



ترکیبات شیمیایی روغن اسانسی گیاه دارویی *Eucalyptus saligna* S. با تکنیک کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی (GC/MS)

محمدباقر پاشازانوسی^۱، مانده حسنی^۲

دانشگاه آزاد اسلامی، واحد چالوس، دانشکده علوم پایه، گروه شیمی، چالوس، ایران
دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ساری، دانشکده علوم پایه، گروه صنایع غذایی، ساری، ایران

تاریخ ثبت اولیه: ۱۳۹۳/۱۱/۶، تاریخ دریافت نسخه اصلاح شده: ۱۳۹۳/۱۲/۸، تاریخ پذیرش قطعی: ۱۳۹۳/۱۲/۲۵

چکیده

در پژوهش حاضر به منظور تعیین ترکیبات موجود در روغن اسانسی یکی از گونه های با ارزش گیاه دارویی اکالیپتوس به نام *Eucalyptus saligna* برگ این گیاه پس از تأیید از باغ کشاورزی مرکز تحقیقات جهاد کشاورزی ساری، از منطقه ساری در بهار سال ۱۳۹۴ جمع آوری گردید. اسانس برگ گیاه پس از خشک شدن در شرایط سایه و بدون رطوبت، در مدت چهار ساعت به روش تقطیر با آب توسط دستگاه کلونجر استخراج و ترکیبات موجود در آن پس از تزریق به دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی (GC/MS) مورد تجزیه و شناسایی قرار گرفت. از ۵۷ ترکیب شناسایی شده در روغن اسانسی برگ گیاه که ۹۵/۲۰ درصد کل اسانس را شامل شد، به ترتیب ۸-ا-سینئول (۲۹/۲۱ درصد)، ارتو-سیمن (۲۳/۹۱ درصد)، اسپاتونول (۱۰/۹۵ درصد)، آلفا-پینن (۳/۴۳ درصد)، آرومادندرن (۳/۰۹ درصد) و کریپتون (۲/۹۱ درصد) به عنوان اصلی ترین و بیشترین ترکیبات موجود در اسانس برگ گیاه بودند.
واژه های کلیدی: گیاه دارویی اکالیپتوس، اسانس، ترکیبات شیمیایی، تقطیر با آب.

۱. مقدمه

جنس اکالیپتوس با بیش از ۷۰۰ گونه به خانواده Mirtaceae و دارای منشأ استرالیایی است. ولی در حدود ۳۵ سال است که آزمایش گونه های مختلف آن در ایران توسط ارگان های اجرایی آغاز شده است [۳]. در ختان اکالیپتوس که گاه ارتفاع آنها به ۱۰۰ متر رسیده، دارای چوب

*مهدهدار مکاتبات: محمدباقر پاشازانوسی

نشانی: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد چالوس، گروه شیمی، چالوس، ایران

پست الکترونیک: mpashazanousi@yahoo.com: E-mail:

