

بررسی و مقایسه تانن‌های حاصل از دو گونه سرو کوهی *Juniperus polycarpus* & *Juniperus communis* از استان گلستان

سحر رضوانی امامزاده هاشمی

کارشناسی ارشد علوم گیاهی، عضو باشگاه پژوهشگران جوان واحد رشت، مدرس دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت
آدرس مکاتبه: گیلان، رشت، خیابان استخر، رودبارتان کوچه شهید حسین یگانه، پلاک ۱۲۴
کدپستی: ۹۳۵۸۵ - ۴۱۸۳۸، تلفن: ۳۲۲۹۱۴۶ (۰۱۳۱)
پست الکترونیک: Sahar_Rezvani2056@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۸۷/۲/۲۲

تاریخ تصویب: ۸۸/۶/۳

چکیده

مقدمه: ارس^۱ و پیرو^۲ از مهم‌ترین سوزنی برگان بومی ایران هستند و به عنوان مقاوم‌ترین درختان به سرمای شدید و خشکی، جایگاه ویژه‌ای در نواحی کوهستانی ایران دارند.
هدف: در این پژوهش سعی شده است ویژگی‌های کمی و کیفی مواد موثره و اسانس مخروپ‌های ماده آنها با یکدیگر مقایسه و بررسی شود.

روش بررسی: جهت بررسی اسانس حاصل از مخروپ‌های ماده این دو گیاه توسط GC-MS مورد شناسایی قرار گرفت.
نتایج: نتایج نشان داد که مواد موثره مخروپ‌های ماده این دو گیاه به طور چشمگیری با یکدیگر از نظر کمی و کیفی متفاوت هستند.
۳۰ نوع ماده موثره در گیاه ارس شناسایی شدند که بیشترین درصد آنها به ترتیب مربوط به *4-terpineol* (۱۷/۷۲)، *limonene* (۹/۵۳)، *sabinene* (۸/۵۸)، *γ-terpinene* (۸/۱۰)، *δ-cadinene* (۷/۱۳) بود، در حالی که در گیاه پیرو ۲۷ نوع ماده شناسایی شد که به ترتیب بیشترین درصد آنها مربوط به *α-pinene* (۴۶/۶۳)، *α-cedrol* (۱۲/۳۶)، *β-pinene* (۴/۶۴)، *4-terpineol* (۲/۸۶) و *α-terpinolene* (۲/۴۵) بود.

نتیجه‌گیری: در مجموع مشخص شد که ارتفاع محل رویش و آب و هوای منطقه روی میزان ترپنوئیدها اثر می‌گذارد و باعث افزایش آن می‌شود.

کل‌واژگان: ارس، پیرو، ماده موثره، GC/MS

^۱ *Juniperus polycarpus* L.

^۲ *Juniperus communis* L.



