Eco-phytochemical
Journal of Medicinal Plants
Print ISSN: 2322-3235
Online ISSN: 2783-4697
Islamic Azad University
Gorgan Branch
Iranian Society
of Medical Plants

Evaluation of the phenolic compounds in the aerial part and roots of chicory (*Cichorium intybus* L.) from different localities of the Iran using high performance liquid chromatography (HPLC)

Mahshid Rahimifard*, Fatemeh Sefidkon, Somayeh Fekri Qomi, Maryam Makkizadeh Tafti

Research Department of Medicinal Plants and By-Products, Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, Iran, Email: m_rahimifard@yahoo.com; rahimifard@rifr-ac.ir

Article type:
Research article

Article history
Received: 03-03-2024
Revised: 05-06-2024
Accepted: 12-06-2024

Keywords
chicoric acid
chicory
chlorogenic acid
extract
ultrasonic

Abstract

Chicory is one of the most useful plants in traditional medicine and has various therapeutic properties and chemical compounds. Due to the variety of climatic conditions of Iran, the chemical composition and biological stress of chicory grown in different regions of Iran may be different from chicory grown in other countries. Therefore, this research was conducted to investigate phytochemistry including the identification and measurement of some phenolic compounds in the hydroalcoholic extracts of the *Cichorium intybus* L. (collected from 6 localities) in order to compare with chicory grown in other parts of the world. Based on the studied articles and existing standards, 9 compounds including chicoric acid, chlorogenic acid, rosmarinic acid, caffeic acid, salicylic acid, gallic acid, catechin, quercetin, and rutin were selected and examined in the extract of the aerial part and roots of the plant by HPLC. Among the studied compounds, chicoric acid (0.55 to 6.04 mg per gram of dry plant), chlorogenic acid (0.50 to 5.37 mg per gram of dry plant), and rutin (0.56 to 2.25 mg per gram of dry plant) were found in the extracts of aerial parts and chicoric acid (0.03% to 0.29 mg per gram of dry plant) and chlorogenic acid (0.84% to 2.88 mg per gram of dry plant) were found in the extracts of roots of all samples. Among the studied populations, the highest amounts of major compounds (chicoric acid and chlorogenic acid) were observed in the aerial parts of the sample collected from the National Botanical Garden of Iran with 6.04 mg of chicoric acid and 5.37 mg chlorogenic acid. The results show that although the amount of main compounds of the cultivated sample is different from of that of wild samples, but the nature of the main compounds and the pattern of the HPLC spectrum of all the samples are close to each other and similar to the chicory grown outside of Iran.

Cite this article as: Rahimifard, M., Sefidkon, F., Fekri Qomi, S., Makkizadeh Tafti, M. (2024). Evaluation of the phenolic compounds in the aerial part and roots of chicory (*Cichorium intybus* L.) from different localities of the Iran using high performance liquid chromatography (HPLC). *Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants.*, 12(1): 91-102.

©The author(s)
Publisher: Islamic Azad University, Gorgan branch
Doi:
Dor:

اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی
شاپا چاپی: ۲۳۲۲-۳۲۳۵
شاپا الکترونیکی: ۲۷۸۳-۴۶۹۷
دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان
انجمن گیاهان دارویی ایران ثبت ۱۸۹۶۳

ارزیابی ترکیبات فنولی در اندام هوایی و ریشه کاسنی (*Cichorium intybus* L.) مناطق مختلف کشور با استفاده از کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا (HPLC)

مهشید رحیمی‌فرد*[۱]، فاطمه سفیدکن، سمیه فکری قمی، مریم مکی‌زاده تفتی

[۱] بخش تحقیقات گیاهان دارویی و محصولات فرعی، موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، تهران، ایران،

رایانامه: m_rahimifard@yahoo.com, rahimifard@rifr-ac.ir

نوع مقاله:
مقاله پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۲/۱۳
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۰۳/۱۶
تاریخ چاپ :۱۴۰۳/۰۳/۲۳

واژه‌های کلیدی:
اولتراسونیک
شیکوریک اسید
عصاره
کاسنی
کلروژنیک اسید

چکیده

کاسنی یکی از گیاهان پرخاصیت در طب سنتی است که خواص درمانی و ترکیبات شیمیایی متنوعی دارد. با توجه به تنوع شرایط آب و هوایی ایران، ترکیبات شیمیایی و تنش زیستی کاسنی رشد یافته در مناطق مختلف ایران ممکن است با کاسنی رشد یافته در سایر کشورهای جهان متفاوت باشد. لذا تحقیقی به منظور بررسی فیتوشیمیایی شامل شناسایی و اندازه‌گیری برخی ترکیبات فنولی موجود در عصاره‌های هیدروالکلی گیاه کاسنی (برداشت شده از ٦ منطقه کشور) انجام شد تا با کاسنی روئیده شده در سایر نقاط دنیا مقایسه شود. بر اساس مطالعه مقالات و استانداردهای موجود در آزمایشگاه ۹ ترکیب شامل شیکوریک اسید، کلروژنیک اسید، رزمارینیک اسید، کافئیک اسید، سالیسیلیک اسید، گالیک اسید، کاتچین، کوئرستین و روتین انتخاب و در عصاره اندام هوایی و ریشه گیاه به وسیله دستگاه HPLC مورد بررسی قرار گرفتند. از بین ترکیبات مورد مطالعه شیکوریک اسید (با مقادیر ۰/۵۵ تا ٦/۰٤ میلی‌گرم به ازای هر گرم گیاه خشک)، کلروژنیک اسید (با مقادیر ۰/۵۰ تا ۵/۳۷ میلی‌گرم به ازای هر گرم گیاه خشک)، و روتین (با مقادیر ۰/٥٦ تا ۲/۲۵ میلی‌گرم به ازای هر گرم گیاه خشک) در عصاره‌های اندام هوایی و ترکیبات شیکوریک اسید (با مقادیر ۰/۰۳درصد تا ۰/۲۹ میلی‌گرم به ازای هر گرم گیاه خشک) و کلروژنیک اسید (با مقادیر ۰/۸٤درصد تا ۲/۸۸ میلی‌گرم به ازای هر گرم گیاه خشک) در ریشه همه نمونه‌ها یافت شدند. در بین جمعیت‌های مورد مطالعه بیشترین میزان ماده موثره شیکوریک اسید و کلروژنیک اسید در اندام‌های هوایی مربوط به نمونه جمع آوری شده از باغ ملی گیاه شناسی ایران (توده زراعی) با مقادیر ٦/۰٤ میلی‌گرم شیکوریک اسید و ۵/۳۷ میلی‌گرم کلروژنیک اسید به ازای هر گرم گیاه خشک مشاهده شد. نتایج نشان می‌دهد با وجودیکه میزان مواد موثره توده زراعی در مقایسه با نمونه‌های خودرو متفاوت است ولی ماهیت ترکیبات موثره و الگوی طیف HPLC همه نمونه‌ها به هم نزدیک و مشابه با کاسنی روئیده شده در خارج از ایران است.