تلفن: ۰۹۱۱۳۹۴۲۷۰۱

سخت و با دوام هستند. اسانس آنها بی رنگ یا زرد روشن مایل به قرمز دارای بوی بسیار شدید، خنک و سوزاننده و به شدت فرار است، که به وسیله ی انواع روش های ویژه ی تقطیر استخراج می گردد. به طوری که مهم ترین کشورهای تولید کننده اسانس او کالیپتوس، استرالیا، اسپانیا و پرتغال هستند [۲]. ماده شیمیایی مهم اکالیپتوس اسانس آن است که میزان اسانس در برگ های *E. Saligna* در حدود ۶ درصد است. حدود ۷۰ درصد اسانس از ماده ای به نام یو کالیپتول تشکیل شده که به آن سینئول یا کاژه پوتول نیز گفته می شود. به علاوه در برگ های آن یک ماده تلخ تانن، فلاونوئید و رزین هم یافت می شود. مهم ترین ترکیب شیمیایی اکالیپتوس که مصرف دارویی دارد یو کالیپتول یا او ۱- سینئول است. این ماده یک نوع الکل است که در اسانس بعضی از گیاهان به خصوص در اسانس اکالیپتوس، مل، کافور، برگ بو، مورد و لاواند وجود دارد. اکالیپتول مایعی است بی رنگ یا کمی زرد رنگ که در ۱۷۶ درجه سانتیگراد جوش می آید [۱۲]. اسانس های تهیه شده از گونه های اکالیپتوس جزو بهترین اسانس های تجارت جهانی می باشند. این اسانس سالیان زیادی است که به عنوان یک عامل ضد باکتری، ضد قارچی و ضد عفونی کننده در طبیعت معروف است. اسانس او کالیپتوس نسبت به اسانس دیگر درختان، کیفیت بالاتری دارد. علاوه بر این برای درخت در طبیعت، اسانس های اکالیپتوسی، خاصیت آلوپاتیکی یعنی ایجاد سیستم دفاعی در مقابل حشرات گیاه خوار به وجود می آورد. سازمان غذایی و دارویی ایالات متحده آمریکا اسانس او کالیپتوس و کل ترکیبات گیاهی را در زمره محصولات به طور کلی امن و غیر سمی قرار داده است [۵]. حتی اتحادیه اروپا استفاده از اسانس اکالیپتوس را به عنوان یک چاشنی در غذا، آب و شیرینی ها تایید کرده است. همچنین غلظت های پایین اسانس اکالیپتوس به طور وسیعی در تهیه صابون، عطر و مواد شوینده استفاده می شود. هر ساله ۳ تا ۵ هزار تن اسانس اکالیپتوس در مراکز تجاری بین الملل داد و ستد می شود. که ۲/۳ تن آن در استرالیا تولید می شود. از زمانی که اثرات زیستی اسانس های اکالیپتوس شناخته شده و به عنوان ترکیبات سالم مورد توجه قرار گرفت، برای تجارتهای کردن آنها و عرضه حشره کش ها و محصولات دور کننده بر پایه آنها و دیگر ترکیبات وابسته تلاش های زیادی شده است. اسانس های اکالیپتوس در ابتدا در ایالات متحده در سال ۱۹۴۸ بعنوان حشره کش و کنه کش ثبت شدند. تا سال ۲۰۰۷ حدود ۲۹ ترکیب مشابه دیگر در آمریکا به عنوان حشره کش های طبیعی، دور کننده و ضد باکتری ثبت شدند از اینها چهار محصول همچنان استفاده شده و ۲۵ ترکیب دیگر همچنان منسوخ شده اند [۱۳]. اکالیپتوس در مونوگراف کمیسیون سازمان بهداشت جهانی دارای درجه ۲ درمانی و در مونوگراف متخصصین گیاهان دارویی اروپا دارای درجه ۶ درمانی بوده که به دلیل داشتن مونوترپن های فراوان دارای خاصیت ضد التهاب، خلط آور، درمان سرماخوردگی عمومی، گرفتگی بینی، بیماری برونشیتی، تحریک ترشح، ادرار آور، ضدقند، ضدتومور و روغن گیاه به صورت استعمال خارجی به عنوان یک داروی ضد تحریک بوده و سبب تسکین و التیام رماتیسم و ناراحتی های جزئی پوستی می گردد [۶-۲]. همچنین در پژوهشی که در سال ۲۰۰۲ بر روی اسانس های استخراج شده از برخی گونه های او کالیپتوس از جمله *E. Saligna* انجام گردید، نتایج نشان داد که در حدود ۱۰ تا ۱۸ میلیمتر از رشد قطری باکتری *Pseudomonas aeruginosa* جلوگیری شده است [۱۰].

با توجه به موارد فوق، ضرورت تحقیق حاضر با عنوان، اندازه گیری ترکیبات روغن اسانسی او کالیپتوس *E. saligna* با تکنیک کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی (GC/MS) محسوس بوده، تا این که، در صورت بالا بودن مقدار سینئول یا یو کالیپتول برای کشت در جهت مصارف درمانی و صنعتی، معرفی و مورد استفاده قرار گیرد.

۲. مواد و روش ها

الف) جمع آوری گیاه و اسانس گیری

در این تحقیق برگ گیاه اوکالیپتوس گونه *E. saligna*، پس از تأیید از باغ کشاورزی مرکز تحقیقات جهاد کشاورزی ساری، از شهرستان ساری در بهار ۱۳۹۴ جمع آوری و تحت شرایط سایه و بدون رطوبت خشک گردید. سپس نمونه ها به قطعات کوچک خرد شده و ۱۰۰ گرم از آن به روش تقطیر با آب و با استفاده از دستگاه کلونجر طرح فارماکوپه بریتانیا به مدت سه ساعت اسانس گیری شد. اسانس بدست آمده توسط سدیم سولفات بی آب، رطوبت زدایی و در یک ظرف تیره و در بسته تا زمان آنالیز در یخچال و در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شد. همچنین بازده اسانس بر اساس وزن خشک گیاه ۱/۱۵ محاسبه شد.

