

شناسایی و مقایسه ترکیبهای موجود در اسانس برگ و میوه گیاه دارویی

پنج انگشت *Vitex Pseudo - negundo*

لطیفه احمدی^(۱)

خلاصه:

گیاه پنج انگشت *Vitex Pseudo - negundo* یکی از انواع گیاهان دارویی است که در بستر رودخانه‌های مناطق جنوبی ایران همراه با درختچه‌های گز و خرزهره به صورت اجتماع گیاهی دیده می‌شود. رایحه ادویه‌ای و خوشایندی از این گیاه به خصوص در مرحله گلدهی به مشام می‌رسد. خواص دارویی متفاوت این گیاه نظیر فعالیت ضد باکتری برخی ترکیبهای موجود در اسانس، اثرات ضد هورمون آندروژن ترکیبهایی مانند aucubin و Casticin، بهبود دسته‌ای از ناراحتیهای گوارشی و همچنین فعالیت شبه هورمونی ترکیبهای iridoids و ecdysteroids سبب توجه بیشتر محققان به این گیاه شده است.

رویش فراوان و خودروی گیاه پنج انگشت در ایران لزوم بررسی و تحقیق بر روی این گیاه را ایجاب می‌کند. بدین جهت گیاه پنج انگشت در طی فصل بهار از استان فارس جمع‌آوری و از برگ و میوه آن به صورت مجزا، به روش تقطیر با آب و بخار آب اسانس‌گیری شد. ترکیبهای موجود در اسانس با دستگاه گازکروماتوگراف متصل به طیف سنج جرمی مورد شناسایی قرار گرفته است. از میان ترکیبهای شناسایی شده آلفا ترپنیل استات (۰/۲۳/۶)، آلفا - پینن (۰/۱۸/۲) و بتا-کاریوفیلن (۰/۱۷) بیشترین مقدار را در میوه و ترکیبهای بتا-کاریوفیلن (۰/۲۹/۷)، آلفا-پینن (۰/۱۵/۲) و لیمونن + سینئول (۰/۸/۴) بخش عمده اسانس را در برگ تشکیل می‌دهند.

مقدمه:

جنس *Vitex* از خانواده ورناسه (Verbenaceae) ۲۵۰ گونه گیاهی را شامل می شود، این جنس سه گونه درختچه ای را در بر می گیرد که بیشتر در بستر رودخانه های مناطق جنوبی ایران رویش دارند. این سه گونه عبارتند از:

Vitex negundo L. -

Vitex pseudo-negundo -

Vitex trifolia L.-

بسیاری از گونه های جنس مورد نظر مصارف دارویی فراوان دارند. به عنوان مثال برخی گونه ها حاوی ترکیبهایی هستند که فعالیتی مشابه هورمونها از خود نشان می دهند: مانند ترکیبهای phytoecdysones, ecdysteroids و iridoids. گونه *Vitex Pseudo - negundo* (پیوست شماره ۴) درختچه ای به ارتفاع ۱-۳ متر و بومی نواحی مرکزی آسیا است که امروزه انتشار وسیعی در سایر نقاط دنیا پیدا نموده است. از مشخصات این درختچه آن است که با درختان گز و خر زهره به صورت اجتماع گیاهی در حاشیه رودخانه ها دیده می شود (۱۳).

از دیگر مشخصات آن برگهای زودافت، پنجه ای و منقسم به ۷-۵ برگچه نوک تیز و پوشیده از کرکهای پنبه ای در سطح تحتانی پهنک دار، به طوری که رنگ سبز تیره سطح فوقانی پهنک برگ و رنگ تقریباً سفید سطح تحتانی آن ظاهر مشخص به گیاه می دهد. گلهای آن زیبا، به رنگ آبی مایل به بنفش و مجتمع به صورت سنبله دراز با ظاهر مطبق، بر روی یک پایه مشترک است. میوه آن شفت و دارای برون بر سخت و مقاوم می باشد. از کلیه قسمتهای آن به خصوص برگ و میوه بویی شبیه فلفل استنشام می شود که باعث نامگذاری گیاه به نام فلفل شده است. این درختچه چوب سخت و محکم به رنگ قهوه ای روشن با ظاهر نسبتاً مشخص دارد. رایحه ادویه ای و خوشایندی در طی مرحله گلدهی از این گیاه به مشام می رسد (۱).