استناد: رحیمی فرد، مهشید؛ سفیدکن، فاطمه؛ فکری قمی، سمیه؛ مکی‌زاده تفتی، مریم. (۱٤۰۳). ارزیابی ترکیبات فنولی در اندام هوایی و ریشه کاسنی (*Cichorium intybus* L.) مناطق مختلف کشور با استفاده از کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا (HPLC). *فصلنامه اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی*، ۱۲(۱)، ۱۰۲-۹۱.

ناشر: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرگان

© نویسندگان.

Doi:
Dor:

مقدمه

کاسنی یکی از گیاهان پرخاصیت در طب سنتی است که خواص زیادی دارد و استفاده آن به دوران‌های پیش از میلاد مسیح می‌رسد به طوری که اطباء باستان از جمله پلین، جالینوس، دیوسکورید و عده‌ای دیگر از قسمت‌های مختلف این گیاه برای درمان بیماری‌ها استفاده می‌کردند و هنوز هم به دلیل اعتقادی که بیشتر مردم به این گیاه دارند آن را برای مداوای بیماری‌های مختلف استفاده می‌کنند.

جنس کاسنی (*Cichorium*) از خانواده Asteraceae در ایران دو گونه گیاه علفی چندساله و یکساله دارد. گونه یک ساله *Cichorium pumilumn* علاوه بر ایران در مناطق مدیترانه‌ای و آسیای جنوب غربی می‌روید. گونه *Cichorium intybus* L.، که معمولاً به نام کاسنی معمولی شناخته می شود، گیاهی چند ساله، ساقه دار، به ارتفاع ۵ تا ۱۰۰ سانتی‌متر با ریشه دوکی شکل می‌باشد که در اروپا و آسیا می-روید. این گیاه در شمال، شمال غرب، غرب، مرکز، شمال شرق، شرق، جنوب و جنوب شرقی ایران پراکندگی دارد (Safavi et al., 2013).

مقالات تحقیقاتی متعددی در مورد خواص فراوان درمانی *C. intybus* از جمله خاصیت ضد التهابی (Ripoll et al., 2007)، ضد میکروبی (Petrovic et al., 2004)، ضد مالاریا (Bischoff et al., 2004)، ضد حساسیت (Choi et al., 2004)، ضد دیابت (Pushparaj et al., 2007)، ادرار آور (Kaur et al., 2002)، محافظت سیستم عصبی (Marteau et al., 2011) و خواص درمانی در بیماری‌های کبدی (Zafar et al., 1998) و همچنین بررسی ترکیب فیتوشیمیایی (Nandagopal et al., 2007, Shad et al., 2013, Street et al., 2013, Abbas et al., 2015) کاسنی که در کشورهای مختلف اروپا رشد یافته است، منتشر شده است. به عنوان مثال در سال ۲۰۱۳ استخراج اسیدهای فنولیک و فلاونوئیدها از *C. intybus* و سپس بررسی ترکیبات استخراجی با استفاده از کروماتوگرافی مایع/طیف سنجی جرمی (HPLC-PDA-ESI-MS) ثبت شده است. در این مطالعه شصت و چهار ترکیب گزارش شده است که شامل مشتقات هیدروکسی سینامیک اسید شامل هشت مونو و دی‌کافئویل‌کوئینیک اسید، سه مشتق تارتاریک اسید، سی و یک فلاونول، دو فلاون گلیکوزید، ده آنتوسیانین و همچنین چندین ایزومر از مشتقات کافئیک اسید است. در این گزارش شیکوریک اسید (دی‌کافئویل‌تارتاریک اسید) ترکیب اصلی عصاره متانولی این گیاهان را تشکیل داده بود (Carazzone et al., 2013). گزارشات متعددی در خصوص وجود میزان قابل توجهی شیکوریک اسید در عصاره *C. intybus* در منابع وجود دارد. پیش از این نیز شیکوریک اسید به عنوان ترکیب اصلی موجود در عصاره هیدروالکلی *C. intybus* گزارش شده بود که بین ۵۰ تا ۵۸٪ محتوای فنلی کل را تشکیل می‌داد. به دنبال آن کافئویل استرها (۱۲-۱۷٪)، و فلاونوئیدها (٤-۱۲٪)، بیشترین فراوانی را به خود اختصاص داده بودند (Innocenti et al., 2005).

بررسی فیتوشیمیایی قسمت‌های مختلف *Cichorium intybus* در مقاله مروری Al-Snafi (۲۰۱٦) نشان داد که این گیاه حاوی لاکتون‌های سسکوئی ترپن (به ویژه لاکتوسین، لاکتوکوپیکرین، ۸-دزوکسی‌لاکتوسین و گلیکوزیدهای گوایانولید)، مشتقات کافئیک اسید (شیکوریک اسید، کلروژنیک اسید، ایزوکلروژنیک اسید و مشتقات تارتاریک اسید)، اینولین، قندها، پروتئین ها، هیدروکسی کومارین ها، فلاونوئیدها، آلکالوئیدها، استروئیدها، ترپنوئیدها، روغن‌ها، ترکیبات فرار، کومارین‌ها و ویتامین‌ها می‌باشد. در گزارش مروری دیگری جنبه‌های دارویی، گیاه‌شناسی، و فیتوفارماکولوژیکی *Cichorium intybus*

و شناسایی برخی از ترکیبات این گیاه بررسی شده است. در این گزارش ترکیبات شیمیایی برگ و ریشه کاسنی در سه دسته درشت مغذی‌ها، ریز مغذی‌ها (مواد معدنی ضروری) و ترکیبات فنلی دسته‌بندی شده است (Das et al., 2016).

بسیاری از مطالعات نشان داده اند که کاسنی دارای غلظت‌های بالایی ازتانن است که برای سلامتی حیوانات مفید است، با این حال، زمانی که تانن‌ها در غلظت‌های بالایی در جیره غذایی حیوانات وجود داشته باشند، می‌تواند بر تولیدمثل آنها تأثیر منفی بگذارد (Makkar 2003). بسیاری از محققان خاطرنشان کردند که ریشه کاسنی تازه دارای وزن خشک ٦٨ درصد اینولین، ١٤ درصد ساکارز، ٥ درصد سلولز، ٦ درصد پروتئین، ٤ درصد خاکستر و ٣ درصد سایر ترکیبات است (Nadkarni et al., 1976, Kim et al., 1996, Wilson et al., 2004).