مقدمه

گسترش تحقیقات و کشف اثرات مضر جانبی داروهای شیمیایی، نظر دانشمندان را به استفاده از داروهای گیاهی معطوف ساخته است، به نحوی که تجویز و کاربرد داروهای گیاهی در کشورهای مختلف جهان و به‌ویژه در کشورهای پیشرفته به شدت افزایش یافته و تحقیقات دامنه‌داری را سبب شده است. دگرگونی در روش‌های بررسی گیاهان و نیز پیشرفت و توسعه علم بیوشیمی، راه‌های جدید تحقیقاتی را برای حل مشکلات دیرینه در زمینه شناسایی مواد طبیعی مانند آلکالوئیدها، رنگرزه‌ها و ترپن‌ویدها باز کرد. این مواد از اجزای تشکیل‌دهنده اسانس‌ها هستند [۸] و در صنایع عطرسازی، بهداشتی، مواد غذایی و دارویی حائز اهمیت می‌باشند. سیمای متنوع این مواد طبیعی، امروزه مورد مطالعه و بررسی شیمیدان‌ها، فیزیولوژیست‌ها، داروشناسان، کموتاکسونومیست‌ها و نیز تاریخ‌دانان قرار گرفته است. این مواد و به‌ویژه ادویه‌ها در اقتصاد بسیاری از کشورهای جهان امروزه موثر بوده و در گذشته نیز در دوران باستان مشرق زمین و همچنین یونان و رم قدیم نقش بسیار مهمی بازی می‌کردند [۸]. گیاهان جنس *Juniperus* از مهم‌ترین گیاهان رویشی ایران هستند و خواص بیولوژیکی و فارماکولوژیکی فراوانی دارند مثل اسانس‌های مخروط ماده (میوه) ارس و پیرو به خاطر داشتن *Terpinene-4-ol* قرن‌ها به عنوان یک مدر استفاده می‌شدند. این گیاهان همچنین در طب سنتی به عنوان ضدنفخ، باکتری‌زدا و درمان سوءهاضمه به کار می‌روند. علاوه بر مصارف دارویی روغن ارس و پیرو در محصولات نوشابه‌سازی، بهداشتی و زیبایی استفاده می‌شود [۵]. اثرات دارویی اسانس *Juniperus excelsa* را بررسی نمودند و نشان دادند که درصد و میزان بالای اسانس آن ایجاد افسردگی نموده و مقادیر مناسب آن فشار خون را بدون اینکه سرعت یا عمق تنفس را متاثر نماید، پایین می‌آورد و متناسب با میزان به کار برده شده ترشح استیل کولین را تسریع می‌نمایند [۷]. تاثیر اسانس‌های *Juniperus sabina* را بر روی جنین‌های موش مطالعه نمودند. طبق پژوهش آنها، مقادیر کمی اسانس آن

عوارضی مثل کم وزنی، بروز هپاتیت و ... به بار می‌آورد و با مقادیر بالا سقط جنین حاصل می‌شود [۲].

با بررسی اسانس *Juniperus excelsa* ترکیب‌های شیمیایی مختلف آن را شناسایی نمودند. طبق گزارش آنها *α-pinene* و *Limonene* بیشترین ترکیب موجود در این گیاه می‌باشند [۳]. روغن‌های اسانسی گونه پیرو *Juniperus polycarpus* را بررسی نمودند و گزارش کردند اسانس‌های پیرو شامل ۷۷ درصد هیدروکربن‌های مونوترپن و ۲/۹۵ درصد مونوترپن‌های اکسیژن‌دار و ۲۰ درصد هیدروکربن‌های سزکویی‌ترپنی و الکل‌های مربوطه می‌باشند [۸]. با توجه به اهمیت این گیاهان و نیز از آنجا که گیاه ارس و پیرو از مهم‌ترین گیاهان بومی منطقه چهار باغ استان گلستان می‌باشند و مطالعه در مورد شناسایی ترکیبات اسانس آنها انجام نشده است، در این تحقیق بر آن هستیم به بررسی و شناسایی کمی و کیفی مواد موثره موجود در مخروط‌های ماده این دو گیاه بپردازیم.

روش جمع‌آوری مخروط‌های ماده گیاه سرو کوهی

اندام‌های گیاهی مورد استفاده در این پژوهش شامل مخروط‌های ماده درختان ۷۰-۸۰ ساله ارس و پیرو موجود در منطقه بوده است که در خرداد ماه سال ۸۵ جمع‌آوری شدند. جهت انجام تحقیق ابتدا مخروط‌های ماده را خشک نموده، با دستگاه خردکن برقی به شکل پودر درآورده و سپس برای استخراج اسانس‌های مربوطه مورد استفاده قرار گرفته‌اند.

