شده در طب سنتی چین بوده و بویژه در بین مرکبات سه جنس poncirus، citrus و fortunella به دلیل داشتن ترکیب Auraptene فراوان برای درمان بیماری‌های مرتبط با التهاب به مدت طولانی مورد استفاده قرار می‌گیرد [۲۵]. با توجه به اندمیک بودن این گیاه در ایران و همچنین گزارش حضور این ترکیب جدید در این گیاه دارویی شناخته شده، هرگونه مطالعه‌ای در حوزه‌های مختلف مرتبط با این گیاه می‌تواند زمینه‌ساز بهره‌برداری‌های مختلف دارویی و صنعتی شده و لذا شایسته است تا تحقیقات بیشتری درخصوص اثرات درمانی و فارماکولوژیکی این گیاه صورت پذیرد.

تشکر و قدردانی

از واحد علوم دارویی دانشگاه آزاد اسلامی جهت مساعدت و در اختیار گذاشتن تجهیزات آزمایشگاهی و همچنین از پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی جهت معرفی، شناسایی دقیق و معتبرسازی گیاه تقدیر و تشکر می‌شود.

منابع

1. Adams RP. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography. Quadrupole Mass Spectroscopy Allured PublCarol Stream, IL. 2007, 804 p.

2. Porter JW and Spurgeon SL. Biosynthesis of Isoprenoid Compounds. A Wiley-Interscience publication, University of California, USA, 1981, 1: 1-46.

3. Gupta R. Plant Taxonomy Past present and future. The energy and resources Institute. (TERI). TERI Press. NewDelhi, India. 2012, 376 p.

4. Hedge I.C., Lamond. J.M. and Rechinger K.H. Umbeliferae in Rechinger, K.H. (ed.), -Flora Iranica, Vol 162. Academische Druck verlasgsanstalt graze, Austria. 1987, pp: 400-401.

5. Jalili A and Jamzad Z. Red data book of Iran. Research institute of forest and rangelands, Tehran. 1999, 748 p.

6. Iranshahi M, Amin GR and Shafiee A. A New Coumarin from *Ferula persica*. *Pharmaceutical Biology* 2004; 42 (6): 440-442.

7. Bagirov VY, Gasanova RY, Burma OI and Bankovskii AI. Coumarins of *Ferula szovitsiana* and *Ferula persica*. *Khimiya Prirodnykh Soedinenii* 1977; 2: 279-280.

8. Stetskov VV, Lugoskoi AI, Ban'kovskii AI and Pakaln DA. *Ferula persica* flavonoids. *Khimiya Prirodnykh Soedinenii* 1980; 3: 409-410.

9. Iranshahi M, Amin G, Jalalizadeh H and Shafiee A. New germacrane derivative from *Ferula persica* var. *latisecta*. Chamberlain. *Pharmaceutical Biology (International Journal of Pharmacognosy)* 2003; 41 (6): 431-433.

10. Iranshahi M, Mojarab M, Sadeghian H, Hanafi-Bojd MY and Schneider B. Polar secondary metabolites of *Ferula persica* roots. *Phytochemistry* 2008; 69 (2): 437-478.

11. Sattar Z and Iranshahi M. Phytochemistry and pharmacology of *Ferula persica* Boiss. *Iranian J. Basic Medical Sci.* 2017; 20: 1-8.

12. Iranshahi M, Amanolahi F and Schneider B. New sesquiterpene coumarin from the roots of *Ferula Latisecta. Avicenna Journal of Phytomedicine* 2012; 2 (3): 133-138.

13. Shahverdi AR, Iranshahi M, Mirjani RA, Jamalifar H, Amin GHR and Shafiei A. Bioassay guided isolation and identification of antibacterial compound from *Ferula persica* var. *persica* roots. *Daru* 2005; 13 (1): 17-19.

14. Habibi Z and Roustaei E. Purification and Structured Term in Ation of Compounds in Chloroform Extract of the Aerial Parts of the Plant *Ferula hirtella* (In persian). *Journal of Medicinal Plants* 2013; 4 (48): 126-135.

15. Ziyaratniya M. The role of biotechnology in the production of secondary metabolites of medicinal plants. third national conference on agriculture biotechnology in Iran (medicinal plants and animals) in Mashhad ferdowsi university, 2012.

16. Nazari ZE and Iranshahi M. Biologically active sesquiterpene coumarins from *Ferula* species. *Phytotherapy Research* 2011; 25 (3): 315-323.

17. Dastan D, Salehi P, Aliahmadi A, Gohari AR, Maroofi H and Ardalan A. New coumarin derivatives from *Ferula pseudoalliacea* with antibacterial activity. *Natural Product Research* 2016; 30 (24): 2747-2753.