تجمع متابولیت های ثانویه در گیاهان از محیط زیست تاثیر می گیرد. تابش اشعه ماوراء بنفش، دامنه دمایی بالا، خشکسالی و برخی عوامل دیگر، منجر به تولید بیش از حد گونه‌های اکسیژن واکنش پذیر در بافت گیاهی می‌گردند. سیستم دفاعی گیاهان که مسئول سم زدایی گونه‌های اکسیژن واکنش پذیر است با تولید آنزیم‌ها، ترکیبات فنولی، فلاونوئیدها و سایر ترکیبات کوچک و سبک در به دام انداختن اکسیژن واکنش پذیر و در نتیجه محافظت از گیاه کمک می‌کنند (Dalar et al., 2014). با توجه به دلایل ذکر شده و همچنین تنوع شرایط آب و هوایی ایران، ترکیبات شیمیایی و تنش زیستی کاسنی رشد یافته در مناطق مختلف ایران ممکن است با *C. intybus* رشد یافته در سایر کشورهای جهان متفاوت باشد. با توجه به استفاده بسیار زیاد کاسنی در طب سنتی ایران، بررسی فیتوشیمیایی و تعیین مواد موثره موجود در *C. intybus* رشد یافته در مناطق مختلف ایران از اهمیت بالایی برخوردار است. متاسفانه با وجود خواص درمانی متعدد گیاه کاسنی و مصرف بالای آن در طب سنتی ایرانی، اطلاعات بسیار محدودی در مورد مواد مؤثر و دارویی کاسنی روییده در ایران وجود دارد که بیشتر به اندازه‌گیری اینولین (Hosseini Nezhad et al., 2012) و یا بررسی وجود تانن، ترپنوئید، لوکوآنتوسیانین، استروئید و فلاونوئید (Mosadegh et al., 2002) در این گونه گیاهی پرداخته‌اند و به همین دلیل نیاز به تحقیقات گسترده‌تر در زمینه جداسازی و شناسایی ترکیبات موجود در اندام‌های مختلف این گیاه، ضروری به نظر می‌رسد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و مشخصات اقلیمی مناطق رویش: به کمک اطلاعات موجود در فلور ایران به شماره ٧٧ (Safavi et al., 2013)، مناطق مختلف رویش گیاه به صورت خودرو مشخص شد و گیاه در زمان گلدهی بهمراه ریشه جمع آوری گردید. تایید نمونه‌های گیاهی از نظر جنس و گونه در هرباریوم موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور صورت گرفت.

عصاره‌گیری: ابتدا اندام هوایی (گیاه در مرحله گلدهی) از ریشه گیاه جدا شد و به منظور حذف خاک، ریشه‌ها با جریان آب شسته شدند. سپس هر دو اندام هوایی و ریشه در سایه خشک شدند و عصاره‌گیری به روش‌های مختلف و حلال‌های متفاوتی به شرح زیر انجام شد.

الف) انتخاب بهترین حلال عصاره‌گیری: بررسی منابع نشان داد که استفاده از حلال‌های اسیدی به استخراج ترکیبات موثره فنولی و فلاونوئیدی از ترکیبات گیاهی کمک می‌کند. لذا در همه حلال‌های مورد مطالعه به میزان ١ درصد استیک اسید اضافه گردید. حلال‌های انتخابی شامل آب، اتانول، متانول، مخلوط آب و اتانول (با نسبت ٥٠:٥٠) و مخلوط آب

و متانول (با نسبت ٥٠:٥٠) بودند. با توجه به کوتاه بودن زمان استخراج به کمک امواج مافوق صوت، به مدت ٣٠ دقیقه از این روش برای این مرحله استفاده شد. نتایج عصاره‌گیری به روش اولتراسونیک برای نمونه استان تهران (نمونه زراعی) نشان داد که استفاده از مخلوط آب و اتانول و مخلوط آب و متانول نتایج مشابهی را بدست می‌دهد (جدول ٢). لذا با توجه به سمیت کمتر حلال اتانول، حلال آب و اتانول با نسبت ٥٠:٥٠ (حاوی ١٪ استیک اسید) به عنوان حلال مناسب‌تر انتخاب شد.

جدول ١: اطلاعات مربوط به محل جمع‌آوری *Cichorium intybus* L.

ردیف	محل جمع آوری	ارتفاع از سطح دریا	تاریخ جمع آوری
١	جاده چالوس، جاده بلده، کیلومتر ١-٢	٢٤٢٦	شهریور ماه ١٤٠٠
٢	البرز، کرج، موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور	١٣٢١	شهریور ماه ١٤٠٠
٣	قزوین، باشکل	١٥٠٠ تا ١٧٠٠	مرداد ماه ١٤٠٠
٤	گیلان، لوشان، جیرنده	٧٠٠ تا ١٧٠٠	مرداد ماه ١٤٠٠
٥	تهران، جاده فیروزکوه، خسروان	٣٥٠	شهریور ماه ١٤٠٠
٦	تهران، پیکان‌شهر، موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، باغ گیاهشناسی ملی ایران (توده زراعی)	١٢٨٦	شهریور ماه ١٤٠١

جدول ٢: نتایج عصاره‌گیری به روش اولتراسونیک با حلال‌های مختلف (حاوی ١٪ استیک اسید) برای نمونه تهران

ردیف	حلال / ترکیب شیمیایی	متانول	اتانول	متانول:آب ٥٠:٥٠	اتانول:آب ٥٠:٥٠	آب
١	شیکوریک اسید (میلی‌گرم در گرم گیاه خشک)	٤/٩٩	٣/٢٩	٥/٦٩	٦/٠٤	٤/٥٨
٢	کلروژنیک اسید (میلی‌گرم در گرم گیاه خشک)	٥/٣٦	١/٧٦	٤/٨٩	٥/٣٧	٤/٢٥
٣	روتین (میلی‌گرم در گرم گیاه خشک)	٢/١٤	٠/٥٧	٢/٢٥	٢/٢٥	٠/٩٩

ب) انتخاب بهترین روش عصاره‌گیری: سه روش عصاره‌گیری ماسراسیون (به مدت ٢٤ ساعت)، صوت دهی (به مدت ٣٠ دقیقه) و سوکلسله (به مدت ٤ ساعت) با حلال آب و اتانول (نسبت ٥٠:٥٠) برای نمونه تهران نشان داد که بیشترین میزان ترکیبات موثره فنولی به روش سوکسله حاصل شده است. ولی با توجه به کوتاه بودن زمان استخراج به کمک امواج مافوق صوت به‌مدت ٣٠ دقیقه، از این روش برای استخراج استفاده شد (جدول ٣).