استخراج اسانس

روشی که برای استخراج اسانس مورد استفاده قرار گرفت روش تقطیر با بخار آب در سیستم پیشنهادی Dr.Touch بود. استخراج اسانس از نمونه‌های خشک (در فصل بهار) صورت گرفت. برای استخراج اسانس از نمونه‌ها خشک شده مخروط‌های ماده پس از برداشت، در محوطه آزمایشگاه (دمای ۲۰۰-۲۵ درجه سانتی‌گراد) خشک و نگهداری شد. به منظور جداسازی اسانس با دستگاه جداساز کلونجر انجام شد. مقدار



Juniperos communis از دقیقه ۱۶/۲۵ تا ۱۸/۵۷ مواد موثره خروجی را در منطقه قطبی نشان می‌دهد. در حالی که کروماتوگرام شماره ۲ مربوط به گیاه *Juniperus polycarpus* خروجی مواد موثره را در دامنه وسیعی از مناطق غیرقطبی تا قطبی نشان می‌دهد.

بحث

ترتیب مواد موثره بر اساس بیشترین درصد خروجی آن‌ها از دستگاه GC-MS در دو گونه

ترتیب خروجی مواد موثر از دستگاه GC-MS در دو گونه بر اساس نتایج به دست آمده از دستگاه GC-MS شماره ۱ مربوط به گیاه *Juniperos communis* از دقیقه ۱۶/۲۵ تا ۱۸/۵۷ مواد موثره خروجی را در منطقه قطبی نشان داد. در حالی که GC-MS شماره ۲ مربوط به گیاه *Juniperus polycarpus* خروجی مواد موثره را در دامنه وسیعی از مناطق غیرقطبی تا قطبی نشان می‌دهد. این مطلب نشان می‌دهد که این دو گیاه از نظر نوع مواد موثره با یکدیگر تفاوت‌های قابل ملاحظه‌ای دارند بنابراین تفاوت گونه‌ای بین آن‌ها در درصد و نوع مواد موثره نیز قابل مشاهده است.

بر اساس نتایج به دست آمده از دستگاه GC-MS در گیاه *J. polycarpus* (جدول شماره ۱) به ترتیب خروجی مواد موثره ترپنوییدی و غیرترپنوییدی را نشان می‌دهد که خروجی دستگاه از دقیقه ۵/۴۱ الی ۲۰/۱۷ بوده است که در آن ترکیب *Terpinene 4-ol* با بیشترین درصد در دقیقه ۱۱/۳۲ خارج شده است در حالی که در گیاه *J. communis* خروجی دستگاه از دقیقه ۵/۶۸ الی ۲۲/۴۸ بوده است که در آن ترکیب *α-pinene* با بیشترین درصد در دقیقه ۵/۶۷ خارج شده است. [۱] با بررسی اسانس *Juniperus excelsa* ترکیب‌های شیمیایی مختلف آن را شناسایی نمودند. طبق گزارش آنها *α-pinene* و *Limonene* بیشترین ترکیب موجود در این گیاه بوده است. در گیاه ارس تعداد ۳۰ نوع ماده موثره شناسایی شده است که به ترتیب بیشترین درصد مواد (جدول شماره ۱) شامل *Terpinene 4-ol* (۱۷/۷۲)، *Limonene* (۹/۵۳)، *Sabinene* (۸/۵۸)، *γ-Terpinene* (۸/۱۰) و *δ-Cadinene* (۷/۱۳) و *α-Terpinene* (۴/۸۲) بوده‌اند.

۲۰ گرم مخروط ماده ارس و پیرو خرد شده را به بالن همراه با ۵۰۰ سی‌سی آب مقطر اضافه کرده به طوری که بخار آب از بالن در حال جوش از طریق لوله شیشه‌ای متصل به آن در اثر میعان با آب سرد درون قسمت دیگر لوله شیشه‌ای منتقل شد، قطرات حاوی اسانس با بوی تندی به تدریج جمع‌آوری شد. برای اینکه بخار حاوی مواد فرار قبل از رسیدن به مبرد سرد نشود، لازم است که جدار دستگاه گرم شود. این کار توسط دستگاه هیتر با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵/۵ ساعت که یک تنظیم‌کننده دما است، انجام شد. به این ترتیب اسانس با مقداری آب جوش خارج شده و در ظرف جمع‌کننده جمع‌آوری شود. تقطیر به مدت ۵/۵ ساعت ادامه یافت [۴]. اسانس ارس و پیرو در آب حل نشده، بلکه به صورت قطرات کوچکی روی سطح آب قرار می‌گیرد، به علت دشواری جمع‌آوری اسانس ارس و پیرو، با استفاده از حلال نرمال-هگزان جداکننده، اسانس از آب جدا می‌شود. اسانس در دمای پایین (۴۰ درجه سانتی‌گراد) و تاریکی نگهداری شد [۹].