ب) شناسایی ترکیب های تشکیل دهنده اسانس

برای شناسایی ترکیب های موجود در اسانس از دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنجی جرمی (GC/MS) استفاده شد. پس از تزریق اسانس به دستگاه فوق، با استفاده از زمان بازداری ترکیب ها (TR)، شاخصی بازداری کواتس (KI) و طیف جرمی و هم چنین مقایسه این مولفه ها با ترکیب های استاندارد و یا با اطلاعات موجود در کتابخانه دستگاه نسبت به شناسایی ترکیب های تشکیل دهنده اسانس اقدام گردید. درصد کمی این ترکیب ها با محاسبه سطوح زیرمنحنی در کروماتوگرام ها محاسبه شد.

۲-۱. مشخصات دستگاههای مورد استفاده

الف- کروماتوگرافی گازی (GC)

از دستگاه کروماتوگراف گازی شیمادزو (Shimadzu) مدل GC-9A مجهز به دکتور F.I.D (یونیزاسیون با شعله هیدروژن) و ستون DB-1، به طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میلی متر و ضخامت لایه نازک فاز ساکن ۰/۲۵ میکرون استفاده گردید. برنامه ریزی حرارتی ستون از ۶۰ °C تا ۱۹۰ °C با سرعت ۵ درجه سانتی گراد بر دقیقه و از ۱۹۰ °C تا ۲۵۰ °C با سرعت ۱۵ درجه سانتی گراد بر دقیقه افزایش یافته و از گاز هلیوم با سرعت ۱/۱ میلی لیتر بر دقیقه به عنوان گاز حامل استفاده شد.

ب- کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی (GC-MS)

از کروماتوگراف گازی Thermo quest- finnigan مدل Trace متصل به طیف سنج جرمی مجهز به ستون DB-1 بطول ۳۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میلی متر و ضخامت لایه نازک فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر استفاده شد. برنامه ریزی حرارتی ستون شبیه برنامه ریزی ستون در دستگاه GC بوده و از گاز هلیوم با سرعت ۱/۱ میلی لیتر بر دقیقه بعنوان گاز حامل استفاده شد. زمان اسکن برابر یک ثانیه و انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت بوده است.

۳. نتایج و تجزیه تحلیل داده ها

کروماتوگرام اسانس بر روی ستون DB-1 در شکل های ۱ نشان داده شده است. راندمان اسانس استخراج شده برای برگ گیاه اوکالیپتوس گونه *E. Saligna* که در فصل بهار ۱۳۹۴ جمع آوری شده، به میزان ۱/۱۵ بر اساس وزن خشک گیاه به دست آمده است.

ترکیب های شناسایی شده در اسانس گیاه اکالیپتوس گونه *E.Saligna* جمع آوری شده از منطقه ساری، شمال ایران، به همراه شاخص های بازداری کواتس آنها و نیز درصد هر یک از ترکیبات درجداول شماره ۱ نشان داده شده است. بر اساس جدول شماره ۱، در روغن اسانسی برگ گیاه ۵۷، ترکیب شناسایی شده که ۹۵/۲۰ درصد کل اسانس را تشکیل می دهند. ترکیبات اصلی این اسانس، به ترتیب ۸- سینئول یا اوکالیپتول (۲۹/۲۱ درصد)، ارتو- سیمن (۲۳/۹۱ درصد)، اسپاتونول (۱۰/۹۵ درصد)، آلفا-پینن (۳/۴۳ درصد)، آرومادندرن (۳/۰۹ درصد) و کریپتون (۲/۹۱ درصد) مورد شناسایی قرار گرفت. این روغن اسانسی شامل ۳۰/۱۸ درصد منوترپن های هیدروکربنی، ۴۳/۱۲ درصد منوترپن های اکسیژن دار، ۴/۶۹ درصد سزکوئی ترین های هیدروکربنی و ۱۷/۲۱ درصد سزکوئی ترین های اکسیژن دار بوده است. ترکیب های شناسایی شده در اسانس نشان می دهد که ۸- سینئول یا یوکالیپتول و ارتو- سیمن ترکیبات اصلی و عمده گیاه اکالیپتوس گونه *E.Saligna* هستند. بر اساس تحقیقات انجام شده توسط سایر محققین و تحقیق حاضر می توان این دسته ترکیبات را مهمترین ترکیبات گیاه با ارزش دارویی *E.Saligna* دانست. در پژوهشی دیگر، حضور ترکیباتی نظیر آلفا- پینن، لیمونن، پارا- سیمن و گاما- ترپینن در روغن اسانسی این گیاه، نشان دهنده وجود ترکیبات مشابه و مفید در انواع مختلف گونه های اوکالیپتوس می باشد [۱۱]. همچنین در تحقیق انجام شده بر روی گونه *E.Pelite*، نتایج نشان داد که، ترکیبات آلفا-پینن (۲۷/۱۹ درصد)، لیمونن (۲۳/۸۴ درصد)، ترتیب ۸- سینئول (۱۹/۰۱ درصد)، پارا- سیمن (۷/۶۹ درصد) و آلفا- ترپینئول (۳/۸۶ درصد) به عنوان ترکیبات اصلی تعیین گردیدند [۱۴]. در پژوهشی دیگر بر روی روغن اسانسی برگ *E.globulus*، تعداد ۱۷ ترکیب شناسایی شده که ۸- سینئول با میزان ۷۸/۹ درصد اصلی ترین ترکیب بوده است [۷]. همچنین در روغن اسانسی برگ گونه *E.globulus* در شهرستان نوشهر ترکیب ۸- سینئول به مقدار ۳۹/۵۹٪ به عنوان ترکیب اصلی معرفی گردید [۱]. به طوری که این ترکیب دارای اثر آنتی اکسیدانی و ضد التهابی است. در تهیه شربت اکسپکتورانت و درمان برونشیت مزمن به عنوان بی حس کننده موضعی و ضد عفونی به کار می رود. در اسپری های خانگی، داروهای شست و شو نیز به کار می رود [۸-۹].

