بررسی مسیر بیوسنتز کارنوسیک اسید در رزماری *(Rosmarinus of ficinalis)*

سیدمحسن حسینی[۱] و امین باقی‌زاده [۲*]

۱- دانشجوی کارشناسی‌ارشد، گروه بیوتکنولوژی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، کرمان، ایران، mohsen.shirazu@yahoo.com

۲*- دانشیار، گروه بیوتکنولوژی، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، کرمان، amin_4156@yahoo.com

*نویسنده مسئول: امین باقی‌زاده

تاریخ دریافت: بهمن ۱۳۹۸ تاریخ پذیرش: خرداد ۱۳۹۹

Evaluation of carnosic acid biosynthesis pathway in rosemary *(Rosmarinus officinalis)*

Seed Mohsen Hosseini[1] and Amin Baghizadeh[2*]

1- M.Sc Student, Department of Biotechnology, Graduate University of Advanced Technology, Kerman, Iran, mohsen.shirazu@yahoo.com

2*- Associate professor, Department of Biotechnology, Institute of Science and High Technology and Environmental Sciences, Graduate University of Advanced Technology, Kerman, Iran, amin_4156@yahoo.com

*Corresponding author: Amin Baghizadeh

Received: February 2020 Accepted: June 2020

چکیده

بدون شک، گیاهان دارویی مهم‌ترین و بهترین منبع تولید متابولیت‌های ثانویه هستند که همواره به عنوان منابع ارزشمند شناخته می‌شوند. متابولیت‌های ثانویه به‌جز مسیر بیوسنتزی پیچیده‌ای که برای تولید دارند، دارای ساختار پیچیده نیز هستند و همین امر مطالعه آن‌ها را با کندی مواجه کرده است. این در حالی است که ارزش بالای این ترکیبات در صنایعی همچون پزشکی، دارویی و صنایع غذایی، ضرورت مطالعه شیمیایی این ترکیبات را اجتناب ناپذیر می‌نماید. کارنوسیک اسید یکی از متابولیت‌های ثانویه از خانواده ترپن‌ها است که دارای خواص فراوان از جمله خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضدویروسی است. امروزه استفاده از این ماده در صنایع غذایی، آرایشی و بهداشتی رو به افزایش است. کارنوسیک اسید ابتدا در گیاه مریم گلی مورد شناسایی قرارگرفت. در مطالعات بعدی این ماده در مقادیر بالاتر در گیاه رزماری تشخیص داده شد. در حال حاضرمطالعات کمی بر روی خواص بیو شیمیایی، فیزیولوژی و ملکولی این ماده صورت گرفته است. در این مقاله، مروری بر پیشرفت‌های اخیر در بررسی و شناسایی کارنوسیک اسید، بیوسنتز، تجمع، نقش و کاربردهای آن در گیاه انجام شده است. در انتها نیز چشم اندازها و ضرورت مطالعات آینده مربوط به نقش‌های کاربردی کارنوسیک اسید برجسته شده است.

کلمات کلیدی: آنتی‌اکسیدان، ترپن‌ها، گیاه رزماری، متابولیت‌های ثانویه

Abstract

Clearly, medicinal plants are the most important and best source of secondary metabolites that have been recognized as valuable resources. Secondary metabolites, in addition to their complex biosynthetic pathways for production, also have complex structures and this has led them to study at a low rate. However, the high value of these compounds in industries such as medicine, pharmaceuticals and food industries makes the chemical study of these compounds inevitable. Carnosic acid is one of the secondary metabolites of the terpene family that has many properties including antioxidant and antiviral properties. The use of this substance in the food, cosmetics and health industries is increasing today. Carnosic acid was first identified in *Salvia officinalis*. In later studies, it was detected in higher amounts in the rosemary. Few studies are currently performed on the biochemical, physiological and molecular properties of this substance. This article reviews recent advances in the study and identification of carnosic acid, biosynthesis, accumulation and its role and applications in the plant. Finally, prospects and the necessity for future studies on the functional roles of carnosic acid are highlighted.

Keywords: Antioxidants, Rosemary, Secondary Metabolites, Terpenes.