به عصاره حاصل از آن خواص دارویی مختلفی نسبت داده شده است از جمله: عصاره میوه شامل ترکیبهای نظیر aucubin و casticin است که سبب تحریک و ترشح غده هیپوفیز می شود. عصاره مذکور حاوی ترکیبات فلاونوئیدی به میزان ۱٪ نیز می باشد که فعالیت ضد هورمونهای آندروژنی از خود نشان می دهند (۱۵، ۱۳).

عصاره متانولی برگ گیاه ترکیبهای iridoid glycosides aucubin, agnuside و aucubin (P-coumaroyl) را شامل می شود (۶).

حضور ۵ فلاونوئید casticin, isovitexin, orientin, isoorientin, isovitexin و xyloside در برگ میوه این گونه گزارش شده است (۵).

سایر مصارف دارویی گیاه در از دیاد شیر، بهبود عوارض پس از عمل هیستریکتومی و دوران یائسگی و بهبود برخی ناراحتیهای گوارشی ذکر شده است (۸).

مصرف مقدار زیاد گیاه پنج انگشت سبب ایجاد احساس مور مور شدن روی پوست می شود (۱۱).

اسانس گیاه در مقابل باکتریهای اشرشیاکلی، پزودوموناس آئروگینوزا، باسیلوس سوبتیلیس و استافیلوکوکوس اورئوس از خود فعالیت ضد باکتریایی نشان داده است. ترکیبهای موجود در اسانس بسیاری از گونه های جنس Vitex توسط محققان شناسایی و گزارش شده است. ترکیبهای آلفا و بتاپینن، لیمونن، ساینن، سینئول و ترپینئول به عنوان ترکیبهای اصلی در اسانس حاصل از برگ گیاه گزارش شده است (۱۳).

در سالهای اخیر Kustral و همکارانش اسانس موجود در برگ، گل و میوه را با روشهای گاز کروماتوگرافی و گاز کروماتوگرافی متصل به طیف سنج جرمی مورد بررسی قرار دادند. و ترکیبهای مشابه ولی با کمیت متفاوت شناسایی نمودند. به عنوان مثال میزان سینئول و لیمونن را بین ۳۰ - ۲۰٪ در برگ و میوه گزارش نمودند در حالی که مقدار این دو ترکیب را در گل کمتر از ۱۸٪ بدست آوردند و آلفا - پینن ترکیب اصلی در گل بوده است (۷ و ۸).

مواد و روشها:

الف - جمع آوری و آماده سازی نمونه گیاهی:

میوه و برگ گیاه مورد آزمایش به طور همزمان از استان فارس - مسیر شیراز به فیروزآباد - ارتفاع ۱۸۰۰ متر و در فصل بهار جمع آوری و توسط همکاران در بخش گیاهشناسی مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع شناسایی شد. برگهای جمع آوری شده در دمای آزمایشگاه و دور از نور خشک و درصد رطوبت آن محاسبه شد. همچنین میوه گیاه به علت داشتن پوست سخت توسط آسیا به حالت بلغور در آورده شد.

ب - اسانس گیری و تعیین بازده اسانس:

اسانس برگ گیاه پنج انگشت به روش تقطیر با بخار آب به مدت ۴۵ دقیقه و به روش فارماکوپه (کلونجر) به مدت ۳ ساعت استخراج گردید. پس از گذشت زمانهای مذکور افزایشی در میزان اسانس حاصل مشاهده نشد. بنابر این اسانس گیری متوقف گردید. اسانس بدست آمده بوی ملایم و رنگ زرد روشن داشت. میزان بازده اسانس بر اساس وزن خشک ۰/۱ و ۰/۲۵ به ترتیب برای برگ و میوه بدست آمد که تا زمان تجزیه و تحلیل در شیشه‌های غیر قابل نفوذ به رنگ تیره در یخچال نگهداری شدند.

