

شناسایی ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس و بررسی ساختارهای ترشحی گیاه *Scrophularia striata* Boiss.

حمزه امیری^۱، حسین لاری یزدی^۱، اکبر اسماعیلی^۲، فرانک صوصانیا^۳، داریوش اقبالی^۴، غلام حسن ویسکرمی^۵، بهروز دوستی^۶ و احسان نورمحمدی^۷

- ۱- استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه لرستان، پست الکترونیک: Amiri_h_lu@yahoo.com
- ۲- استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد
- ۳- استادیار، گروه شیمی، دانشگاه آزاد واحد تهران شمال
- ۴- کارشناس ارشد سیستماتیک گیاهی، آموزش و پرورش شهرستان خرم‌آباد
- ۵- استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد خرم‌آباد
- ۶- دانشجو، گروه مهندسی منابع طبیعی، دانشگاه گیلان

تاریخ پذیرش: مهر ۱۳۸۹

تاریخ اصلاح نهایی: مهر ۱۳۸۹

تاریخ دریافت: اسفند ۱۳۸۸

چکیده

گونه گیاه از دامنه کوه‌های شمال غرب شهرستان کوهدشت در منطقه تنگ‌سیاب واقع در استان لرستان جمع‌آوری گردید و پس از خشک کردن گیاه در سایه، اسانس‌گیری از بخش‌های هوایی آن شامل ساقه، برگ و میوه با روش تقطیر با آب انجام شد. شناسایی ترکیب‌های موجود در اسانس به وسیله کروماتوگراف گازی (GC) و کروماتوگراف گازی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC/MS) انجام گردید. مطالعات آناتومیکی نیز توسط روش رنگ‌آمیزی مضاعف با استفاده از دو رنگ سبز متیل و قهقهه‌ای بیسمارک انجام شد. آنالیز اسانس *S. striata* منجر به شناسایی ۳۴ ترکیب شد که ۹۰٪ از کل اسانس را شامل می‌شود. نتایج این بررسی نشان داد که لینالول (۱۸٪)، تری‌متیل پنتا دکان-۲-اون (۸٪)، دی‌بوتیل فتالات (۷٪) و بتا-داماسکون (۵٪) مهمترین ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس را شامل می‌شوند. از طرف دیگر، بررسی‌های آناتومیکی نیز نشان داد که در زیر اپiderم و در منطقه پوست ایدیوبلاست‌های ترشح‌کننده اسانس و ترکیب‌های ترپن‌وئیدی مشاهده می‌شوند.

واژه‌های کلیدی: اسانس، آناتومی، ساختارهای ترشح‌کننده، ایدیوبلاست.

۷۴٪ از داروهای گیاهی که به شکل جدید استفاده می‌شوند، شناخت اثرهای دارویی شان به‌طور سنتی از گذشته منتقل شده است. با وجود پتانسیل‌های موجود، تولید و صادرات گیاهان دارویی بسیار کمتر از حد انتظار است (امیری، ۱۳۸۳). از طرف دیگر شناخت

مقدمه

گرایش روزافزون به استفاده از گیاهان دارویی و داروهای گیاهی در جهان توجهی ویژه به این گیاهان را برانگیخته است. بنا به اظهار سازمان بهداشت جهانی ۲۵٪ از داروهای متدائل دارای منشأ گیاهی هستند و

بررسی منابع نشان داد که به غیر از یک مورد که ترکیب‌های فرار ریشه گونه *S. ningpoensis* مورد بررسی قرار گرفته و مشخص شده است که اسیدهای چرب بخش عمدۀ انسان این گیاه را تشکیل می‌دهند، گزارش دیگری در مورد آنالیز انسان گونه‌های جنس Miyazawa & Okuno, (Scrophularia وجود ندارد) (2003). درمورد بررسی ساختارهای ترشحی گونه‌های جنس *Scrophularia* مطالعات قابل توجهی انجام شده و در اغلب آنها وجود ایدیوبلاست‌ها در گونه‌های این جنس مورد تأیید قرار گرفته است، به‌طوری که تحقیقات انجام شده Lersten و Curtis (1997) نشان داده است که از ۸۹ گونه *Scrophularia* مورد مطالعه ۶۲ گونه دارای ساختار ترشحی ایدیوبلاست می‌باشد که در سطح رویی و زیرین برگها و ساقه‌ها مشاهده می‌شوند و دارای موادی مثل رزین‌ها و ترکیب‌های فرار مثل انسان‌ها هستند. بررسی منابع نشان داد که تاکنون گزارشی در مورد شناسایی مواد تشکیل‌دهنده انسان و بررسی ساختارهای ترشحی *S. striata* وجود ندارد، بنابراین گزارش حاضر می‌تواند به عنوان اولین گزارش در این زمینه محسوب شود.