شناسایی اسانس‌ها به کمک GC/MS

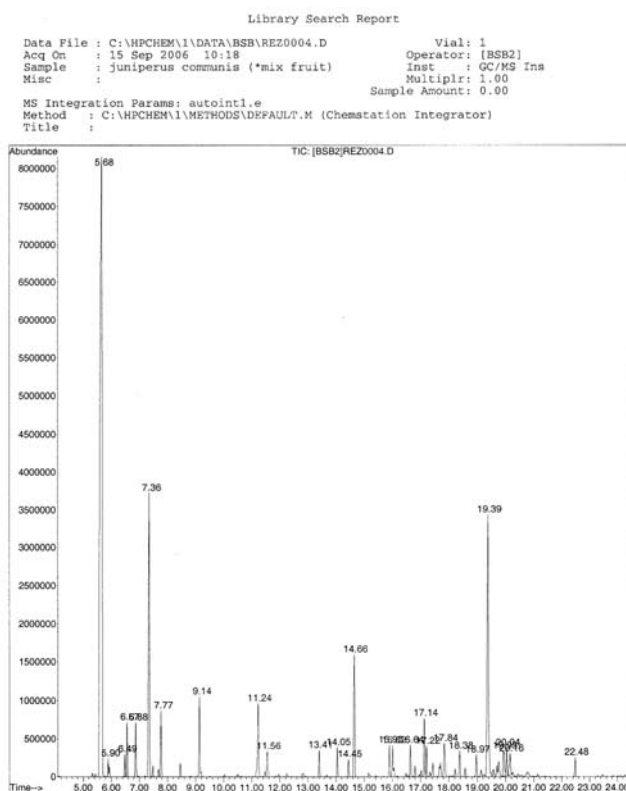
دستگاه گاز کروماتوگرافی و طیف‌سنجی جرمی (GC/MS) تلفیقی از دو روش است که جهت جداسازی و تجزیه ترکیب‌های شیمیایی موجود در اسانس مورد استفاده قرار می‌گیرد. در بررسی اسانس نمونه‌های مورد نظر از GC HP- 6890 و MS HP- 5973 و ستون (HP-5ms 30 m × 0.25 μm × 0.32) به ارتفاع ۳۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر استفاده شد. دمای تزریق ۲۶۰ درجه سانتی‌گراد و دمای ستون نیز از ۶۰ تا ۲۶۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۳ درجه در دقیقه بود. مطالعات توسط دستگاه Varian 3400 GC/MS انجام شد.