ج - دستگاه مورد استفاده:

دستگاه گاز کروماتوگراف واریان ۳۴۰۰، متصل به دستگاه طیف سنج جرمی واریان (Saturn II)، ستون DB-1 (Dimethyl polysiloxane) به طول ۶۰ متر، قطر ۲۵۰ میکرومتر، ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر، فشار گاز سر ستون ۳۵ psi، انرژی یونیزاسیون معادل ۷۰ الکترون ولت.

برنامه ریزی حرارتی GC: درجه حرارت ۲۵۰-۴۰ درجه سانتیگراد با سرعت افزایش ۴ درجه سانتیگراد در دقیقه، درجه حرارت محفظه تزریق ۲۶۰ درجه سانتیگراد و دمای ترانسفر لاین ۲۷۰ درجه سانتیگراد.

شناسایی ترکیبها بر اساس اندیسهای بازداري کواتس، زمان بازداري ترکیبها، مطالعه

طیف‌های جرمی و مقایسه با طیف جرمی برخی ترکیبهای استاندارد، استفاده از اطلاعات موجود در کتابخانه TRP کامپیوتر و همچنین تزریق برخی ترکیبهای استاندارد موجود و مقایسه ترکیبهای مجهول با آنها انجام شد. محاسبه اندیس کواتس با استفاده از برنامه‌ریزی کامپیوتری (Statgraph) و ضرایب معادله درجه سوم بر اساس زمان بازداری هیدروکربنها C_{21} - C_6 بدست آمد. محاسبه کمی ترکیبها به روش نرمال کردن سطح و نادیده گرفتن ضرایب پاسخ انجام شده است.

حاصل تجزیه و تحلیل اسانس گیاه *Vitex Pseudo - negundo* شناسایی ۲۹ ترکیب مختلف توسط GC/MS بوده است. ترکیبهای شناسایی شده در میوه ۸۲/۴٪ و در برگ ۸۶/۳٪ کل ترکیبها را به خود اختصاص می‌دهند. سایر ترکیبها با روشهای موجود و به تنهایی قابل شناسایی نیستند. از میان ترکیبهای مونوترپنی آلفا-پینن بیشترین مقدار را در هر دو اندام مورد آزمایش نشان داد. ترکیب بتا-کاریوفیلن نیز در میان هیدروکربنهای سزکویی ترپنی بیشتر است. آلفا-ترپینیل استات از دسته ترکیبهای استری است که میزان آن در میوه بسیار زیاد (۲۳/۶٪) و در برگ نیز در میان ترکیبهای استری بیشترین مقدار را به خود اختصاص داده است (۷).

جدول شماره ۱ مجموعه ترکیبهای شناسایی شده را همراه شاخص کواتس و درصد نسبی هر ترکیب که بر اساس سطح زیر منحنی بدست آمده است در میوه و برگ گونه *Vitex Pseudo - negundo* نشان می‌دهد همچنین طیف کروماتوگرام دو اسانس حاصل از میوه و برگ گونه مورد بررسی در شکل‌های ۱ و ۲ آمده است.

همانطور که از جدول شماره ۱ نیز استنباط می‌شود بیشترین ترکیبهای موجود در اسانس استخراج شده از میوه را: ترکیبهای ۲۳/۶٪ Alpha-Terpinenyl acetate، ۱۸/۲٪ Alpha-Pinene، ۱۷٪ Beta-Caryophyllene تشکیل می‌دهند که طیف جرمی ترپنیل استات در شکل ۳ دیده می‌شود. ترکیب ۲ و ۳ به عنوان ترکیبهای اصلی اسانس میوه با مطالعات حاصل از تحقیق Mishurova و همکاران، Brophy و

Suksamrarn و همکاران تطبیق می‌کند (۱۴، ۱۰ و ۴). حضور ترکیب استری در حد ۲۳/۶٪ با نتایج کار سایر محققان تفاوت دارد. از دلایل احتمالی این اختلاف می‌توان به زمان برداشت گیاه اشاره نمود که می‌تواند باعث تغییر و تحولاتی در ترکیبهای گیاه به کمک شرایط محیطی شود، چنانچه بازده متفاوت اسانس با آنچه در منابع آمده، مؤید این نکته است (۱۳، ۱۰).