هدف از انجام این پژوهش شناسایی مواد تشکیل‌دهنده انسان و بررسی ساختارهای ترشحی گیاه *Scrophularia striata* است.

مواد و روشها

اندام‌های هوایی گیاه *Scrophularia striata* از رویشگاه طبیعی و از دامنه کوههای شمال غرب شهرستان کوهدهشت در منطقه تنگ‌سیاب واقع در استان لرستان جمع‌آوری گردید. گیاه مذکور در مرکز

ساختارهای تولیدکننده مواد مؤثره گیاهی می‌تواند در استخراج و بهره‌برداری از گیاهان دارویی بسیار مهم باشد. جنس *Scrophularia* متعلق به تیره Scrophulariaceae بوده که در ایران دارای ۵ گونه می‌باشد (مظفریان، ۱۳۷۵).

S. striata گیاهیست پایا، به ارتفاع ۳۰-۹۰ سانتی‌متر و ایستاده. ساقه‌ها متعدد، بدون کرک، منشعب، زاویه‌دار، با شیارهای ظریف طولی در سطح، دارای شاخه‌های کم و بیش برگدار، ایستاده گستردۀ، متنه‌ی به خوش‌گرزنی پُرگل و در قاعده برگ‌دار. برگها متناوب، پایینی‌ها؛ سرنیزه‌ای، به‌طور نامحسوس دمبرگ‌دار، با دندانه‌های بزرگ ارها؛ گاه مضاعف و سینوسی، میانی‌ها؛ به‌طور نامنظم و عمیقاً چندبخشی، با تقسیمات گستردۀ، محدود، مختصرًا متشی - سرنیزه‌ای، کشیده، و ممتد، قطعه انتهایی سه بخشی، در بالای ساقه بدون دمبرگ و باریک شده در قاعده. گلهای کوچک، تقریباً بدون پایه، ارغوانی مایل به بنشش، مجتمع در خوش‌گرزن‌های برگ‌دار و پُرگل، شامل گرزن‌های متناوب و مختصرًا دمگل‌دار (قهرمان، ۱۳۶۵).

در غرب کشور به صورت سنتی از جوشانده و دم‌کرده گیاه *S. striata* برای درمان عفونت‌های سطحی، عمقی و درمان فشار خون بالا استفاده می‌شود. به همین دلیل تحقیقاتی در زمینه اثر ضدمیکروبی عصاره‌های مختلف این گیاه بر علیه بعضی از میکروارگانیسم‌ها صورت گرفته و نشان داده است که بعضی از عصاره‌های این گیاه دارای فعالیت ضدمیکروبی بر علیه میکروارگانیسم‌های انتخابی است (شرافتی و همکاران، ۱۳۸۷؛ عباسی و همکاران، ۱۳۸۵).

شناسایی مواد متشکله اسانس به وسیله مقایسه طیف جرمی و اندیس بازداریشان با آنچه که در منابع وجود دارد انجام گردید (Adams, 2001).