18. Ghannadi A, Fallahian K, Shokoohinia Y, Behbahani M and Shahnoush A. Anti-viral Evaluation of sesquiterpene coumarins from *Ferula assa-foetida*. *Iranian Journal of Pharmaceutial Research* 2014; 13 (2): 523 -530.

19. Safayi L, Ejtehadi H, Mashreghi M and Pardeli P. An Antimicrobial Effect of Alcoholic Extract of the *Ferula Flabelliloba* Endemic Plants. National conference of medicinal plants, 2007, 916.

20. Shekarchi M, Hajimehdipoor H, Naghibi F, Ara L and Moazeni Zahan H, Investigating Acetylcholinesterase Inhibitory Effects of some

Ferula Species (In Persian). *J. Med. Plants* 2013; 2 (46): 106-112.

21. Barthomeuf C, Lim S, Iranshahi M and Chollet P. Umbelliprenin from *Ferula szowitsiana* inhibits the growth of human M4Beu metastatic pigmented malignant melanoma cells through cell-cycle arrest in G1 and induction of caspase-dependent apoptosis. *Phytomedicine* 2008; 15: 103-111.

22. Hilan C, Sfeir R, ElHage Hage R, Jawich D, Frem ME Jawhar K. Evaluation of the anti bacterial activities of *Ferula hermonis* (Bioss). *Lebanese Science Journal* 2007; 8 (2): 135-151.

23. La VD, Zhao L, Epifano F, Genevese S and Gremer D. Anti inflammatory and wound healing potential of *citrus auraptene*. *J. Med. Food Chem.* 2013; 16 (10): 961-4.

24. Moon JY, Kim H and Kim Cho S. Auraptene a major comound of supercritical fluid extract of phalsak (*Citrus hassaku* hortex tanaka) induces apoptosis through the suppression of mTOR pathway in human gastric cancer SNU-1 cells. Evidence based complementary and alternative medicine, ID 402385,10 pages, 2015.

25. Yan H, Ma ZC, Peng S and Deng X. Anti inflammatory effect of Auraptene extracted from trifoliate orange (*Poncirus trifoliate*) on LPS stimulated raw 264/7 cells. *Inflammation* 2013; 36 (6): 1523-1532.

Isolation and Determination of Cumarin Constituent "Aurapten" from *Ferula persica* var. *latisecta* an Endemic Medicinal Plant of Iran

Sarvi S (M.Sc.)[1], Taherkhani M (Ph.D.)[2*], Ghorbani Nohooji M (Ph.D.)[3]

1- Department of Phytochemistry and Essential Oil Technology, Faculty of Pharmaceutical Chemistry, Pharmaceutical Sciences Branch, Islamic Azad University, Tehran - Iran (IAUPS)
2- Department of Chemistry, College of Science, Takestan Branch, Islamic Azad University, Takestan, Iran
3- Medicinal Plants Research Center, Institute of Medicinal Plants, ACECR, Karaj, Iran
*Corresponding author: Department of Chemistry, College of Science, Takestan Branch, Islamic Azad University, Takestan, Iran
Tel & Fax: +98-21-44492258
E-mail: mahtaherkhani@yahoo.com, mah.taherkhani@tiau.ac.ir

Abstract

Background: Medicinal plants of Genus *Ferula* are prennial herbs of Apiaceae family which are widely distributed all around the word. Many of *Feula* species are exclusive and endemic to Iran which has widespread uses in traditional medicine as food additive, as well as a carminative, antispasmodic and expectorants. Coumarins, flavonoids and sulfur-containing compounds with different biological effects have been reported from the plant.

Objective: The phytochemical investigation on total extract of the aerial parts of *Ferula persica* Willd var. *Latisecta* collected from the Central Alborz Protected Area was subjected with the aim of purification and determination of main metabolite constituents of the plant extract.

Methods: Dried and powdered plant material was extracted by maceration method. Then the extract was concentrated under reduced pressure to leave a residue which was defatted and chromatographed on a silica gel column by increasing slightly the polarity with solvent. After the serial fractionation the fractions were compared by TLC, and those giving similar coumarin spots were combined and further purified on PLC to give a pure natural compound.

Results: After the purification step the remarkable constituents were obtained. Elucidation of results by spectral methods (IR, ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR and DEPT) demonstrate that a coumarin namely: Auraptene (7-genaryloxycoumarin) was isolated from the aerial parts of *F. persica*. var. *latisecta*.

Conclusion: *F. persica* is an endemic and endangered species of medicinal plants of Iran which contains different natural compounds such as coumarins. So the Protection of the plant for its economic and scientific uses is so important.

Keywords: *Ferula persica* var. *latisecta*, Chromatography, Coumarin, Extract, Purification