از طرف دیگر، توزیع طبقه بندی شیمیایی ترکیبات روغن اسانسی مندرج در جدول ۱ نشان می دهد که گونه *E.Saligna* غنی از منوترپن ها بوده، به طوری که، ۷۳/۳۰ درصد ترکیبات موجود در برگ را شامل می شود. که از این مقدار، ۳۰/۱۸ درصد حاوی منوترپن های هیدروکربنی و ۴۳/۱۲ درصد شامل منوترپن های اکسیژن دار است. این نتایج نشان دهنده کاربرد وسیع اسانس این گونه دارویی با ارزش در صنایع مختلف می باشد.

۴. نتیجه گیری

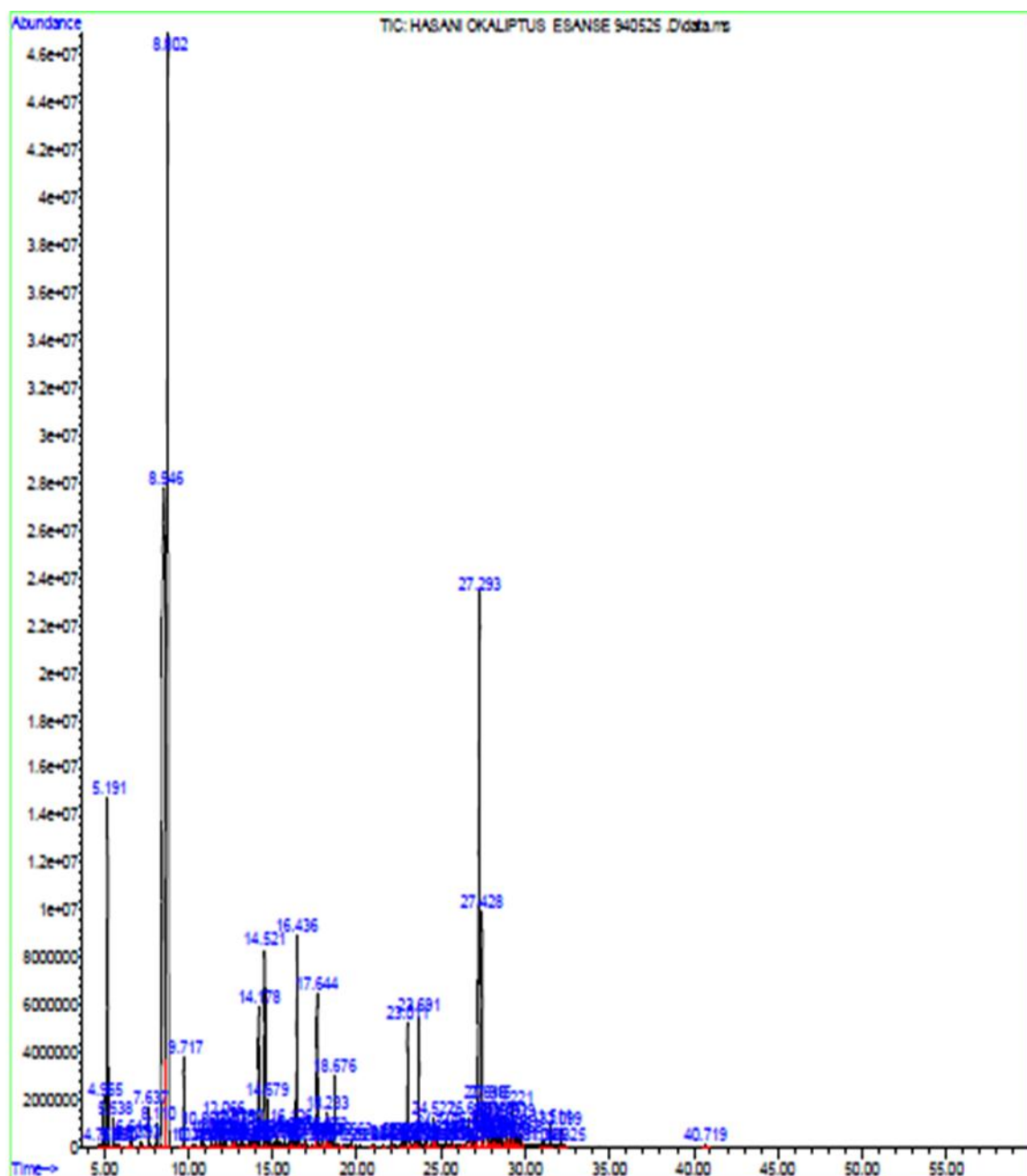
نتایج تحقیق حاضر نشان می دهد که، تمامی گونه های اوکالیپتوس و به ویژه گونه *E.Saligna* سرشار از ترکیبات منوترپنی بوده، به طوری که ۷۳/۳۰ درصد ترکیبات موجود در اسانس را منوترپن های هیدروکربنی و منوترپن های اکسیژن تشکیل می دهند. همچنین ترکیب ۸- سینئول به عنوان بیشترین و مهمترین ترکیب این گیاه بوده که کاربرد وسیعی در صنایع داروسازی، آرایشی و بهداشتی و کشاورزی دارد.