برای مطالعات آناتومیکی از نمونه‌های فیکس شده در [FAA فرمالین (به میزان ۵۰۰)، الكل اتیلیک٪۵۰ (به میزان ۹۰۰) و اسید استیک (به میزان ۵۰۰)] با روش دستی برش‌گیری صورت گرفت. سپس برش‌های بدست آمده با روش رنگ‌آمیزی مضاعف توسط سبز متیل و قهوه‌ای بیسمارک رنگ‌آمیزی شده و توسط میکروسکوپ نوری مورد بررسی و تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

نتایج

نتایج مربوط به جداسازی و شناسایی مواد تشکیل دهنده موجود در اسانس به همراه درصد و اندیس بازداری آنها در جدول شماره ۱ آمده است. براساس نتایج این جدول در مجموع ۳۴ ترکیب در اسانس مورد مطالعه شناسایی شد که ٪۹۰/۳ کل اسانس را شامل می‌شوند. لینالول (٪۱۸/۳)، ۶، ۱۰، ۱۴-تریمتیل پنتا دکان-۲-اون (٪۸/۴)، دی بوتیل فتالات (٪۶/۹)، بتا-داماسکون (٪۵/۹)، آلفا-تریپئول (٪۴/۹) و جرماکرن دی (٪۴/۷۰) مهمترین ترکیب‌های اسانس را تشکیل می‌دهند.

بررسی منابع نشان داد که تاکتون گزارشی در مورد شناسایی مواد تشکیل دهنده اسانس *S. striata* وجود ندارد بنابراین گزارش حاضر می‌تواند به عنوان اولین گزارش در این زمینه محسوب شود.

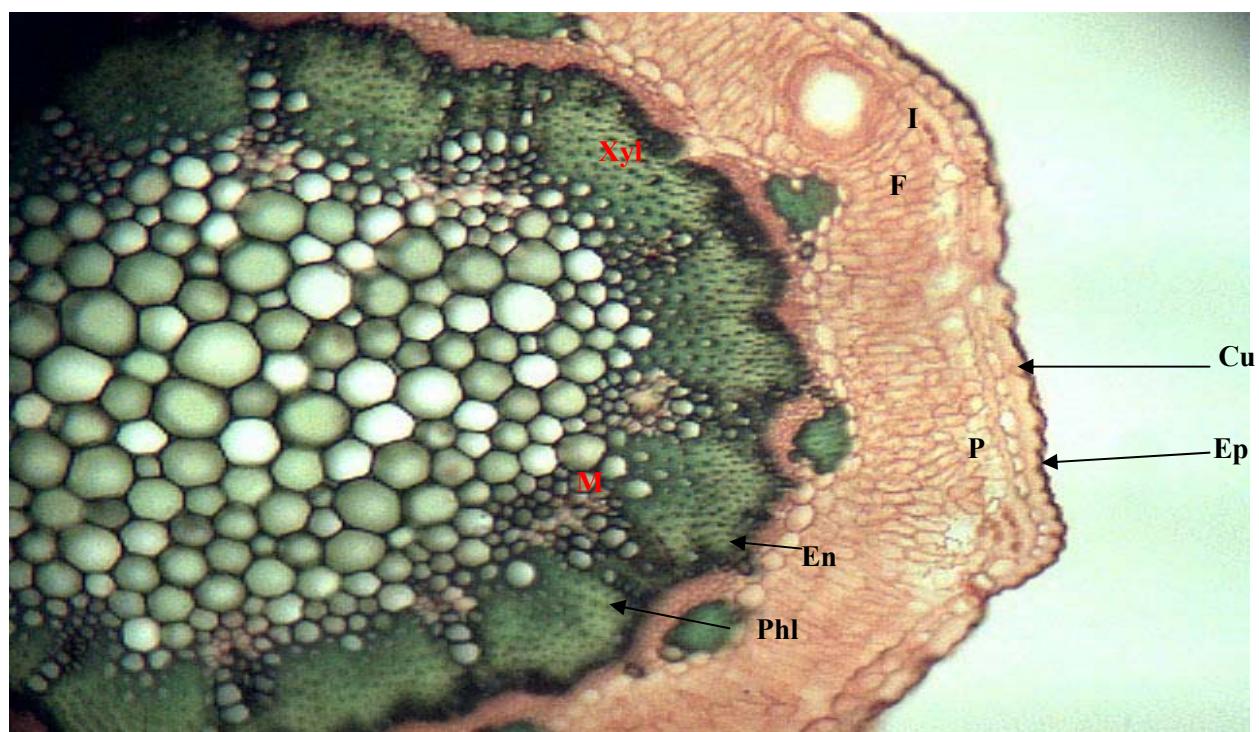
تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان لرستان مورد شناسایی قرار گرفت. ۱۰۰ گرم از نمونه‌های بخش‌های هوایی خشک شده گیاه شامل ساقه، برگ و میوه به مدت ۳ ساعت با استفاده از دستگاه کلونجر به روش تقطیر با آب مورد اسانس‌گیری قرار گرفت و بعد اسانس بدست آمده توسط سولفات سدیم رطوبت‌زدایی شد و در ظرف کوچک و در بسته در تاریکی و دمای ۲۰-درجه سانتی‌گراد تا زمان انجام آزمایشها نگهداری گردید.