بیشترین ترکیبهای موجود در اسانس برگ را ترکیبهای: α -Pinene ۱۵/۲٪، Beta-Caryophyllen ۲۹/۷٪، Limonene ۸/۴٪ + 1,8-Cineole شامل می‌شود. ترکیب بتا-کاریوفیلین به عنوان بیشترین درصد با کار محققانی نظیر Suksamrarn و همکاران در سال ۱۹۹۱ و Mallavarapu و همکاران در سال ۱۹۹۴ همخوانی دارد (۱۴ و ۹). به طوری کلی می‌توان گفت که نوع و تعداد ترکیبهای برگ و میوه موجود در اسانس با هم اختلاف دارند، به طور مثال ترکیب عمده در برگ بتا-کاریوفیلین است، در حالی که در میوه ترکیب ترپنیل-استات می‌باشد و یا ترکیبهایی نظیر اوسیمن، ترپینولن، لینالول، پولگون و تیمول و (جدول شماره ۱) در اسانس میوه حضور ندارند و تنها در برگ مشاهده می‌گردد. وجود این تفاوتها سبب می‌گردد که این دو اندام از لحاظ تاثیر و کاربرد نیز با هم اختلاف داشته باشند.

بنابر این گونه *Vitex pseudo-negundo* رشد یافته در ایران از نظر ترکیبهای شیمیایی موجود در اسانس تا حدی متفاوت از همین گونه در سایر نقاط دنیا است که می‌تواند ناشی از تفاوت شرایط اکولوژیک و به طور طبیعی اختلافات ناشی از این تاثیر باشد.

جدول شماره ۱: ترکیبهای موجود در اسانس برگ و میوه گیاه دارویی *Vitex agnus-castus*

ردیف	ترکیب	اندیس کواتس	میوه (%)	برگ (%)
۱	آلفا-پی-نن	۹۴۱	۱۸/۲	۱۵/۲
۲	سایبنن	۹۷۲	۲/۳	۱/۸
۳	بتا-پینن	۹۷۹	۰/۳۲	۰/۴
۴	میرسن	۹۸۹	۰/۹	۱/۴
۵	آلفا-فلاندرن	۱۰۰۴	-	۰/۵۷
۶	پارا-سیمن	۱۰۱۹	۰/۴	۰/۵
۷	لیمونن + سینتول	۱۰۳۰	۵/۹	۸/۴
۸	ترانس-اوسیمن	۱۰۴۵	-	۰/۳
۹	ترپینولن	۱۰۸۸	-	۰/۳
۱۰	لینالول	۱۰۹۲	-	۰/۳
۱۱	پولگون	۱۲۲۴	-	۱/۰
۱۲	تیمول	۱۲۷۵	-	۰/۶
۱۳	برنیل استات	۱۲۷۹	۰/۳	۰/۳
۱۴	ایزوپولیگل استات	۱۳۱۰	-	۰/۸
۱۵	آلفا-ترینیل استات	۱۳۴۹	۲۳/۶	۷/۰
۱۶	آلفا-سیس-برگاموتن	۱۳۹۷	-	۰/۴
۱۷	بتا-کاریوفیلن	۱۴۳۳	۱۷	۲۹/۷
۱۸	آلفا-ترانس-برگاموتن	۱۴۴۴	۱/۵	۱/۳
۱۹	بتا-سدرن	۱۴۴۷	۴	۵/۶
۲۰	بتا-ترانس-فارنزن	۱۴۵۹	۰/۷	۰/۴
۲۱	آلفا-هومولن	۱۴۶۴	۰/۸	۱/۶
۲۲	بتا-بیزابولن	۱۵۱۷	۰/۶	جزئی
۲۳	سزکویی فلاندرن	۱۵۲۹	۰/۵۶	۱/۴
۲۴	گلوبولول	۱۵۴۵	-	۰/۹۳
۲۵	آلفا-کادینول	۱۵۸۱	-	۰/۷۶
۲۶	اسپاچولول	۱۵۸۶	-	۰/۶
۲۷	اکسید کاریوفیلن	۱۵۹۰	۳/۵۳	۲/۵
۲۸	کادینول (تاو)	۱۶۵۳	۰/۸۹	-
۲۹	آلفا-ای-بیزابولول	۱۶۹۴	۱/۳	۲