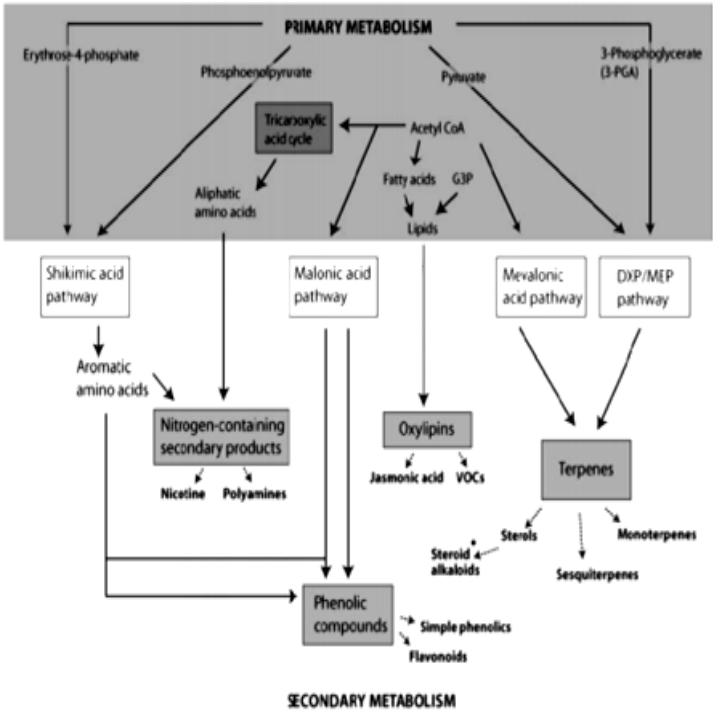
فصلنامه گیاه و زیست فناوری ایران

سال ۱۳۹۹، دوره ۱۵، شماره ۱، صص ۲۰-۱۱

مقدمه و کلیات

متابولیت‌های گیاهی: سلول‌های گیاهی دو دسته از ترکیبات، شامل متابولیت‌های اولیه و متابولیت‌های ثانویه را تولید می‌کنند. متابولیت‌های اولیه، مستقیما در رشد و متابولیسم گیاه درگیر بوده و شامل کربوهیدرات‌ها، لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک می‌باشند. این ترکیبات در حجم زیاد با ارزش اقتصادی پایین تولید می‌شوند و عمدتا به عنوان ماده خام صنعت، مواد غذایی و افزودنی‌ها کاربرد دارند. روغنهای گیاهی، اسیدهای چرب و ترکیباتی مانند ساکارز، نشاسته، پکتین و سلولز مثال‌هایی از متابولیت‌های اولیه هستند. قیمت این قبیل ترکیبات به طور میانگین ارزان بوده و تولید آنها در حجم انبوه امکان پذیر است. البته برخی از متابولیت‌های اولیه مانند میواینوزیتول و بتاکارتن گران هستند که علت قیمت بالای آنها، سختی استخراج و تخلیص آنها می‌باشد(Wenkert *et al.*, 1965). متابولیت‌های ثانویه گروه متنوعی از مولکول‌هایی هستند که در سازگاری گیاهان در مقابل شرایط محیطی نقش دارند.متابولیت‌های ثانویه از بیوسنتز متابولیت‌های اولیه به دست می‌آیند و به عنوان ترکیبات نهایی در فرآیند فرعی و انتهایی متابولیسم اولیه در نظر گرفته می‌شوند. همچنین این ترکیبات در فرآیندهای متابولیسمی وارد نمی‌شوند. مهمترین متابولیت‌های ثانویه آلکالوئیدها، فنولیک‌ها، روغن‌های ضروری، استروئیدها، لگنین‌ها، تانن‌ها و فلاوونوئیدها می‌باشند(Del *et al.*, 2003). متابولیت‌های ثانویه عمدتا در گونه و خانواده‌های خاصی از سلسله گیاهان تولید می‌شوند. این ترکبات به مقدار کمی در سلول ذخیره شده و عمدتا در سلول‌های تخصصی و در مرحله خاصی از چرخه زندگی گیاه تولید می‌شوند و همین امر استخراج و تخلیص آنها را در مقایسه با متابولیت‌های اولیه که در تمام سلول‌ها تولید می‌شوند، دشوار می‌کند. گیاهان دارویی از لحاظ میزان متابولیت‌های ثانویه بسیار غنی می‌باشند. برخی از متابولیت‌های ثانویه از مهم ترین ترکیبات دارویی هستندو در نتیجه این ترکیبات، داروهای گیاهی طبیعی نام گرفته اند. عموما استفاده از داروهای با منشاء گیاهی بدون انجام فرآوری خاصی صورت می‌گیرد. اگرچه تعدادی از این داروها نیز فرموله شده و به طرز مصنوعی برای مصارف درمانی ساخته می‌شوند، ولی هنوز بسیاری از آنها از منابع طبیعی به دست می‌آیند (Halliwell, 1994). به محض اینکه اثر فیزیولوژیکی یک گروه دارویی خاص کشف شود، تلاش‌ها برای یافتن خصوصیات دقیق شیمیایی ماده موثره آن (داروی گیاهی) و در پی آن، یافتن روش تولید شیمیایی این ترکیبات به طور تجاری صورت میگیرد(Dewick, 2002). برای تعیین خصوصیات شیمیایی و شناسایی یک متابولیت ثانویه، جداسازی آن به صورت کاملا خالص الزامی‌و اولین قدم است. روش‌های جداسازی گوناگون و مراحل آن اکثرا طولانی است. متابولیت‌های ثاتویه به صورت خالص و با نسبت‌های مشخص در پزشکی استفاده می‌شوند. البته در کنار خالص سازی مواد موثره گیاهان دارویی, آنها بدون تغییر نیز در سامانه‌های مختلف تهیه دارو استفاده می‌شوند. این نکته را نباید فراموش کرد که در کنار متابولیت‌های ثانویه، تعدادی ازمتابولیت‌های

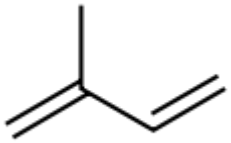
اولیه نیز اثرات فیزیولوژیکی قوی دارند. اکثرا این ترکیبات پروتئینی بوده و عملکردهای مختلفی دارند. هورمون‌ها مثال‌هایی از پروتئین‌های با اثر فیزیولوژکی قوی هستند. آنتی بیوتیک، واکسن‌ها و تعدادی از پلی ساکاریدها که نقش هورمونی دارند، ازجمله متابولیت‌های اولیه با اثر فیزیولوژیکی قابل ملاحظه می‌باشند . مسیرهای اصلی متابولیت‌های ثـانویه در گیـاه و ارتباط آنها با متابولیسم اولیه به صـورت شـماتیک در شکل۱ نشان داده شده است.