نتایج

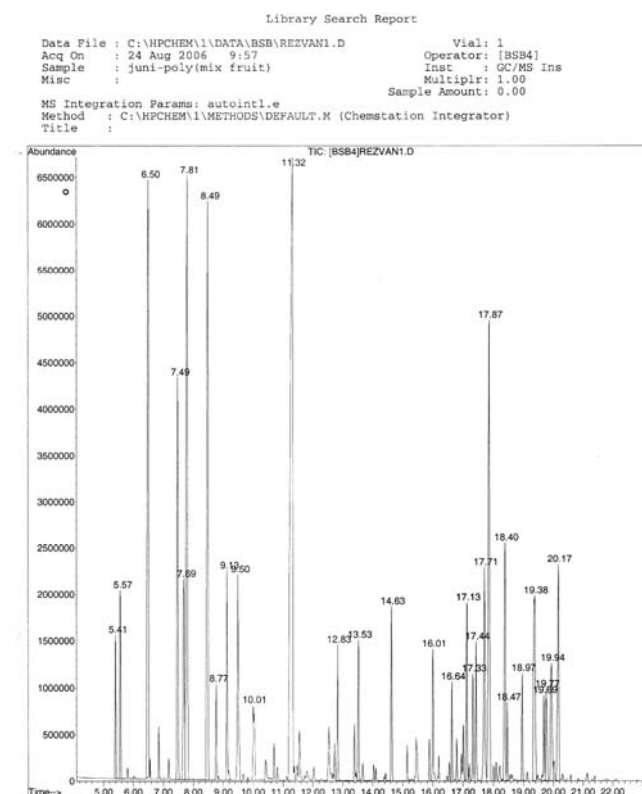
شناسایی نوع و درصد مواد موثره دو گونه *J. communis* و *J. Polycarpus*

پس از عصاره‌گیری مخروط‌های ماده دو گونه سرو کوهی با دستگاه جداساز کلونجر، ماده به دست آمده به دستگاه GS/MS تزریق شد. کروماتوگرام شماره ۱ مربوط به گیاه





کروماتوگرام شماره ۱- مربوط به مخروط‌های ماده *Juniperus communis*



کروماتوگرام شماره ۲- مربوط به مخروط‌های ماده *Juniperus polycarpus*

جدول شماره ۱- مواد موثره شناسایی شده در مخروط‌های ماده *J. Polycarpus* به ترتیب درصد

شماره	نام ترکیب	درصد	RI
۱	<i>Terpinen4-ol</i>	۱۷/۷۲	۱۱۵۸
۲	<i>Limonene</i>	۹/۵۳	۱۰۲۵
۳	<i>Sabinene</i>	۸/۵۸	۹۷۱
۴	γ - <i>terpinene</i>	۸/۱۰	۱۰۴۷
۵	δ - <i>cadinene</i>	۷/۱۳	۱۵۱۶
۶	α - <i>terpinene</i>	۴/۸۲	۱۰۱۰
۷	<i>Oplopenone</i>	۳/۸۲	۱۵۸۲
۸	<i>p-cymene</i>	۳/۲۱	۱۰۱۳
۹	δ - <i>muurolol</i>	۳/۱۶	۱۶۴۵
۱۰	<i>Elemol</i>	۳/۱۵	۱۵۳۳
۱۱	γ - <i>cadinene</i>	۳/۰۵	۱۵۰۸
۱۲	<i>Linalool</i>	۲/۸۷	۱۰۸۹
۱۳	δ - <i>cadinene</i>	۲/۱۴	۱۶۱۶
۱۴	α - <i>terpinolene</i>	۲/۰۸	۱۰۷۷
۱۵	γ - <i>elemene</i>	۱/۹۲	۱۳۸۲
۱۶	<i>Germacrene-D</i>	۱/۸۹	۱۴۶۷
۱۷	α - <i>pinene</i>	۱/۶۹	۹۳۱
۱۸	<i>Menthyl</i>	۱/۴۶	۱۲۱۴
۱۹	<i>p-menth-2-en-1-ol</i>	۱/۴۵	۱۱۰۶
۲۰	α - <i>muurolene</i>	۱/۴۵	۱۴۹۴
۲۱	α - <i>Gurjunene</i>	۱/۳۳	۱۶۰۹
۲۲	β - <i>caryophyllene</i>	۱/۳۳	۱۴۰۸
۲۳	α - <i>thujene</i>	۱/۲۹	۹۲۲
۲۴	<i>2, 3- dimethyl cyclohexanol</i>	۱/۲۰	۱۱۷۶
۲۵	<i>Epi-bicyclose quiphellandrene</i>	۱/۰۷	۱۴۸۹
۲۶	<i>Caryophyllene oxide</i>	۱/۰۳	۱۵۷۶
۲۷	<i>Cis-sabienhydrate</i>	۰/۹۷	۱۰۵۱
۲۸	α - <i>Humulene</i>	۰/۹۵	۱۴۴۲
۲۹	<i>Naphtalene</i>	۰/۸۹	۱۶۰۷
۳۰	<i>Germacrene-D</i>	۰/۷۰	۱۵۵۴