منابع مورد استفاده:

- ۱- زرگری، علی. ۱۳۶۸. گیاهان دارویی. انتشارات دانشگاه تهران، جلد ۳ صفحه ۷۱۸-۷۱۶.
- ۲- مظفریان، ولی اله. ۱۳۷۵. فرهنگ نامهای گیاهان ایران. انتشارات فرهنگ معاصر، ص ۵۸۶.

3. Bremness L., 1994, Herbs. Dorling Kindersley limited, London, p.90.
4. Brophy J.J. and Lassak E.L., 1987, Flavour and Fragrance journal., 2, 5.
Gomma cs, Ei-Moghazy Ma, Halim Fa. and Ei-Sayyad Ae., 1978.
Flavonoids and iridoids from vitex agnus castas. Planta medica. No. 33:3.
6. Garler K, Oehlke D. and Soicke H., 1985. Investigation of the iridods of vitex agnus castus. Planta-medica. No.6.
7. Kustrak D., kuftinec J. and Blazevic N., 1994. The composition of the essential oil of vitex agnus castus. Planta-medica. No. 58: 7, A681.
8. Kustrak D, Kuftinec J. and Blazevic N., 1994. The composition of the essential oil of vitex agnus castus. J. of essential oil research. No 6:4.
9. Malla varpu G.L. Ramesh S, Kaul P.N. and Rao B.R.R. 1994. Planta-medica. 60.
10. Mishurova Ss, Malinovskaya Ta, Akhmedov Ib. and Mamedov Dg. 1986. The essential oil of vitex agnus castus L., Its fractional composition and antimicrobial activity. Rastitel, nye-Resursy. No.22:4.
11. Mnimh P.D, 1993. Complete medicinal herbal. Dorling Kindersley limited, London, Pp166-9.