شکل۱- مسیرهای اصلی متابولیت‌های ثـانویه در گیـاه و ارتباط آنها با متابولیسم اولیه (Wink and Oskar, 2010)

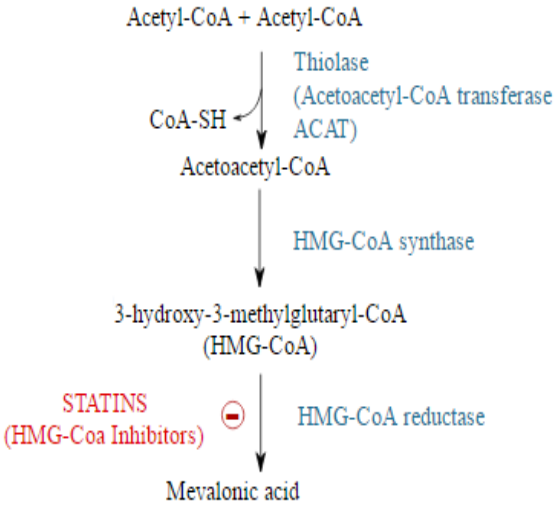
طبقه‌بندی متابولیت‌های‌ثانویه

پـیش ماده‌های ساختاری متابولیت‌های ثـانویه از متابولیـت‌هـای اولیـه حاصل می‌شوند. از مسیرهای اصلی بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه میتوان به سه مسیر اصلی، شامل مسیرهای اسید – مالونـات، اسـید – موالونـات و اسـید شیکمیک اشاره کرد. متابولیت‌های‌ثانویه‌گیاهـان معمـولا بـر اساس مسیر متابولیسمی آنها طبقه‌بندی می‌شوند. متابولیـت‌هـای ثـانویه در سـه خـانواده مولکـولی بـزرگ شامل گـروه ترکیبات نیتروژن دار، ترپنها و فنولها قرار میگیرند. ترپن‌ها یا ترپنوئیدها بزگترین گروه متابولیت‌های ثانویه را شامل می‌شوند. مواد متنوع این گروه معمولا در آب غیر محلول بوده و به وسیله منشاء بیوسنتزی مشترکشان به هم می‌پیوندند.کلیه ترپن‌ها از اجزای واحد ۵ کربنی که اسکلت کربنی شاخه دار ایزوپنتان را دارا می‌باشند، مشتق شده اند که این اجزای ساختمانی ترپن‌ها به نام واحدهای ایزوپرن نامیده می‌شوند (شکل۲) که از طریق مسیر موالنیک اسید ساخته می‌شوند (Bourgaud *et al*., 2001).