آنالیز GC با دستگاه کروماتوگراف گازی مدل Shimadzu 15A انجام گردید. N_2 به عنوان گاز حامل DB-5 با سرعت (یک میلی‌لیتر در دقیقه) و ستون ۵ $\mu\text{m} \times ۰/۲\text{mm}$ و $۵۰\text{m} \times ۰/۳۲\mu\text{m}$ استفاده شد. دمای ستون در ۶۰°C برای مدت ۳ دقیقه نگهداری و بعد با سرعت ۵°C در دقیقه تا ۲۲۰°C افزایش یافت و برای ۵ دقیقه در ۲۲۰°C ثابت گردید. درصدهای نسبی با استفاده از نرم‌افزار کروماتوپیک C-R4A بدون استفاده از فاکتور تصحیح از سطح زیر منحنی برآورد شد.

آنالیزهای GC/MS با استفاده از دستگاه Hwlett-HP-5MS pakard 5973 مجهر-ز به ستون $۰/۲۵\text{mm} \times ۳۰\text{m}$ و ضخامت $۰/۲۵\mu\text{m}$ انجام شد. دمای ستون برای ۳ دقیقه در ۶۰°C نگهداری و تا ۲۲۰°C با سرعت ۵°C در دقیقه افزایش یافت و برای ۵ دقیقه در ۲۲۰°C نگهداری شد. سرعت جریان گاز هلیم به عنوان گاز حامل با سرعت (یک میلی‌لیتر در دقیقه) در ۷۰ الکترون ولت مورد استفاده قرار گرفت.

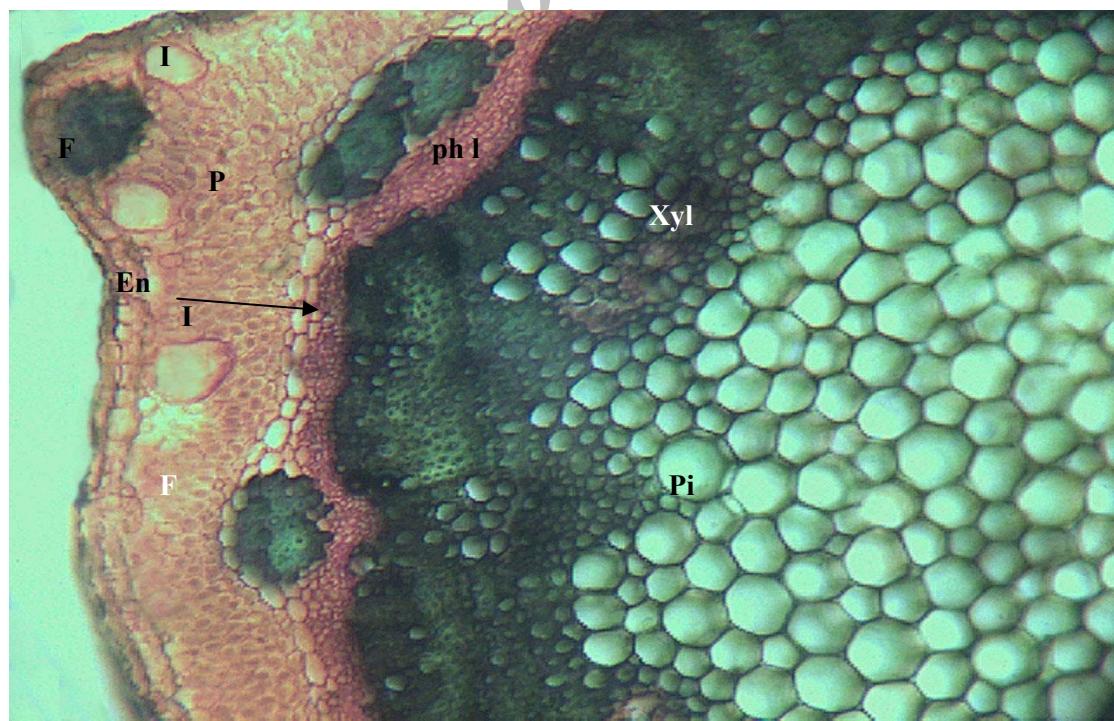
جدول ۱ - مواد تشکیل‌دهنده روغن اسانسی گیاه *Scrophularia striata*