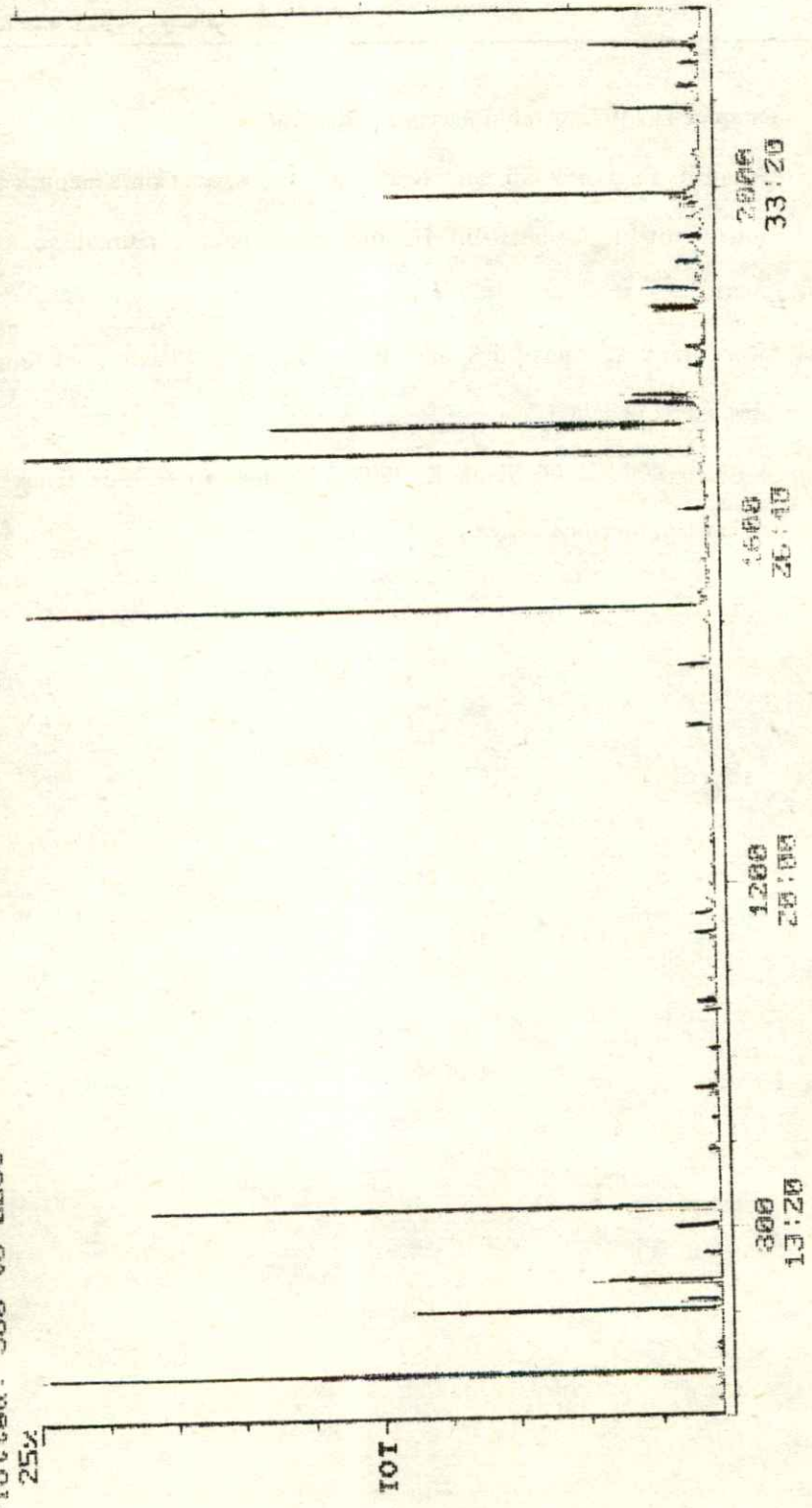
12. Rimpler H., 1972. Arch. Pharm., Pp 305, 746.
13. Senatore F., Porta Gd. and Reverchon E., 1996. Constituents of vitex agnus castus. L. essential oil. Flavour and Fragrance journal. vol. 11, Pp 179-182.
14. Suksamrarn A., Aphaijitt S. and Brophy J.J. 1990. Flavour and Fragrance Journal., 5, 53.
15. Wollenweber E. and Mann K. 1993. Flavonols from vitex agnus castus fruits. Planta-medica. No. 48: 2. Pp 126-7.