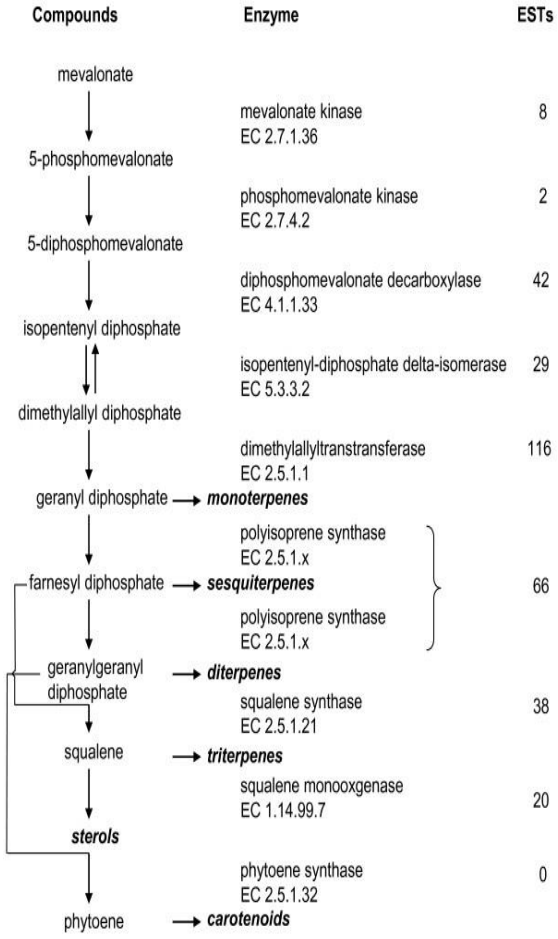


شکل ۲ : واحد ایزوپرنی

بیوسنتز ترپن‌ها از استیل کوآنزیم A و از طریق مسیر اسید موالنیک صورت می‌گیرد. در این زنجیره از واکنش‌ها، سه مولکول استیل کوآنزیم A به صورت مرحله ای به هم پیوسته و ترکیب ٦ کربنه حد واسطی به نام موالنیک اسید به وجود می‌آید (شکل‌های ۳ و ٤). اسید موالنیک پیرو فسفریله شده و متعاقب آن پس از دکربوکسیله و هیدراته شدن، تولید ایزو پنتیل پرو فسفات (ایزوپنتیل pp) می‌کند. ایزوپنتیل pp و ایزومر آن دی متیلیل pp اجزای ساختمانی ۵ کربنه فعال ترپن‌ها هستند که با یکدیگر ترکیب شده و ملکول‌های بزرگتری را ایجاد می‌کنند. ایزو پنتیل پیرو فسفات و دی متیلیل پیرو فسفات با یکدیگر واکنش انجام داده و ژرانیل دای فسفات تولید می‌کنند که تقریبا این ملکول پیش ماده ۱۰ کربنی اولیه تمام مونوترپن‌ها است. ژرانیل دای فسفات می‌تواند با ایزوپنتیل پیرو فسفات پیوند برقرار کرده و تشکیل فارنسیل پیرو فسفات (C15) را بدهد که این ملکول ماده اولیه ی سزکوپی ترپن‌ها است. اگر فارنسیل پیروفسفات با اسکوالین پیوند برقرار کند، تری ترپن‌ها را به وجود می‌آورد (شکل۳).(Wink and Oskar, 2010)



شکل۳: مسیرسنتزی اسید موالونیک(YJ)



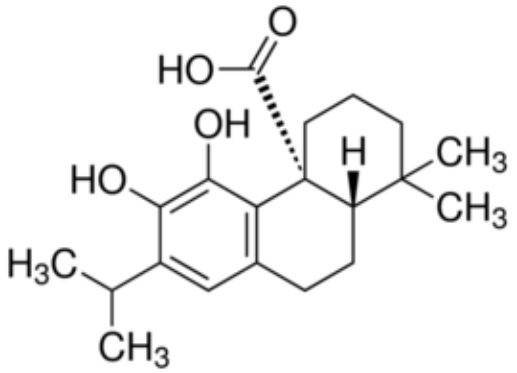
شکل٤: مسیر سنتز تری ترپن‌ها

اکثر ترپن‌ها اعمال مشخصی در رشد و نمو گیاه به عهده دارند و لذا بیشتر می‌توان آنها را به عنوان

متابولیت‌های اولیه (تا ثانویه) در نظر گرفت. به عنوان مثال پیش ماده اسید آبسزیک یک سزکویی ترپن است و دی ترپن، انت کائورن، ترکیب حد واسط اسید جیبرلیک است که اینها هر دو از هورمون‌های گیاهی مهم می‌باشند(Christen, 2000).

کارنوسیک اسید

کارنوسیک‌اسید برای اولین بار در سال ۱۹٦٤ در مریم گلی(*Salvia officinalis*) کشف شد. در مطالعات بعدیWenkert و همکاران (۱۹٦٥) کارنوسیک‌اسید را در سطح بسیار بیشتری در برگ‌های رزماری کشف کردند(Wenkert *et al*., 1965).این ترکیب بعدا در دیگر جنس‌ها و گونه‌های خانواده نعناعیان نیز پیدا شد. زمینه‌های ژنتیکی و شرایطرشد می‌تواند بر میزان کارنوسیک‌اسید تاثیر داشته باشد. کارنوسیک‌اسید یک دی‌ترپن‌فنلی با فرمول ملکولی ($C_{20}H_{28}O_4$) (**Error! Reference source not found.**) است که به یکی از بزرگترین گروه‌های متابولیت‌های ثانویه که ترپنوئیدها نامیده می‌شوند تعلق دارد، ولی از انجایی که دارای یگ گروه‌فنلی است در دسته پلی‌فنل‌ها طبقه بندی می‌شود. با این حال توزیع سلولی، مسیر بیو سنتز، خواص حلالیت و نقش‌های قابل ملاحظه اش با اکثر پلی فنل‌ها متفاوت است و در عوض شبیه به ترپنوئیدهایی از قبیل توکوفرول و کاروتنوئیدها است (*et al*., 2010 Tounekti). کارنوسیک‌اسید دارای خواص دارویی و بهداشتی زیادی است که از آن جمله می‌توان به فعالیت ضدتومری، ضددیابتی، آنتی باکتریایی، محافظ نورونی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالای آن اشاره کرد (Huang and Chi-Tang, 1997). اخیرا فعالیت ضد ویروسی آن در مورد ویروس سنسشیال تنفسی(Respiratory Syncytial Virus) و نقص ایمنی اکتسابی (HIV) نیز گزارش شده است(Barni *et al.*, 2012).