ردیف	نام ترکیب	RI	درصد
۱	benzyl aldehyde	۹۰۹	۰/۷
۲	1-octen-3-one	۹۶۳	۰/۴
۳	1-octen-3-ol	۹۷۷	۱/۹
۴	octanal	۱۰۰۴	۰/۷
۵	linalool	۱۰۹۸	۱۸/۳
۶	N-nonalal	۱۱۰۲	۳/۱
۷	trans-verbenol	۱۱۴۰	۰/۵
۸	α -terpineol	۱۱۸۷	۴/۹
۹	decanal	۱۲۰۳	۱/۳
۱۰	nerol	۱۲۵۵	۰/۹
۱۱	geraniol	۱۲۵۸	۳/۲
۱۲	2-decanal	۱۲۶۰	۱/۲
۱۳	2-methoxy-4-venyl phenol	۱۳۱۳	۱/۱
۱۴	2,4-decadienal	۱۳۱۵	۰/۴
۱۵	undecanol	۱۳۷۰	۱/۲
۱۶	α -copaene	۱۳۷۸	۰/۶
۱۷	β -damascone	۱۳۸۳	۰/۹
۱۸	β -caryophyllene	۱۴۱۹	۳/۷
۱۹	geranyl acetone	۱۴۵۲	۱/۱
۲۰	germacrene D	۱۴۸۰	۴/۷
۲۱	trans- β -inone	۱۴۸۵	۰/۹
۲۲	bicyclogermacrene	۱۴۹۵	۱/۱
۲۳	δ -cadinene	۱۵۲۶	۰/۷
۲۴	nerolidol	۱۵۶۴	۳/۱
۲۵	dodecanoic acid	۱۵۷۴	۳/۳
۲۶	caryophyllene oxide	۱۵۸۱	۱/۱
۲۷	farnesol	۱۷۲۲	۰/۴
۲۸	benzyl benzoat	۱۷۶۲	۱/۶
۲۹	6-10-14-trimethyl pentadecan-2-one	۱۸۴۵	۸/۴
۳۰	1,2-benzenedicarboxylic acid	۱۸۷۲	۳/۹
۳۱	farnesyl acetone	۱۹۱۴	۱/۲
۳۲	dibutyl phthalate	۲۰۸۵	۷/۹
۳۳	phytol	۲۱۱۴	۱/۵
۳۴	nonacosane	۲۹۰۰	۰/۴