Date: 26 Aug 1997 13:19:53

File: E:\VITEX

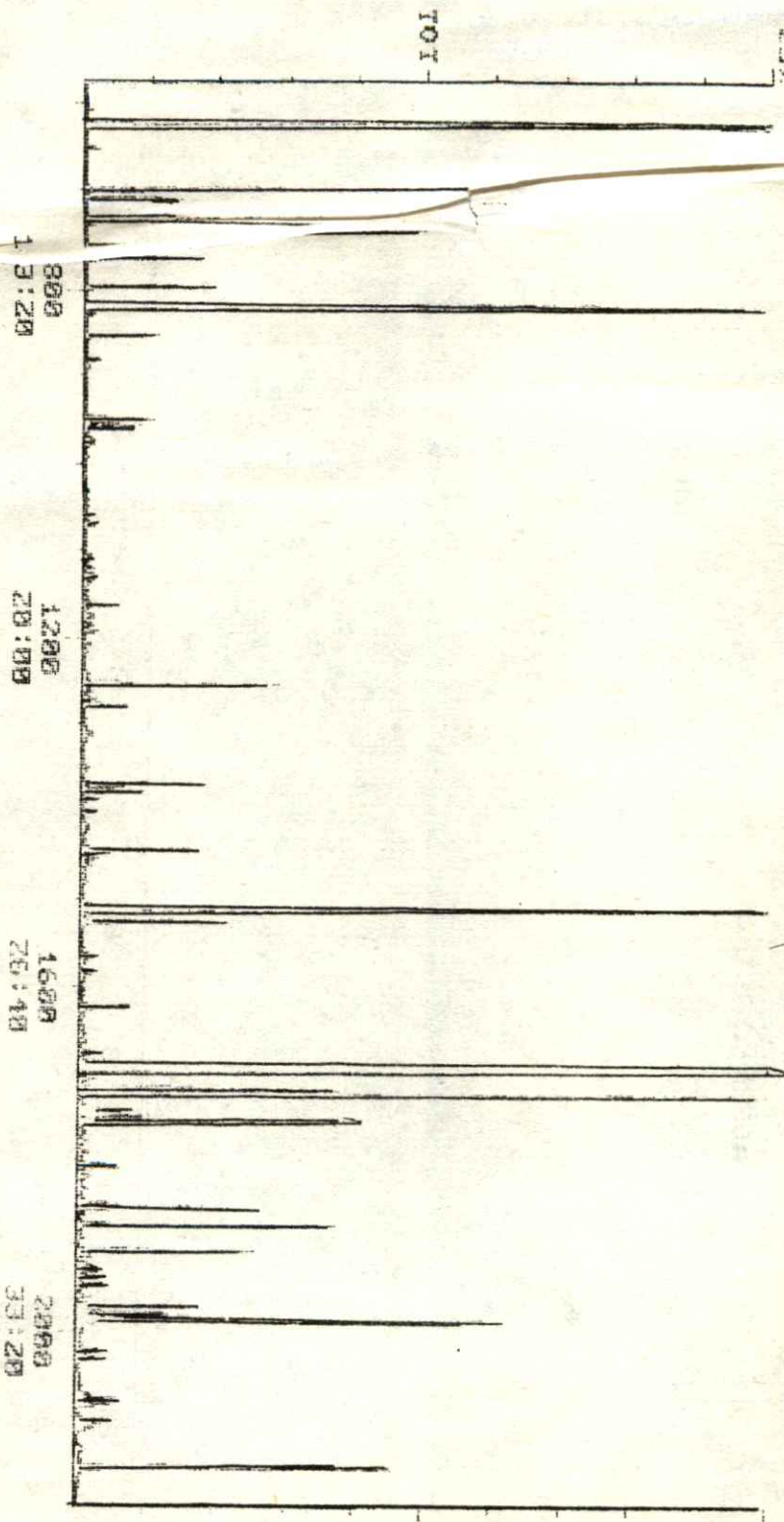
Chromatogram Plot
Comment: VITEX (INST.SPES.DR.MIRZA)
Scan No: 500 Retention Time: 9:40
Plotted: 580 to 2200
25x