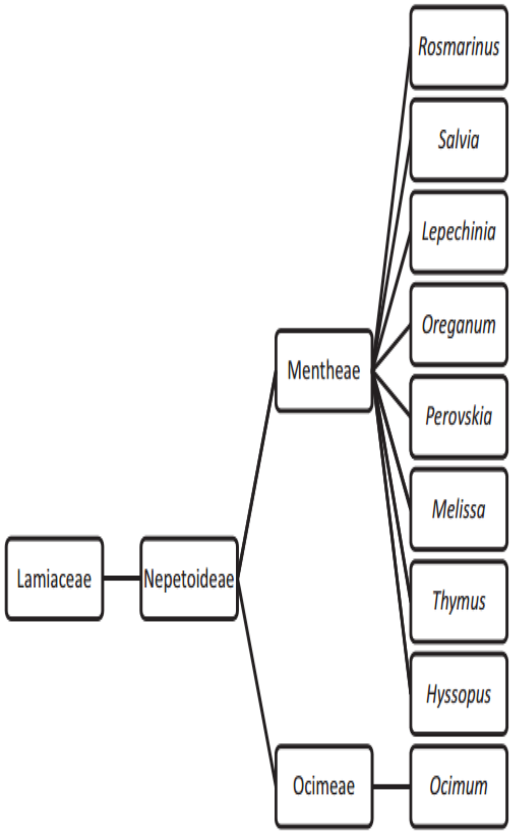


شکل ۵: ساختار ملکولی کارنوسیک اسید

طبقه‌بندی، مورفولوژی و توزیع سلولی کارنوسیک اسید

امروزه کارنوسیک اسید تنها در تعداد اندکی ازگونه‌های گیاهی شناسایی شده‌است که همگی این گونه‌ها متعلق به خانواده نعناعیان (Lamiaceae) هستند. تنها چند جنس از۷۰جنس خانواده نعناعیان دارای کارنوسیک اسید هستند که از آن جمله می‌توان به جنس‌های Salvia، Rosmarinus، Lepechinia، Oreganum وThymus اشاره کرد (**Error! Reference source not found.**) . در گونه‌های متعلق به جنس‌های اشاره شده در بالا مقدار کارنوسیک‌اسید متفاوت است. اما به طور کلی در رزماری و به دنبال آن در برخی ازگونه‌های مریم گلی، بیشترین مقدار کارنوسیک‌اسید را می‌توان مشاهده کرد. تفاوت‌های قابل توجه درون جنسی و درون گونه ای در مورد مقدار و محتوای کارنوسیک‌اسید وجود دارد. درگونه‌های مختلف مریم گلی، کارنوسیک اسید با غلظت‌های ۰/۱–۲۱/۸ میلی گرم بر گرم وزن خشک وجود دارد. این در حالی

است که مقدار کارنوسیک اسید در گونه‌های رزماری بسته به مرحله‌ی رشد و نمو وشرایط محیطی از سه تا ۵۰ میلی گرم بر گرم وزن خشک متغیر است(Brieskorn and Dömling ,1967).



شکل ٦: وجود کارنوسیک اسید در خانواده نعناعیان (Birtić et al., 2015)

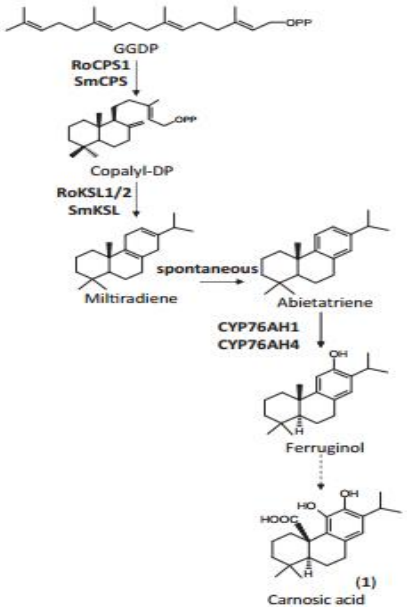
کارنوسیک اسید به طور مساوی در گیاهان توزیع نشده و بیشتر در قسمت‌های هوایی گیاهان موجود است. کارنوسیک اسید در رزماری بیشتر در بافت‌های فتوسنتز کننده مانند برگ‌ها، کاسبرگ‌ها و گلبرگ‌ها یافت می‌شود، که در این بین برگ‌ها با داشتن میزان ۱۵-۱۰ میلی گرم بر گرم وزن خشک بیشترین مقدار را دارند و به دنبال آن کاسبرگ‌ها ۱۰-۵ میلی گرم بر گرم وزن خشک و گلبرگ‌ها کمتر از دو میلی گرم بر گرم وزن خشک را دارند. مقدار کارنوسیک اسید در برگ‌ها به مراحل رشد و نمو نیز بستگی دارد به طوری که مقدار کارنوسیک اسید در برگ‌های جوان رزماری تقریبا سه برابر مقدار کارنوسیک اسید گیاهانی است که سه ماه از رشد آنها گذشته است اما در گیاه مریم گلی با پیر شدن برگ‌ها مقدار کارنوسیک اسید افزایش می‌یابد. همچنین شرایط محیطی نیز تاثیر بسزایی بر مقدار کارنوسیک اسید دارد به طوری که دمای بالا و بارش کم همراه با از دست دادن آب در دسترس گیاه توسط برگ‌ها موجب کاهش کارنوسیک‌اسید می‌شود. یکی دیگر از عوامل تاثیر گذار بر مقدار کارنوسیک اسید دسترسی به مواد مغذی است به طور مثال تنش شوری در اثر غلظت بالای سدیم سبب کاهش غلظت کارنوسیک اسید در برگ‌های مریم گلی شده در حالی که اضافه کردن کلسیم و پتاسیم منجر به تجمع کارنوسیک اسید در برگ‌های مریم گلی شده است. مطالعات درون سلولی کارنوسیک اسید نشان داده است که جایگاه این ترکیب در درون پلاستیدها است هرچند هنوز جایگاه دقیق آن مشخص نیست اما کارنوسیک اسید موجود در کلرو پلاست برگ‌های رزماری در مقایسه با کل مواد برگی حدود شش برابر بیشتر است که نشان می‌دهند کارنوسیک‌اسید بیشتر در کلرو پلاست‌ها متمرکز می‌شود. کارنوسیک اسید در شبکه اندوپلاسمی، جسم گلژی و غشاء پلاسمایی پیدا نشده و در واقع هنوز مشخص نشده که آیا کارنوسیک‌اسید در دیگر اندامک‌ها ازجمله واکوئل حضورد دارد یا خیر اما با این حال با توجه به ویژگی چربی دوست بودن کارنوسیک اسید در صورت احتمال حضورش در دیگر اندامک‌ها حضور آن در

بخش‌های چربی دوست اندامک‌ها منطقی تر به نظر می‌رسد. از این رو برای بررسی توزیع درون سلولی کارنوسیک اسید در پلاستیدها و دیگر اندامک‌ها و مشخص شدن سایر محل‌های تجمع کارنوسیک اسید نیازبه تحقیقات بیشتری است(Birtić *et al*., 2015).