جدول ٣: نتایج روش‌های مختلف عصاره‌گیری با حلال آب و اتانول (٥٠:٥٠) حاوی ١٪ استیک اسید برای نمونه تهران

ردیف	شرایط عصاره‌گیری / ترکیب شیمیایی	ماسراسیون به مدت ٢٤ ساعت	صوت دهی به مدت ٣٠ دقیقه	سوکسله به مدت ٤ ساعت
١	شیکوریک اسید (میلی‌گرم در گرم گیاه خشک)	٣/٥٨	٦/٠٤	٦/١٦
٢	کلروژنیک اسید (میلی‌گرم در گرم گیاه خشک)	٢/٢٥	٥/٣٧	٥/٣٩
٣	روتین (میلی‌گرم در گرم گیاه خشک)	١/٩٩	٢/٢٥	٢/٥٠

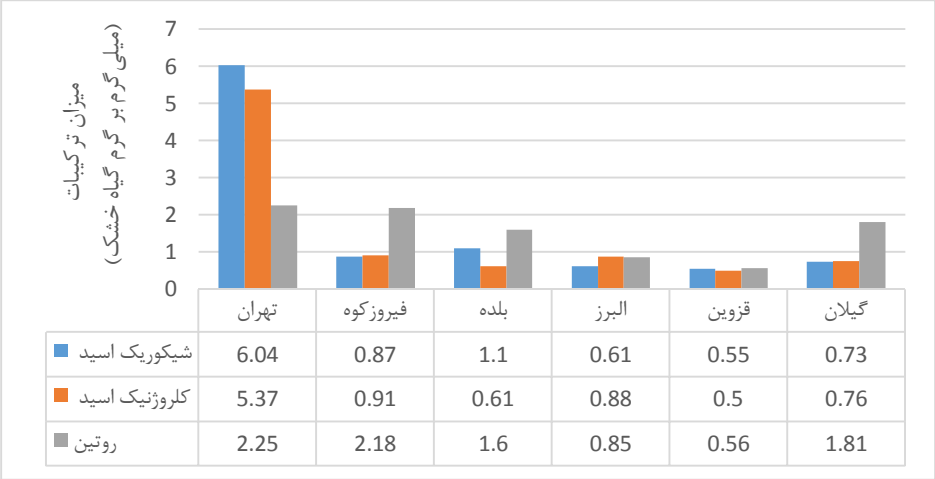
بنابر جداول فوق، حلال آب: اتانول (با نسبت ٥٠:٥٠) و روش اولتراسونیک به عنوان بهترین روش انتخاب گردید.

شناسایی و اندازه گیری ترکیبات موجود در عصاره: شناسایی اجزای تشکیل دهنده عصاره‌ها پس از تزریق

به دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا (HPLC) با استفاده از زمان بازداری و مقایسه طیف UV-Vis پیک‌های خروجی با پیک استاندارد تزریق شده به دستگاه انجام شد. جهت اندازه‌گیری هر جزء از روش استاندارد خارجی استفاده گردید. بدین ترتیب که ٤ غلظت از مخلوط استانداردها به دستگاه تزریق شد و منحنی کالیبراسیون سطح زیر پیک بر اساس غلظت، برای هر یک از مواد استاندارد بطور جداگانه ترسیم شد. با بدست آمدن معادله خط منحنی کالیبراسیون و جایگذاری سطح زیر پیک نمونه در معادله خط، غلظت هر یک از ترکیبات در محلول عصاره مشخص شد. سپس با استفاده از میزان گیاه خشک مورد استفاده در فرایند عصاره‌گیری و حجم عصاره، غلظت هر جز در گیاه خشک محاسبه گردید. جهت آنالیز نمونه‌ها از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) شرکت Agilent مدل 1260 Infinity II مجهز به ستون غیرقطبی Ultisil XB-C18 (به طول ٢٥ سانتی‌متر و قطر ذرات ٥ میکرومتر) و دتکتور PDA استفاده گردید. برنامه ریزی حلال شستشو با نسبت ٨٠:٢٠ بافرفسفات (pH=2.3) به متانول آغاز شده و پس از مدت زمان ٢٥ دقیقه به ٢٠:٨٠ رسید. خوانش در ٤ طول موج ٢٨٠، ٢٥٤، ٣٣٠ و ٣٠٠ نانومتر انجام شد. سرعت جریان فاز متحرک ١ میلی-لیتر بر دقیقه و دمای آون در طول زمان آنالیز ٣٠ درجه سانتی‌گراد بود.