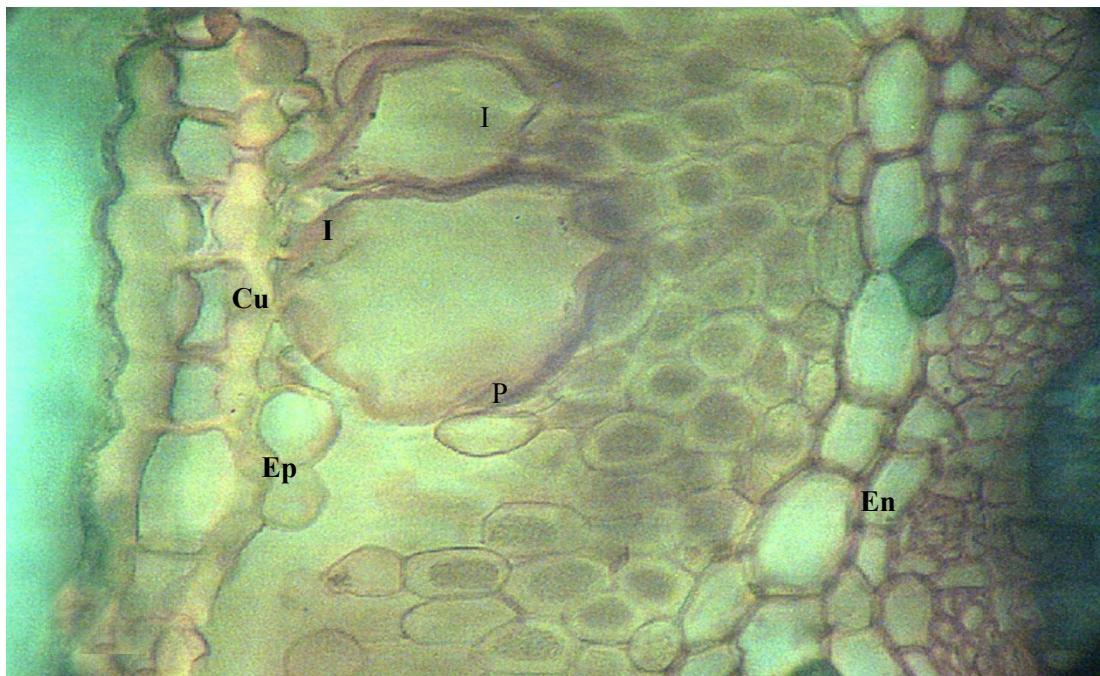
شکل ۱- برش عرضی ساقه (*Scrophularia striata* (x10)

Xyl: بافت چوب، Phl: بافت آبکش، F: سلول‌های فیبر، I: ایدیوبلاست، Cu: پارانشیم پوست، Ep: کوتیکول، En: اپیدرم، M: آندودرم



شکل ۲- مشاهده سلول‌های فیبر و ایدیوبلاست‌های ترشحی در ساقه (*Scrophularia striata* (x40)

Xyl: بافت چوب، Phl: بافت آبکش، F: سلول‌های فیبر، I: ایدیوبلاست، Cu: پارانشیم پوست، En: آندودرم



شکل ۳- مشاهده ایدیوبلاست‌ها در ساقه *Scrophularia striata* (x100)

F: سلول‌های فیبر، I: ایدیوبلاست، P: پارانشیم پوست، Cu: کوتیکول، Ep: اپیدرم، En: آندودرم

S. ningpoensis شناسایی ترکیب‌های اسانس گونه زمینه است که منجر به معرفی پالمتیک اسید (۴/۲۵٪)، لینولئیک اسید (۱۰٪)، آلفا-لینولئیک اسید (۶٪) و گاما-لینولئیک اسید (۸٪) به عنوان ترکیب‌های اصلی اسانس ریشه این گیاه شده است (Miyazawa & Okuno, 2003).

به طور کلی ایدیوبلاست‌ها ساختارهای ترشحی با دیواره اولیه نازک بوده که در حالت بلوغ به صورت حفره‌های توخالی مشاهده می‌شوند و دارای مواد مختلفی مثل رزین، تانن، ترکیب‌های روغنی، صمغ، بلور و مواد متنوع دیگر می‌باشند (Platt & Thomson, 1992). بررسی‌های آناتومیکی انجام شده روی *Scrophularia deserti* نشان داده است که در برگ این گیاه ایدیوبلاست‌های تانن‌دار دیده می‌شود که به صورت سلول‌های بزرگ بیضی شکل که متصل به سلول‌های اپیدرمی بوده و تا قسمت‌های میانی برگ یعنی