بیوسنتز کارنوسیک اسید

مسیر بیو سنتز کارنوسیک اسید هنوز به طور کامل روشن نشده است و تحقیقات اساسا بر روی ترپنوئیدهای عمومی و با مطالعه ی خاص در مریم گلی متمرکز شده است و به ندرت به رزماری توجه شده است. احتمالا بیو سنتز کارنوسیک اسید از قانون بیوژنتیک ایزوپرن‌ها پیروی می‌کند که می‌توان ساخت و ساز کارنوسیک اسید را که شامل طویل سازی آنزیم‌های الکترو فیلی و حلقه ای شدن و باز آرایی اسکلت‌های ابتدایی است را منطقی فرض کرد(Fischedick *et al*., 2013). کارنوسیک اسید به دسته ای از ترپنوئیدها به نام Labdan تعلق دارد که احتمالا بیوسنتز این ترکیب با واکنش‌های حلقه ای شدن جفت‌های پی درپی آغاز می‌شود. با توجه به محل پلاستیدی سنتز دی ترپن‌ها، دی ترپن‌های گیاهی به طور نرمال از مسیر بیو سنتزی پلاستیدی 1-deoxyxylulose-5-phosphte منشاء می‌گیرند، گرچه از مسیر بیوسنتزی موالونات سیتوسولی هم محروم نیستند و سهم می‌برند. درواقع تعداد زیادی از مطالعات، همکاری بین این دو مسیر را نشان داده است.گرچه هنوز مسیر بیوسنتزی کارنوسیک اسید برای رزماری گزارش نشده است (Petrucci *et al*., 2007)اما محققین در تحقیق دیگری اظهار داشته اند که دی ترپن سه حلقه ای Abietane با حلقه‌های کربی آروماتیک و وزن ملکولی ۲۷۰ (Abietane یک دی ترپن است که اساس ساختاری بسیاری از ترکیبات شیمیایی مانند Abietic Acid، Carnosic Acid وFerruginol را تشکیل می‌دهد و به طور کلی به عنوان Abetanes یا Abietan diterpenes شناخته می‌شود) یک حد واسط مناسب در مسیر بیو سنتز کارنوسیک اسید به شمار می‌آید و درواقع گروه‌های کاتکول معمولی با هیدروکسیلاسیون‌های دوتایی روی حلقه‌های کربنی Abietatriene ایجاد می‌شوند(Birtić *et al*., 2015). محققان بیان کردند که محصول عمومی‌حلقه ای شدن ژرانیل ژرانیل دای فسفات (GGDP) توسط ترپن سنتتازهای مولد الفین (هر یک از کلاس‌های زنجیره‌های باز کربنی غیر اشباع مانند اتیلن را الفین می‌گویند) ملکولی است با حجم ملکولی ۲۷۲ بجای ۲۷۰ در نتیجه غیر منطقی به نظر می‌رسد که abietatriene محصول مستقیم این آنزیم‌ها باشد. پژوهشگران بیان کردند که مسیر بیوسنتز کارنوسیک اسید شامل تبدیل GGDP به Copaly diphosphate (CDP) است که به Miltiradien تبدیل می‌شود. Miltiradien دارای یک بخش Cyclohexa-1, 4-diene است که بر روی حلقه‌های دیستال که مناسب برای آروماتیک شدن هستند پیکر بندی مسطح را اعمال می‌کند. همچنین در ریشه مریم گلی نشان داده اند که اتم‌های مرکزی اضافی در اثر یونیزاسیون پیوندهای دی فسفات در CDP و تشکیل کربو کاتیون در حلقه‌های بعدی تولید می‌شوند و این واکنش توسط دسته ی اول ترپن سنتتازها که شامل Kaurene synthase مانندها (KSL) که دارای یک بخش DDXXD در ناحیه