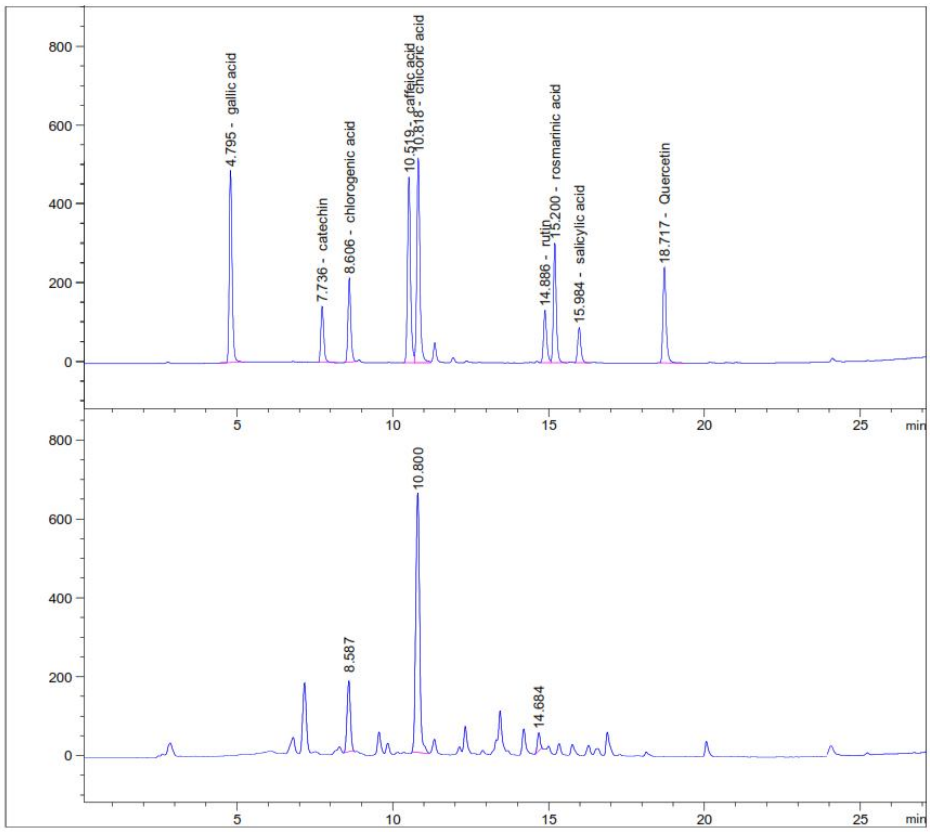
نتایج

براساس مطالعه مقالات و استانداردهای موجود در آزمایشگاه ٩ ترکیب شامل شیکوریک اسید، کلروژنیک اسید، رزمارینیک اسید، کافئیک اسید، سالیسیلیک اسید، گالیک اسید، کاتچین، کوئرستین و روتین انتخاب و در عصاره اندام هوایی و ریشه گیاه به وسیله دستگاه HPLC مورد بررسی قرار گرفتند . آنالیز کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا در عصاره‌های هیدروالکلی اندام هوایی کاسنی معمولی نشان می‌دهد که ترکیبات فنولی شناسایی و اندازه‌گیری شده موجود در عصاره شامل شیکوریک اسید (٦/٠٤-٠/٥٥ میلی-گرم در گرم گیاه خشک)، کلروژنیک اسید (٥/٣٧-٠/٥٠ میلی‌گرم در گرم گیاه خشک) و روتین (٢/٢٥-٠/٥٦ میلی‌گرم در گرم گیاه خشک) بودند (نمودار ١) و سایر ترکیبات در حد تشخیص دستگاه نبودند. (شکل ١).



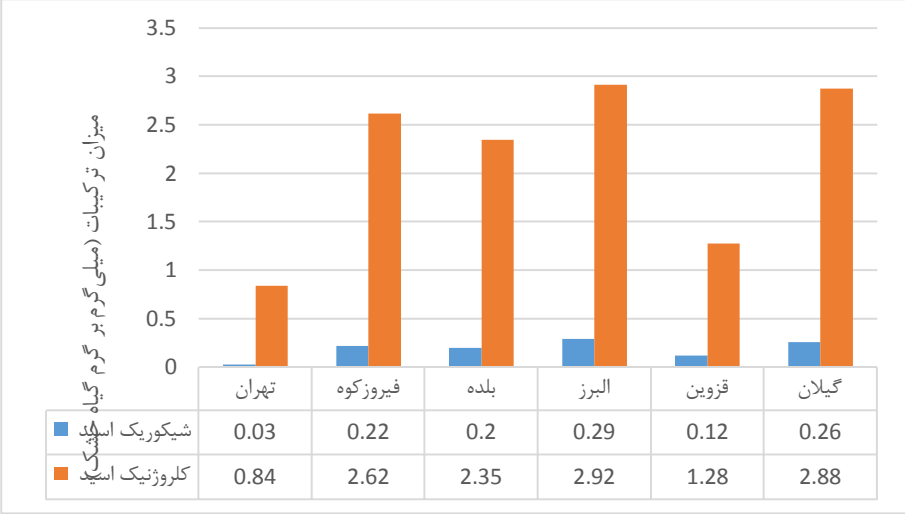
	تهران	فیروزکوه	بلده	البرز	قزوین	گیلان
شیکوریک اسید	6.04	0.87	1.1	0.61	0.55	0.73
کلروژنیک اسید	5.37	0.91	0.61	0.88	0.5	0.76
روتین	2.25	2.18	1.6	0.85	0.56	1.81

نمودار ١: ترکیبات شناسایی و اندازه‌گیری شده در عصاره‌های هیدروالکلی اندام هوایی *Cichorium intybus* L.



شکل ۱: نمونه‌ای از مقایسه کروماتوگرام مخلوط استانداردها (بالایی) با کروماتوگرام عصاره کاسنی (پایینی)

آنالیز کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا در عصاره‌های هیدروالکلی ریشه کاسنی معمولی نشان می‌دهد که ترکیبات فنولی شناسایی و اندازه‌گیری شده موجود در عصاره شامل شیکوریک اسید (۰/۲۹-۰/۰۳ میلی‌گرم در گرم گیاه خشک) و کلروژنیک اسید (۲/۸۸-۰/۸۴ میلی‌گرم در گرم گیاه خشک) بودند (نمودار ۲).



نمودار ۲: ترکیبات شناسایی و اندازه‌گیری شده در عصاره‌های هیدروالکلی ریشه *Cichorium intybus* L.

بحث

اغلب مطالعات فیتوشیمیایی انجام شده بر کاسنی روئیده در خارج از ایران با هدف بررسی خواص درمانی، تنها به اندازه‌گیری برخی صفات کل نظیر فلاونوئید کل، اسیدهای فنولیک کل، عناصر معدنی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی (Gazwi et al., 2022) و یا بررسی‌های فیتوشیمیایی مقدماتی نظیر بررسی وجود تانن‌ها، فنول‌ها، فلاونوئیدها، ساپونین‌ها، آلکالوئیدها، گلیکوزیدها، قندهای احیاکننده و پروتئین (Zotova et al., 2023, Arya et al., 2022, Zahoor et al., 2022, Rashed et al., 2021) پرداخته‌اند. Eray و همکاران نیز (۲۰۲۲) با هدف نشان دادن ظرفیت‌های آنتی اکسیدانی و تعیین اثرات سیتوتوکسیک عصاره کاسنی بر رده سلولی سرطان کبد برخی مشخصات فیتوشیمیایی عصاره نظیر سنجش فعالیت مهار رادیکال DPPH، محتوای فنول و فلاونوئید کل را به روش اسپکتروفتومتری اندازه گیری کردند. در حالیکه مطالعات دقیق‌تر فیتوشیمیایی توسط Carazzone و همکاران (۲۰۱۳) وجود مشتقات هیدروکسی‌سینامیک اسید نظیر شیکوریک اسید (دی‌کافئویل‌تارتاریک اسید) را به عنوان ترکیب اصلی عصاره متانولی این گیاه نشان می‌دهد. پیش از آن نیز شیکوریک اسید به عنوان ترکیب اصلی موجود در عصاره هیدروالکلی *C. intybus* گزارش شده بود که بین ۵۰ تا ۵۸٪ محتوای فنلی کل را تشکیل می‌داد. به دنبال آن کافئویل استرها (۱۲-۱۷٪)، و فلاونوئیدها (٤-۱۲٪)، بیشترین فراوانی را به خود اختصاص داده بودند (Innocenti et al., 2005). با وجود خواص درمانی متعدد گیاه کاسنی و مصرف بالای آن در طب سنتی ایرانی، اطلاعات بسیار محدودی در مورد مواد مؤثره و دارویی کاسنی روئیده در ایران وجود دارد که بیشتر به اندازه‌گیری اینولین (Hosseini Nezhad et al., 2012) و یا بررسی وجود تانن، ترپنوئید، لوکوآنتوسیانین، استروئید و فلاونوئید (Mosadegh et al., 2002) در این گونه گیاهی پرداخته‌اند و به همین دلیل نیاز به تحقیقات گسترده‌تر در زمینه جداسازی و شناسایی ترکیبات موجود در اندام‌های مختلف گیاه روئیده در ایران ضروری به نظر می‌رسید.