بررسی‌های تشریحی نشان داد که ساقه *S. striata* فاقد کرک می‌باشد. در برش‌های عرضی تهیه شده از ساقه اپیدرم به عنوان بیرونی ترین لایه مشاهده می‌شود که در قسمت‌های گوشه‌ای در زیر اپیدرم و قسمت‌های بیرونی بافت آبکش دستجات فیبر مشاهده می‌شوند. همچنین ایدیوبلاست‌های (Idioblasts) کروی تا بیضوی ترشح‌کننده اسانس و ترکیب‌های ترپنوتیکی نیز در بخش‌های مختلف در زیر اپیدرم و در بین سلول‌های ناحیه پوست دیده می‌شوند (شکل ۳). سلول‌های پوست حالت کشیده داشته و شبیه به پارانشیم نردبانی هستند و لایه‌های بعدی به ترتیب شامل آندودرم، فیبر، دستجات آوندی و مغز می‌باشند (شکل‌های ۱ و ۲).

بحث

تنها گزارش موجود در خصوص آنالیز اسانس گونه‌های جنس *Scrophularia* مربوط به مطالعه‌ای در

- آن در شرایط محیطی مختلف. پایاننامه دکتری، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران.
- شرافتی چالشتی، ف.، شرافتی چالشتی، ر. و مونمی، مریم، ۱۳۸۷. اثر ضدمیکروبی عصاره آبی و اتانولی گیاه گل میمونی (Scrophularia striata) بر اثرشیاکلی در شرایط آزمایشگاهی. دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، ۴۰(۴): ۳۷-۳۲.
- عباسی، ن.، عزیزی جلیلیان، ف.، عبدالی، م. و سیفمنش، م. ۱۳۸۵. بررسی اثر ضدمیکروبی عصاره گیاه *Scrophularia striata* Boiss. بر روی استافیکوکوکوس اورئوس و پسودوموناس آئروژینوزا و مقایسه آن با آنتی بیوتیک های مؤثر انتخابی. فصلنامه گیاهان دارویی، ۶(۱): ۱۷-۱۰.
- قهرمان، ا. ۱۳۶۵. فلور رنگی ایران. جلد ۹، انتشارات مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، شماره ۱۰۹۱.
- مظفریان، و.، ۱۳۷۵. فرهنگ نامهای گیاهان ایران. انتشارات فرهنگ معاصر، تهران، ۷۵۳ صفحه.
- Adams, R.P., 2001. Identification of Essential Oil Component by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy. Allure Publishing crop, Illinois, 804p.
 - Kheiri, S., Khayami, M. and Mahmoudzadeh, A., 2009. Micromorphological and anatomical studies of certain species of *Verbascum* (Scrophulariaceae) in west Azarbaijan, Iran. Iranian Journal of Botany, 15(1): 105-113.
 - Lersten, N.R. and Curtis, J.D., 1997. Anatomy and distribution of foliar idioblasts in *Scrophularia* and *Verbascum* (Scrophulariaceae). American Journal of Botany, 84(12): 1638-1645.
 - Lersten, N.R. and Curtis, J.D., 1998. Foliar idioblasts in *Physostegia virginiana* (Lamiaceae). Journal of the Torrey Botanical Society, 125(2): 133-137.
 - Lersten, N.R. and Curtis, J.D., 2001. Idioblasts and other unusual internal foliar secretory structures in Scrophulariaceae. Plant Systematics and Evolution, 227(1-2): 63-73.
 - Miyazawa, M. and Okuno, Y., 2003. Volatile components from the root of *Scrophularia ningpoensis* Hemsl. Flavour and Fragrance journal, 18(5): 398-400.
 - Platt, K.A. and Thomson, W.W., 1992. Idioblast oil cells in Avocado: distribution, isolation, ultrastructure, histochemistry and biochemistry. International Journal of Plant Sciences, 153(3): 301-310.