شناسایی شده است که به ترتیب بیشترین درصد مواد موثره (جدول شماره ۲) به ترتیب شامل (۴۶/۶۳) α -Pinene، (۱۲/۳۶) Cedrol، (۹/۸۵) 3-Carene، (۴/۶۴) β -pinene، (۲/۸۶) 4-Terpeneol، (۱/۹۰) Limonene بوده است.

از این نظر نتایج تحقیق حاضر با نتایج [۵] که بیشترین درصد مواد موثره را در مخروط‌های گیاه ارس ترکیب شیمیایی *Terpinene 4-ol* گزارش نموده است، مطابقت دارد. در حالی که در گیاه پیرو تعداد ۲۷ نوع ماده موثره



جدول شماره ۲- مواد موثره شناسایی شده در مخروط‌های ماده *J. Communis* به ترتیب درصد

شماره	نام ترکیب	درصد	RI
۱	<i>α-pinene</i>	۴۶/۶۳	۹۳۹
۲	<i>α-cedrol</i>	۱۲/۳۶	۱۳۰۹
۳	<i>DETA.3-carene</i>	۹/۸۵	۱۰۱۱
۴	<i>α-terpinolen</i>	۴/۶۴	۱۱۹۸
۵	<i>Terpine ol -4</i>	۲/۸۶	۱۰۸۹
۶	<i>Terpinolene</i>	۲/۴۵	۱۰۶۰
۷	<i>Limonene</i>	۱/۹۰	۱۰۳۰
۸	<i>Germacrene-D</i>	۱/۷۵	۱۲۵۴
۹	<i>Myrcene</i>	۱/۵۹	۹۹۱
۱۰	<i>β-cadinene</i>	۱/۴۳	۱۲۸۸
۱۱	<i>β-pinene</i>	۱/۳۸	۹۸۰
۱۲	<i>γ-cadinene</i>	۱/۲۵	۱۳۳۷
۱۳	<i>β-caryophyllene</i>	۱/۱۴	۱۲۲۶
۱۴	<i>β-cadinene</i>	۱/۱۰	۱۳۴۲
۱۵	<i>α-amorphene</i>	۰/۹۹	۱۲۰۵
۱۶	<i>α-Humulene</i>	۰/۹۵	۱۲۳۸
۱۷	<i>α-terpineol</i>	۰/۹۴	۱۱۱۰
۱۸	<i>δ-cadinene</i>	۰/۹۰	۱۳۳۹
۱۹	<i>α-muurolene</i>	۰/۸۹	۱۲۶۱
۲۰	<i>β-elemene</i>	۰/۸۹	۱۲۹۴
۲۱	<i>Carvacrol</i>	۰/۸۳	۱۱۵۴
۲۲	<i>Carvone</i>	۰/۷۴	۱۱۳۶
۲۳	<i>Junipene</i>	۰/۷۳	۱۳۰۰
۲۴	<i>Sabinene</i>	۰/۵۸	۹۷۴
۲۵	<i>α-cadinol</i>	۰/۵۴	۱۳۴۷
۲۶	<i>γ-terpinen</i>	۰/۵۰	۱۱۸۳
۲۷	<i>α-fenchen</i>	۰/۲۵	۹۵۰