مقایسه کمی میزان شیکوریک اسید در گیاه: مقایسه کمی میزان شیکوریک اسید در اندام هوایی نمونه‌های جمع آوری شده نشان می‌دهد که میزان این ترکیب بین ۰/۵۵درصد تا ٦/۰٤ میلی‌گرم به ازای هر گرم گیاه خشک متغیر است، که بیشترین میزان شیکوریک اسید متعلق به نمونه باغ گیاهشناسی ملی ایران می‌باشد. بنظر می‌رسد اختلاف بسیار زیاد بین نتایج سایر نمونه‌ها با این نمونه به‌دلیل زراعی بودن نمونه باغ گیاهشناسی ملی ایران باشد. مقایسه کمی میزان شیکوریک اسید در ریشه نمونه‌های جمع آوری شده نشان می‌دهد که میزان این ترکیب بین ۰/۰۳ تا ۰/۲۹ میلی‌گرم به ازای هر گرم ریشه خشک متغیر است، که بیشترین میزان شیکوریک اسید متعلق به نمونه البرز و کمترین میزان شیکوریک اسید متعلق به نمونه باغ گیاهشناسی ملی ایران می‌باشد. با وجود مقادیر بالای شیکوریک اسید در اندام هوایی نمونه باغ گیاهشناسی ملی ایران، میزان این ترکیب در ریشه گیاه از همه نمونه‌ها کمتر است. مقالات متعددی به وجود ترکیبات فنولی نظیر شیکوریک اسید در عصاره *Cichorium intybus* L. اشاره کرده‌اند که وجود این ترکیب را با استفاده از طیف‌های جرمی خروجی از دستگاه LC/MS اثبات کرده‌اند (Carazzone et al., 2013, Saybel et al., 2020, Epure et al., 2020) ولی میزان این ترکیب در مقالات بسیار کمی اندازه‌گیری شده است. در گزارش Sinkovic و همکاران (۲۰۱۵) میزان ماده شیکوریک اسید در برگ‌های جمعیت‌های مختلف این گیاه (در نمونه‌های شاهد و بدون استفاده از کود) بین ۵۸ تا ۱۸٦ میلی‌گرم به ازای ۱۰۰ گرم

گیاه خشک گزارش شده است که معادل ۰/۵۸ تا ۱/۸٦ میلی‌گرم به ازای ۱ گرم گیاه خشک می‌باشد که با نتایج بدست آمده در این تحقیق (برای ارقام خودرو) مطابقت دارد. در گزارش دیگری میزان شیکوریک اسید در کاسنی جمع آوری شده از شرق ترکیه۱٦/۲ میلی‌گرم با ازای هر گرم گیاه خشک بیان شده است که از میزان بدست آمده برای رقم زراعی نیز بسیار بیشتر است (Dalar et al., 2014). در مقاله Epureو همکاران (۲۰۲۰) میزان شیکوریک اسید در عصاره متانولی گیاه کاسنی روئیده در رومانی که با دستگاه HPLC-UV-MS اندازه‌گیری شده است ۱۸/٤٥ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک گزارش شده است که از نتایج بدست آمده در این تحقیق برای رقم زراعی (٦/۰٤) بیشتر است. در مقاله Innocenti و همکاران (۲۰۰۵) نیز میزان شیکوریک اسید در برگ تازه *Cichorium intybus* ۰/۲٤ میلی گرم به ازای ۱ گرم گیاه تازه گزارش شده است که با توجه به عدم گزارش میزان رطوبت برگ، اطلاعاتی از میزان ماده موثره مورد نظر به ازای گیاه خشک در دست نیست.

مقایسه کمی میزان کلروژنیک اسید در گیاه: مقایسه کمی میزان کلروژنیک اسید در اندام هوایی نمونه‌های جمع آوری شده نشان می‌دهد که میزان این ترکیب بین ۰/۵۰درصد تا ۵/۳۷ میلی‌گرم به ازای هر گرم گیاه خشک متغیر است، که بیشترین میزان کلروژنیک اسید متعلق به نمونه باغ گیاهشناسی ملی ایران می‌باشد. بنظر می‌رسد اختلاف بسیار زیاد بین نتایج سایر نمونه‌ها با این نمونه به دلیل زراعی بودن نمونه باغ گیاهشناسی ملی ایران باشد. مقایسه کمی میزان کلروژنیک اسید در ریشه نمونه‌های جمع آوری شده نشان می‌دهد که میزان این ترکیب بین ۰/۸٤درصد تا ۲/۸۸ میلی‌گرم به ازای هر گرم ریشه خشک متغیر است، که بیشترین میزان کلروژنیک اسید متعلق به نمونه البرز و کمترین میزان کلروژنیک اسید متعلق به نمونه باغ گیاهشناسی ملی ایران می‌باشد. با وجود مقادیر بالای کلروژنیک اسید در اندام هوایی نمونه باغ گیاهشناسی ملی ایران، میزان این ترکیب در ریشه گیاه از همه نمونه‌ها کمتر است. مقالات متعددی به وجود ترکیبات فنولی نظیر کلروژنیک اسید در عصاره *Cichorium intybus* اشاره کرده‌اند که وجود این ترکیب را با استفاده از طیف‌های جرمی خروجی از دستگاه LC/MS اثبات کرده‌اند (Carazzone et al., 2013, Jančić et al., 2017, Saybel et al., 2020) ولی میزان این ترکیب در مقالات بسیار کمی اندازه-گیری شده است. در گزارش Sinkovic و همکاران (۲۰۱۵) میزان ماده کلروژنیک اسید در برگ‌های جمعیت‌های مختلف این گیاه (در نمونه های شاهد و بدون استفاده از کود) بین ۲۸ تا ۸۹ میلی‌گرم به ازای ۱۰۰ گرم گیاه خشک گزارش شده است که معادل ۰/۲۸ تا ۰/۸۹ میلی‌گرم به ازای ۱ گرم گیاه خشک می‌باشد که با نتایج بدست آمده در این تحقیق (برای ارقام خودرو) مطابقت دارد. در گزارش دیگری میزان مشتقات کلروژنیک اسید در کاسنی جمع آوری شده از شرق ترکیه۷/۱ و ۱۰/۹ میلی‌گرم با ازای هر گرم گیاه خشک بیان شده است که از میزان بدست آمده برای رقم زراعی نیز بیشتر است (Dalar et al., 2014). در مقاله Epure و همکاران (۲۰۲۰) میزان کلروژنیک اسید در عصاره متانولی گیاه کاسنی روئیده در رومانی که با دستگاه HPLC-UV-MS اندازه‌گیری شده است ۰/۹۱ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک گزارش شده است که با نتایج بدست آمده در این تحقیق برای ارقام خودرو برابری می‌کند. در مقاله Innocenti و همکاران (۲۰۰۵) نیز میزان کلروژنیک اسید در برگ تازه *Cichorium intybus*، ۰/۰٤ میلی‌گرم به ازای ۱ گرم گیاه تازه گزارش شده است که با توجه به عدم گزارش میزان رطوبت برگ، اطلاعاتی از میزان ماده موثره مورد نظر به ازای گیاه خشک در دست نیست.