آلفای آنزیم هستند کاتالیز می‌شود. در این مرحله CDP میتواند به انواع دی ترپن‌های چند حلقه ای از جمله کارنوسیک اسید تبدیل شود، این یافته‌ها اخیرا در رزماری هم تائید شده اند. محققان نشان داده اند که RoCPS1 در ترکیب با RoKSl1 یا RoKSL2 از GGDP تولید Miltiradiene می‌کند. عملکرد RoCPS1 و RoKSL1 شناسایی شده و گزارش شده است که این آنزیم‌ها به عنوان کاپلای فسفات سنتتاز (CPS) جدید عمل کرده و در نتیجه کاپلای دای فسفات (CDP) نرمال تولید می‌کنند. محققان در شرایط آزمایشگاهی و غیر آزمایشگاهی نشان دادند که آنزیم CYP76AH1 اکسیداسیون ٤ الکترون منحصر به فرد را روی Miltiradieneکاتالیز می‌کند تا Ferruginol را تولید کند. مشخص شده است که Miltiradiene به طور خود بخودی به Abitatriene تبدیل میشود و CYP در رزماری مشابه CYP76AH4، یک اکسید آروماتیک حدواسط، Abitatriene را با هیدروکسیلاسیون به Ferruginol تبدیل می‌کند. دانشمندان با بیانSmKSL یا با مشارکت بیان $RoCPS_1$ و RoKSL در برگهای تنباکو هم Miltiradiene و هم Abitatriene را شناسایی کردند. با این حال بررسی‌های آزمایشگاهی با KSL تنها منجر به بازیابی Miltiradiene شده است و این یافته‌ها این مفهوم را می‌رساند که Abitatrinene در گیاهان بجای فعالیت آنزیمی آنزیم KSL به صورت خود بخودی تشکیل می‌شود. مطالعاتی بر روی مسیر بیو سنتز Labdaneهای دی ترپن مانند به ترتیب در ریشه و برگهای گیاه رزماری و مریم گلی انجام شده است. از این رو به نظر می‌رسد گیاهان از دو جنس خانواده نعناعیان حداقل در مراحل اولیه ی مسیر بیوسنتز Labdaneهای دی ترپن مانند در ریشه و برگ‌ها مشترک هستند. شباهت‌های بین آنزیم‌های CYP و همچنین بین دو آنزیم SmKSL و RokSLs در رزماری و مریم گلی به شبا هت‌های مرفولوژیکی بین این دو جنس اضافه شده است و این سوال به صورت جدی تقویت شده است که آیا رزماری و مریم گلی باید در دو جنس جدا باقی بمانند (Kim *et al.*, 2011)



شکل ۷ : مسیر بیو سنتز کارنوسیک اسید

مروری بر کاربردهای کارنوسیک اسید

مطالعات اخیر حول محور کاربردهای کارنوسیک‌اسید در شرایط آزمایشگاهی نشان داده است که کارنوسیک اسید می‌تواند با فعال کردن ژن‌های eap1/Nrf2/Are در مسیرهای بیو سنتزی از مرگ سلول‌های عصبی در اثر اکسیداسیون جلوگیری کند و در نتیجه در بیماری‌های نوروژنیک موثر باشد . فعالیت آنتی توموری کارنوسیک‌اسید نیز گزارش شده است به طوری که دارای فعالیت فارماکولوژیک

است و از تکثیر سلول‌های لوسمی HL-60 و U937 ایجادکننده سرطان خون حاد جلوگیری می‌کند، همچنین با سرکوب بیان ژن MMPs از مهاجرت سلول‌های ماهیچه‌های آئورت نیز جلوگیری می‌کند(Philibert *et al.,* 2007). در رابطه با خواص ضد ویروسی کارنوسیک اسید نیز می‌توان اشاره کرد که کارنوسیک اسید به عنوان یک آنتی‌اکسیدان طبیعی استفاده شده در شرایط آزمایشگاهی فعایت ضد ویروس HRSV نشان داده است. سازوکار عمل کارنوسیک‌اسید در مقابل این ویروس به این گونه است که با ممانعت کردن از همانندسازی این ویروس مانع از عمل آن می‌شود (Shin *et al.*, 2013) .بیشترین خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره رزماری بخاطر کارنوسیک اسید و کارنوزول می‌باشد، گرچه هنوز این موضوع به صورت کامل تایید نشده است. این سهم بالای کارنوسیک اسید در پاسخ‌های آنتی اکسیدانی عصاره رزماری احتمالا به فراوانی بالای کارنوسیک اسید در مقایسه با دیگر دی ترپن‌های فنلی رزماری مربوط می‌شود.گزارش شده است که فعالیت‌های رادیکال‌های کارنوسیک اسید از مکانیسم آنتی اکسیدان‌های مشابه از جمله a-tocopherol پیروی می‌کند که توسط وجود دو گروه O-phenolic hydroxyl بر روی کربن ۱۱ و۱۲ ایجاد می‌شود(Firuzi *et al.*, 2011). تخریب کارنوسیک اسید در شرایط مختلف از جمله افزایش دما در مقایسه با دیگر ترپن‌های فنلی کمتر است و این توانایی بالای کارنوسیک اسید به مقاومت در برابر حرارت‌های بالا به برتری کارنوسیک اسید در داشتن خاصیت آنتی اکسیدانی بیشتر منجر می‌شود. استفاده گسترده از کارنوسیک اسید برای فعالیت آنتی اکسیدانی بجای آنتی اکسیدان‌های مصنوعی مانند هیدروکسیل تولوئن بوتیله شده (BHT) و انیزول هیدروکسیل بوتیله شده (BHA) در روغن‌های سویا، کلزا وآفتاب گردان راگزارش کرده اند (Augustyniak *et al*., 2010; Pan *et al*., 2011).

نتیجه‌گیری کلی

این تحقیقات در انتها بر اهمیت و ضرورت تحقیق بیشتر در گیاهان دارویی و به ویژه در گیاه رزماری برای شناسایی کامل مواد شیمیایی آنها نظیر کارنوسیک اسید که تاثیرات ارزشمندی در سلامت و تغذیه انسان دارند تاکید دارد. فاصله زیادی باقی مانده است تا به شناسایی وتشخیص کامل فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی و نقش‌های مختلف کارنوسیک اسید از جمله خاصیت آنتی اکسیدانی آن پی برد. خواص مفیدی برای ماده خالص و عصاره گیاهی حاوی کارنوسیک اسید گزارش شده است، که ضرورت مطالعات تکمیلی در حوزه‌های شناسایی، تخلیص و کاربرد را اجتناب ناپذیر می‌کند.