Mass Range: 40 - 202
Range: 1 to 2999
RIC: 8898
100% = 2950996

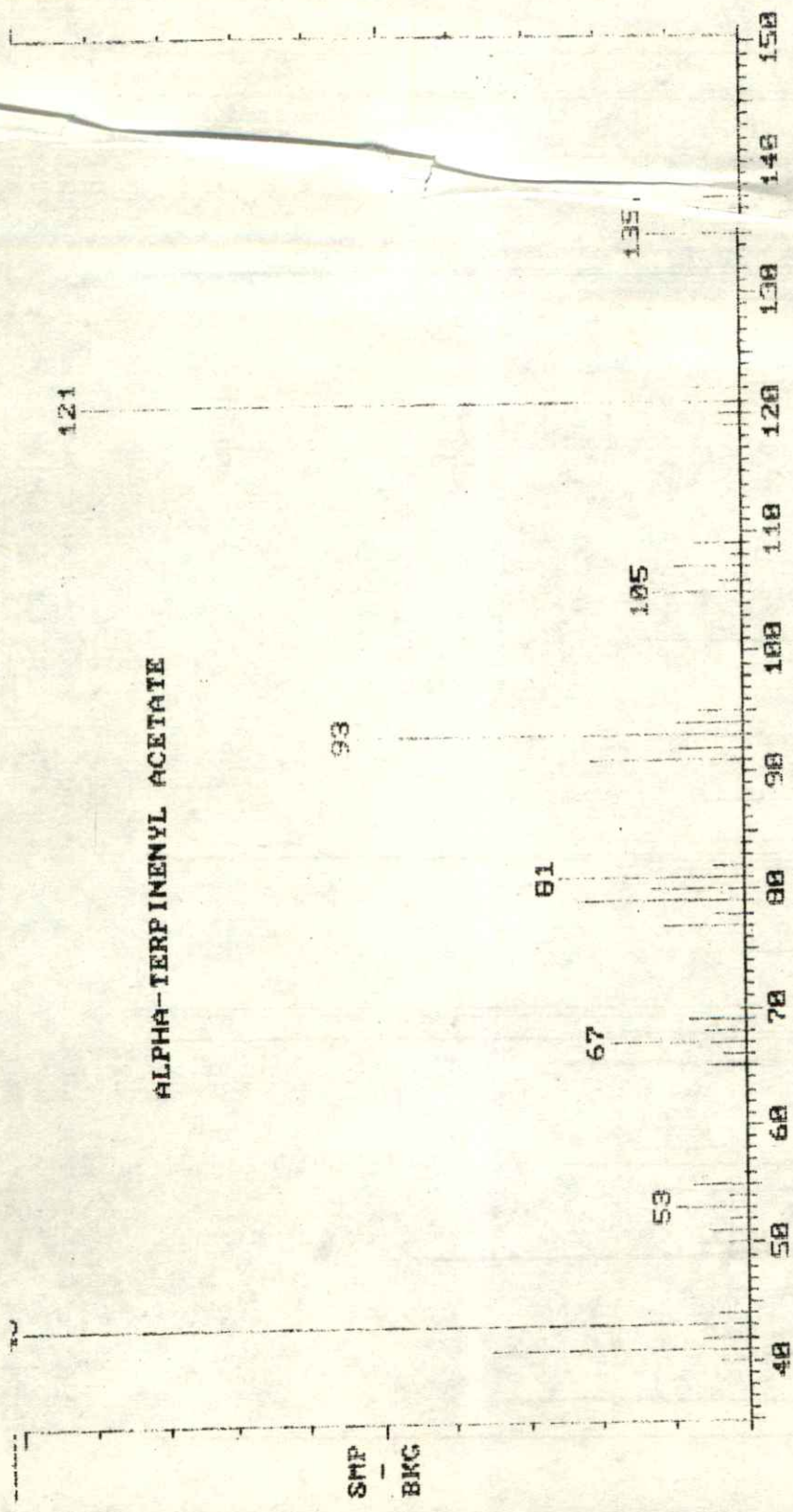


شکل شماره ۱ - کروماتوگرام اسانس میوه - Vitex agnus

Chromatogram Plot LEAUS (INST. SPECS. DR. MIRZA) Date: 09 Sep 1997 09:51:18
 Comment: VITEX Retention time: 36:40 RICI: 20157 Mass Range: 40 - 253
 Scan No: 2200 Range: 1 to 3000 100% = 15887360
 Plotted: 580 to 2200
 25%



شکل شماره ۲- کروماتوگرام اسانس برگ Vitex agnus - Castus



شکل شماره ۳ - طیف جرمی α - Terpinenyl acetate

**Comparative study of volatile components from leaves and
fruits of *Vitex Pseudo - negundo***

Latifeh Ahmadi

Faculty member of Research Institute of Forests and Rangelands

Vitex Pseudo - negundo is one of the medicinal plants, characteristic, together with oleander and tamarisk, of the brushwood of some river in southern Iran. The plant has an agreeable and spicy fragrance particularly during flowering stage.

Some therapeutics effects like: antibacterial activity of some components of essential oil, anti-androgenic action of aucubin and casticin and hormone-like activity of iridoids and ecdysteroids is reported for this plant.

As part of continuing studies of essential oil from medicinal plants, we report in this paper the chemical composition of essential oil which is obtained by hydrodistillation and steam-distillation from leaves and fruits of vitex sp. and identified by GC/MS.