مقایسه کمی میزان روتین در گیاه: مقایسه کمی میزان روتین در اندام هوایی نمونه‌های جمع آوری شده نشان می‌دهد که میزان این ترکیب بین ٠/٥٦درصد تا ٢/٢٥ میلی‌گرم به ازای هر گرم گیاه خشک متغیر است، که بیشترین میزان روتین متعلق به نمونه باغ گیاهشناسی ملی ایران و کمترین میزان متعلق به نمونه قزوین می‌باشد. در گزارش Epure و همکاران (٢٠٢٠) وجود ترکیبات فلاونوئیدی نظیر روتین با دستگاه HPLC-UV-MS در عصاره گیاه کاسنی روئیده در رومانی به اثبات رسیده است و میزان این ترکیب در اندام هوایی گیاه ٠/١٤ میلی‌گرم به ازای هر گرم گیاه خشک گزارش شده است که از مقادیر بدست آمده در این تحقیق بسیار کمتر است. در گزارش Dalar و همکاران (٢٠١٤) میزان روتین در کاسنی جمع آوری شده از شرق ترکیه به مقدار جزیی (کمتر از ٢ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک) بیان شده است که با مقادیر بدست آمده در این تحقیق کاملا مطابقت دارد. وجود ماده موثره روتین در عصاره کاسنی گزارش شده توسط Saybel و همکاران (٢٠٢٠) نیز به همراه ترکیباتی نظیر شیکوریک اسید، کلروژنیک اسید و ... مشاهده شده است.

نتایج نشان می‌دهد با وجود تنوع شرایط آب و هوایی ایران و تفاوت آن با سایر نقاط جهان که منجر به تنش زیستی و تفاوت در ترکیبات شیمیایی می‌گردد، در کاسنی رشد یافته در مناطق مختلف ایران نیز بیشترین ترکیب فنولی موجود در عصاره شیکوریک اسید بود. همچنین ترکیباتی نظیر کلروژنیک اسید و روتین که در کاسنی‌های روئیده در سایر نقاط جهان از ترکیبات عمده و مهم به شمار می‌روند، در کاسنی‌های روئیده در ایران نیز از فراوانی بالایی برخوردارند.

نتیجه‌گیری نهایی

مقایسه کروماتوگرام نمونه‌های خودرو با نمونه توده زراعی تفاوت بسیار زیادی را در مواد موثره قابل اندازه‌گیری با HPLC نشان می‌دهد بطوریکه میزان شیکوریک اسید در اندام هوایی نمونه زراعی به طور متوسط ٦ برابر میزان این ترکیب در نمونه‌های خودرو می‌باشد و بلعکس آن در ریشه اتفاق افتاده است و میزان شکوریک اسید در ریشه توده زراعی به طور متوسط به ٠/٢ برابر میزان این ترکیب در نمونه‌های خودرو رسیده است. همین تفاوت را می‌توان در مورد میزان کلروژنیک اسید نیز مشاهده کرد. در خصوص میزان روتین تفاوت فاحشی بین میزان این ترکیب در نمونه‌های خودرو و توده زراعی مشاهده نمی‌شود. با وجودیکه میزان مواد موثره توده زراعی در مقایسه با نمونه‌های خودرو متفاوت است ولی ماهیت ترکیبات موثره و الگوی طیف HPLC همه نمونه‌ها به هم نزدیک و مشابه با نمونه‌های گزارش شده در سایر نقاط جهان است.

References

Abbas, Z.K., Saggu, S., Sakeran, M.I., Zidan, N., Rehman, H. and Ansari, A.A. 2015. Phytochemical, antioxidant and mineral composition of hydroalcoholic extract of chicory (*Cichorium intybus* L.) leaves. Saudi journal of biological sciences. 22(3): 322-326.

Al-Snafi, A.E. 2016. Medical importance of *Cichorium intybus*–A review. IOSR Journal of Pharmacy. 6(3): 41-56.

Arya, M., Singh, B.R. and Taj, G. 2022. Phytochemical screening and quantitative analysis of *Cichorium intybus* L.(Chicory) plants from region of Uttarakhand. The Pharma Innovation Journal. 11(4): 230-235.

Bischoff, T.A., Kelley, C.J., Karchesy, Y., Laurantos, M., Nguyen-Dinh, P. and Arefi, A.G. 2004. Antimalarial activity of Lactucin and Lactucopicrin: sesquiterpene lactones isolated from *Cichorium intybus* L. Journal of Ethnopharmacology. 95(2): 455-457.

Carazzone, C., Mascherpa, D., Gazzani, G. and Papetti, A. 2013. Identification of phenolic constituents in red chicory salads (*Cichorium intybus*) by high-performance liquid chromatography with diode array detection and electrospray ionisation tandem mass spectrometry. Food Chemistry. 138(2-3): 1062-1071.

Choi, J.-O., Kim, J.-m., Lee, S.-E., Shin, J.-Y. and Lee, S.-H. 2004. Inhibition of mast cell-mediated immediate-type allergic reactions by Bojungikgitanggamibang. J Int Korean Med. 25(2): 159-166.

Dalar, A. and Konczak, I. 2014. *Cichorium intybus* from Eastern Anatolia: Phenolic composition, antioxidant and enzyme inhibitory activities. Industrial Crops and Products. 60: 79-85.