منابع

1) Augustyniak, A., Bartosz, G., Čipak A., Duburs, G., Horáková, L., Łuczaj, W., Majekova, M., Odysseos, A., Rackova L., Skrzydlewska, E., Stefek, M., Štrosová, M., Tirzitis, G., Venskutonis, PR., Viskupicova, J., Vraka, PS., Žarković, N. 2010. Natural and Synthetic Antioxidants: An Updated Overview. Free Radical Research. 44, No. 10: 1216-1262.
2) Barni, MV., Carlini, MJ., Cafferata, EG., Puricelli, L., Moreno, S. 2012. Carnosic Acid Inhibits the Proliferation and Migration Capacity of Human Colorectal Cancer Cells. Oncology reports. 27, No. 4: 1041-1048.

3) Birtić, S., Pierre, D., François-Xavier, PA., Bily, C., Roller, M. 2015. Carnosic Acid. Phytochemistry. 115: 9-19.
4) Bourgaud, F., Gravot, A., Milesi, S., Gontier, E. 2001. Production of Plant Secondary Metabolites: A Historical Perspective. Plant science. 161, No. 5: 839-851.
5) Brieskorn, CH. and Dömling, HJ. 1967. Zum Vorkommen von 5-Hydroxy-7,4′-dimethoxyflavon im Blatt von *Rosmarinus officinalis* L. Archiv der Pharmazie .*300* (12) , 1042-1044.
6) Christen, P. 2000. Tropane Alkaloids: Old Drugs Used in Modern Medicine. Bioactive Natural Products.; 22, 717–749.
7) Del, B., María, J., Juan, L., Julián, C., Obdulio, BG., José, ADR., Ana, O., Karl-Werner, Q., Dieter, G. 2003. Phenolic Diterpenes, Flavones, and Rosmarinic Acid Distribution During the Development of Leaves, Flowers, Stems, and Roots of *Rosmarinus Officinalis*. Antioxidant Activity. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 51, No. 15: 4247-53.
8) Dewick, PM .2002. Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach. Med. Chem. 45, 10, 2120-2120.
9) Firuzi, OL., Miri, R., Tavakkoli, M., Saso, L. 2011. Antioxidant Therapy: Current Status and Future Prospects. Current medicinal chemistry. 18, No. 25: 3871-3888.
10) Fischedick, J., Miranda, TS., Delinda, AJ., Jeffrey, AJ. 2013. Structure Activity Relationship of Phenolic Diterpenes from *Salvia officinalis* as Activators of the Nuclear Factor E2-Related Factor 2 Pathway. Bioorganic & medicinal chemistry. 21, No. 9: 2618-2622.
11) Halliwell, B. 1994. Free Radicals, Antioxidants, and Human Disease: Curiosity, Cause, or Consequence. The lancet. 344, No. 8924: 721-724.
12) Huang, M. and Chi-Tang, H. 1997. Antitumorigenic Activity of Rosemary. Food Factors for Cancer Prevention. 253-256:
13) Kim, D., Nak-Yun, S., Jeong-Soo, K., Jae-Hun, K., Yeoung-Jung, H., Ju-Woon, L. 2011. Alcohol Metabolizing and Antioxidant Activities of Complex Herbal Extracts from Medicinal Plants. Food Science and Biotechnology. 20 .No. 5: 1337-1345.
14) Pan, M., Tong, SJ., Jun, LP. 2011. Antioxidant Activities of Rapeseed Protein Hydrolysates. Food and Bioprocess Technology. 4, No. 7: 1144-52.
15) Petrucci, R., Paola, A., Lucedio, G., Omidreza, F., Luciano, S., Giancarlo, Ma. 2007. A Spectroelectrochemical and Chemical Study on Oxidation of Hydroxycinnamic Acids in Aprotic Medium. Electrochimica acta. 52, No. 7: 2461-70.
16) Philibert, R., Anup, M., Allan, A., Remi, C., Hans, P., Harinder, S. 2007. Serotonin Transporter Mrna Levels Are Associated with the Methylation of an Upstream Cpg Island. American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics 144, No. 1: 101-105.
17) Shin, H., Myung-Soo, C., Byeol, R., Na-Rae, L., Hye-In, K., Hye-Eun, C., Jun C. 2013. Antiviral Activity of Carnosic Acid against Respiratory Syncytial Virus. Virology journal. 10, No. 1: 303.
18) Tounekti, T., Sergi, M., Vadel, AM., Chaker, C., Habib, Kh. 2010. Influence of Ionic Interactions on Essential Oil and Phenolic Diterpene Composition of Dalmatian Sage (*Salvia Officinalis* L.). Plant Physiology and Biochemistry. 48, No. 10: 813-821.
19) Wenkert, E., Albrecht, F., James, DM. 1965. Chemical Artifacts from the Family Labiatae. The Journal of Organic Chemistry. 30, No. 9: 2931-2934.
20) Wink, M. and Oskar, S. 2010. Molecular Modes of Action of Defensive Secondary Metabolites. Functions and biotechnology of plant secondary metabolites. 39 : 21-161.