در مورد گیاه پیرو نیز مطالعات دیگری توسط فُکسَمَن و همکاران [۶] انجام شده است که معادل ۳۵ نوع ماده موثره در گیاه پیرو شناسایی شده که به ترتیب بیشترین درصد ماده موثره مربوط به *α-pinene* (درصد ۲۹/۱۷) و *β-pinene* (درصد ۱۷/۸۴) است. در مورد گیاه پیرو اسانس‌های مخروط ماده خود [۶] اعلان کردند که در گیاه پیرو اسانس‌های مخروط ماده ۰/۵ الی ۲/۵ درصد از حجم کل مخروط راتشکیل می‌دهند و *limonene* (درصد ۰/۳۳) و *sabinene* (درصد ۱۳/۵۵) و *myrcene* بوده‌اند. فُکسَمَن و همکاران در مطالعات

در مورد گیاه پیرو نیز مطالعات دیگری توسط فُکسَمَن و همکاران [۶] انجام شده است که معادل ۳۵ نوع ماده موثره در گیاه پیرو شناسایی شده که به ترتیب بیشترین درصد ماده موثره مربوط به *α-pinene* (درصد ۲۹/۱۷) و *β-pinene* (درصد ۱۷/۸۴) است. در مورد گیاه پیرو اسانس‌های مخروط ماده خود [۶] اعلان کردند که در گیاه پیرو اسانس‌های مخروط ماده ۰/۵ الی ۲/۵ درصد از حجم کل مخروط راتشکیل می‌دهند و



بین دو گونه مورد مطالعه از نظر نوع مواد موثره غالب تفاوت وجود دارد طوری که بیشترین ترکیب موثره در ارس (۱۷/۷۲) *Terpinene 4-ol* و در گونه پیرو (۴۶/۶۳) α -Pinene بوده‌اند.

هیدروکربن‌های اصلی در ساختار آن شامل آلفا و بتا پینن، میرسن، ساینن، توژوئن و لیمونن می‌باشند. در مطالعات آنها سزکویی‌ترین‌های کاریفیلن، کادینن و المن و الکل ترینن – ۴- ال نیز مشاهده شدند. نتایج فوق حاکی از آن است که در

منابع

1. Adams RP, Thappa RK, Agarwal SQ, Kapahi BK and Sarin YK. The volatile leaf oils of *Juniperus semiglobos* from India Compared with *J. excelsa* M. Bieb. From Greece. *J. Essent. Oil Res.* 1992; 4: 214 - 9.
2. Adams RP, Cie-lin CH and Zhao-Zhen Z. The volatile leaf oils of *Juniperus przewalskii* Kom and forma *pendula*. *J. Essent. Oil Res.* 1994a; 6: 17 - 20.
3. Adams RP, Cie-lin CH and Zhao-Zhen Z. Comparisons of the volatile leaf oils of *Juniperus chinensis* L. *J. chinensis* var. *Kaizuca* Hort and *J. pyramidalis* from China. *J. Essent Oil Res.* 1994b; 6: 149 - 54.
4. Asadi S. Similar building design and continuously oil distillation tower Grocery. MSc Thesis Faculty of Tehran University 1996.
5. Chatzopoulou PS and Katsiotis ST. Study of the Essential oil from *Juniperus communis* berries cones growing wile in Greece. *Planta Med.* 1993; 59: 55 - 6.
6. Foxman B, Barlow R, d_Arcy H, Gillespie, B and Sobel JD. Urinary tract infection estimated incidence and associated costs. *Ann Epidemiol.* 2000; 10: 509 – 15.
7. Pradeep- Mishra S, Agrawal PK and Mishra P. Some observation on the pharmacological activities of the essential oil *Juniperus macrapoda*. *J. excelsa*. 1989; 60 (4): 339 - 45.
8. Sadri HA and Assadi M, Preliminary stadies on monoterpene composition of *Juniperus polycarpus*. *IRAN J. Bot.* 1994; 6 (2): 323 - 45.
9. Salehi Shanjani P. Effect of secondry metabolism and peroxides and polyphenoloxidase in *Juniperus*. MSc Department of Biology of Tehran University. 1986.