Das, S., Vasudeva, N. and Sharma, S. 2016. *Cichorium intybus*: A concise report on its ethnomedicinal, botanical, and phytopharmacological aspects. Drug Development and Therapeutics. 7(1): 1-12.

Epure, A., Pârvu, A.E., Vlase, L., Benedec, D., Hanganu, D., Gheldiu, A.-M., Toma, V.A. and Oniga, I. 2020. Phytochemical profile, antioxidant, cardioprotective and nephroprotective activity of romanian chicory extract. Plants. 10(1): 64-82.

Eray, N., Kartal, D.I. And Çelik, İ. 2020. Antioxidant Properties of *Cichorium intybus* L.(Chicory) Extracts and Their Cytotoxic Effects on HepG2 Cells. Yuzuncu Yil Universitesi Journal of Agricultural Sciences (YYU J Agr Sci). 30(3): 444-453.

Gazwi, H.S.S., Mahmoud, M.E. and Toson, E.M.A. 2022. Analysis of the phytochemicals of Coriandrum sativum and *Cichorium intybus* aqueous extracts and their biological effects on broiler chickens. Scientific Reports. 12(1): 6399.

Hosseini Nezhad, M., Nahardani, M. and Elhami Rad A.H. 2012. Characterization of inulin extract from iranian native chicory in comparison with some other sources. Journal of Research and Innovation in Food Science. 1(1): 39-46.

Innocenti, M., Gallori, S., Giaccherini, C., Ieri, F., Vincieri, F.F. and Mulinacci, N. 2005. Evaluation of the phenolic content in the aerial parts of different varieties of *Cichorium intybus* L. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 53(16): 6497-6502.

Jančić, D., Todorović, V., Sircelj, H., Dodevska, M., Beljkas, B., Znidarcić, D. and Šobajić, S. 2017. Biologically active compounds and antioxidant capacity of *Cichorium intybus* L. leaves from Montenegro. Italian Journal of Food Science. 29(4): 627-643.

Kaur, N. and Gupta, A.K. 2002. Applications of inulin and oligofructose in health and nutrition. Journal of Biosciences. 27(7): 703-714.

Kim, M. and Shin, H.K. 1996. The water-soluble extract of chicory reduces glucose uptake from the perfused jejunum in rats. The Journal of nutrition. 126(9): 2236-2242.

Makkar, H.P. 2003. Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. Small ruminant research. 49(3): 241-256.

Marteau, P., Jacobs, H., Cazaubiel, M., Signoret, C., Prevel, J.-M. and Housez, B. 2011. Effects of chicory inulin in constipated elderly people: a double-blind controlled trial. International Journal of Food Sciences and Nutrition. 62(2): 164-170.

Mossadegh, M., Dehmobad Sharifabadi, A., Nasiri, P. and Naqibi, F. 2002. Phytochemical investigation of two *Chicory* and *Teucrium* plants and measuring their antimicrobial and antifungal effects. Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences. 7(25): 1-6.

Nadkarni, K. and Nadkarni, A. 1976. Indian Materia Medica, Vol. I & II. Popular Prakashan Private Limited, Bombay, India. 40.

Nandagopal, S. and Kumari, B.R. 2007. Phytochemical and antibacterial studies of Chicory (*Cichorium intybus* L.)-A multipurpose medicinal plant. Advances in Biological Research. 1(1-2): 17-21.

Petrovic, J., Stanojkovic, A., Comic, L. and Curcic, S. 2004. Antibacterial activity of *Cichorium intybus*. Fitoterapia. 75(7): 737-739.

Pushparaj, P.N., Low, H.K., Manikandan, J., Tan, B.K.H. and Tan, C.H. 2007. Anti-diabetic effects of *Cichorium intybus* in streptozotocin-induced diabetic rats. Journal of Ethnopharmacology. 111(2): 430-434.

Rashed, K.N. and Butnariu, M. 2021. Antimicrobial and antioxidant effects of Cichorium intybus aerial parts and Chemical profile. Egyptian Journal of Chemistry. 64(8): 4689-4696.

Ripoll, C., Schmidt, B.M., Ilic, N., Poulev, A., Dey, M., Kurmukov, A.G. and Raskin, I. 2007. Anti-inflammatory Effects of a Sesquiterpene Lactone Extract from Chicory (*Cichorium intybus* L.) Roots. Natural Product Communications. 2(7): 717-722.

Safavi, S., Naseh, Y., Jafari, E., Tavakoli, Z. and Heidarnia, N. 2013. Flora of Iran: Asteraceae tribe Cichorieae (No. 77), Islamic Republic of Iran, Ministry of Jihad-e-Agriculture.

Saybel, O., Rendyuk, T., Dargaeva, T., Nikolaev, S. and Khobrakova, V. 2020. Phenolic compounds and immunomodulating activity of chicory (*Cichorium intybus* L.) extract. Pharmacognosy journal. 12(5) 1104-1107.

Shad, M., Nawaz, H., Rehman, T. and Ikram, N. 2013. Determination of some biochemicals, phytochemicals and antioxidant properties of different parts of *Cichorium intybus* L.: A comparative study. J. Anim. Plant Sci. 23(4): 1060-1066.

Sinkovič, L., Demšar, L., Žnidarčič, D., Vidrih, R., Hribar, J. and Treutter, D. 2015. Phenolic profiles in leaves of chicory cultivars (*Cichorium intybus* L.) as influenced by organic and mineral fertilizers. Food chemistry. 166: 507-513.

Street, R.A., Sidana, J. and Prinsloo, G. 2013. *Cichorium intybus*: Traditional uses, phytochemistry, pharmacology, and toxicology. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2013.

Wilson, R.G., Smith, J.A. and Yonts, C.D. 2004. Chicory root yield and carbohydrate composition is influenced by cultivar selection, planting, and harvest date. Crop Science. 44(3): 748-752.

Zafar, R. and Mujahid Ali, S. 1998. Anti-hepatotoxic effects of root and root callus extracts of *Cichorium intybus* L. Journal of Ethnopharmacology. 63(3): 227-231.

Zahoor, I., Anjum, N., Ganaie, T.A., Allai, F.M., Al-Ghamdi, A.A., Abbasi, A.M. and Wani, S.A. 2022. Effect of hybrid drying technique on non-traditional Chicory (*Cichorium intybus* L.) herb: Phytochemical, antioxidant characteristics, and optimization of process conditions. Frontiers in Sustainable Food Systems. 6: 1002396.

Zotova, E.P., Cherednichenko, M.Y. and Kalashnikova, E.A. 2023. Primary phytochemical screening and spectroscopic assessment of chicory (*Cichorium intybus* L.). Acta Biologica Sibirica. 9: 265-277.