به انتهای رگبرگها گسترش یافته‌اند. Kheiri و همکاران (۲۰۰۹) در بررسی ساختار تشریحی گونه‌هایی از جنس Scrophulariaceae از تیره *Verbascum* حضور ایدیوبلاست‌های کروی یا بیضوی را در برگ گونه‌های مورد مطالعه گزارش نموده‌اند.

گزارشها نشان می‌دهد که ایدیوبلاست‌های دارای ترکیب‌های روغنی در برگها و اندام‌های دیگر گونه‌های متعددی از دولپه‌ای‌ها دیده می‌شوند. ترکیب‌های موجود در این گونه ایدیوبلاست‌ها عملتاً شامل لیپیدها، ترپن‌ها و فلاونوئید آگلیکون‌ها هستند (Lersten & Curtis, 1998).

(Lersten & Curtis, 2001)

تحقيقات انجام شده توسط Curtis و Lersten (۱۹۹۷) نشان داده است که از ۸۹ گونه *Scrophularia* مورد مطالعه ۶۲ گونه دارای ساختار ترشحی ایدیوبلاست می‌باشند که در سطح رویی و زیرین برگها و ساقه‌ها مشاهده می‌شوند و دارای موادی مثل رزین‌ها و ترکیب‌های فرار مثل اسانس‌ها هستند. همین بررسی نشان داده است که از ۱۵ گونه جنس *Scrophularia* که در آمریکای شمالی یافت می‌شوند ۱۴ گونه دارای ایدیوبلاست می‌باشند. بنابراین بهنظر می‌رسد که وجود ایدیوبلاست‌ها در جنس *Scrophularia* و *Verbascum* پدیده‌ای رایج باشد.

بررسی‌های ما نشان داد که هیچ گونه مطالعه آناتومیکی اعم از بررسی ساختارهای ترشحی یا غیرترشحی در مورد گیاه *Scrophularia striata* وجود ندارد و تحقیق حاضر می‌تواند به عنوان اولین گزارش در این زمینه محسوب شود.

منابع مورد استفاده

- امیری، ح.، ۱۳۸۳. جداسازی و بررسی کمی و کیفی مواد متشکله موجود در اسانس بعضی از گیاهان بومی ایران و مطالعه تعییرات

Essential oil composition and anatomical study of *Scrophularia striata* Boiss.

H. Amiri^{1*}, H. Lari Yazdi², A. Esmaeili³, F. Samsamnia², D. Eghbali², Gh. Viskarami⁴,
B. Dosti⁵ and E. Noormohamadi⁶

1*- Corresponding author, Department of Biology, Lorestan University, Khoram-Abad, Iran
E-mail: Amiri_h_lu@yahoo.com

2- Department of Biology, Islamic Azad University, Branch of Broujerd. Broujerd, Iran

3- Department of Chemistry, Islamic Azad University, North Tehran Branch, Tehran, Iran

4- Organization of Khoram-Abad Education, Khoramabad, Iran

5- Department of Biology, Islamic Azad University, Branch of Khoramabad, Khoramabad, Iran

6- Department of Forestry, Guilan University, Rasht, Iran

Received: March 2009

Revised: October 2010

Accepted: October 2010

Abstract

Scrophularia striata Boiss belongs to *Scrophulariaceae* family which contains 5 species in the flora of Iran. Its local name in Lorestan province is Teshne Daro. *S. striata* was collected from northwest mountains of Kuh-dasht in Lorestan province, Iran. The collected plant materials were dried in shade and subjected to hydro distillation using a Clevenger apparatus. The oil was analyzed by capillary GC and GC/MS. The anatomical studies were carried out using distaining method with brown Bismarck and methyl green. GC and GC/MS analysis of the essential oil resulted in the identification of 34 compounds, representing 90.3% of the oil. Major constituents isolated from the essential oil of *Scrophularia striata* were linalool (18.3%), 6-, 10-, 14-trimethylpentadecane-2-one (8.4%), dibutyl phthalate (6.9%) and β -damascone (5.9%). The anatomical studies showed that, oil-secreting idioblasts and terpenoides were observed in cortex region.

Key words: *Scrophularia striata* Boiss., essential oil, secretory structure, idioblast.