جدول ۱. ترکیبات شیمیایی روغن اسانسی برگ گیاه اوکالیپتوس گونه

Compounds	TR(min)	KI	%Content
α - Thujene	4.969	930	0.50
α - Pinene	50190	939	3.43
Camphene	5.654	954	0.04
Verbenene	5.853	968	0.04
Sabinene	6.527	975	0.05
- pinene β	6.616	979	0.11
-Phellandrene β	7.191	1001	0.10
-Phellandrene α	7.633	1003	0.51
-Terpinene α	8.108	1017	0.40
o-Cymene	8.551	1026	23.91
1,8-Cineole or Eucalyptol	8.805	1031	29.21
-Terpinene β	9.722	1060	0.86
p-Cymene	10.861	1091	0.33
Linalool	11.337	1097	0.14
Isopentyl isovalerate	11.580	1103	0.12
-Thujene α	11.878	1105	0.13
Menth-2-en-1-ol	12.066	1122	0.38
-Campholenal α	12.243	1126	0.09
trans-Pinocarveone	12.674	1139	0.23
Terpineol β - cis-	12.752	1144	0.25
Camphorl	13.150	1146	0.25
Pinocarvone	13.581	1165	0.1
Borneol	13.713	1169	0.04
cis-pinocamphone	13.957	1175	0.08
4-Terpineol	14.178	1177	1.66
Cryptone	14.520	1186	2.91
-terpineol α	14.675	1189	0.55
cis-Piperitol	14.841	1196	0.15
trans-Carveol	15.703	1217	0.28
cis-Carvacrol	16.024	1229	0.14
Cuminal	16.433	1242	2.77
Carvotanacetone	16.577	1247	0.08
Piperitone	16.919	1253	0.11
Phellandral	17.649	1276	0.182
Thymol	18.169	1290	0.11
p- cymen γ ol	18.379	1291	0.50

ادامه جدول ۱. ترکیبات شیمیایی روغن اسانسی برگ اوکالیپتوس گونه

Compounds	TR(min)	KI	%Content
Carveol	18.467	1299	0.15
Thymol acetate	18.677	1352	0.87
-Cubenene α	21.010	1388	0.04
-Gurjunene α	22.082	1410	0.05
Aromadendrene	23.685	1441	3.09
Aromadendrene<allo->	24.459	1460	0.08
d-Germacrene	24.747	1485	0.23
β -Selinene	25.322	1490	0.07
Viridiflorene	26.648	1497	0.62
Bicyclogermacrene	26.781	1500	0.13
Amorphene (delta)	26.858	1512	0.28
Spathulenol	27.289	1578	10.95
Globulol	27.433	1585	2.84
Viridiflorol	27.610	1593	0.70
Cubenol	27.920	1619	0.65
Cedranol	28.107	1674	0.34
5-neo- Cedranol	28.295	1685	0.23
Caryophyllene acetate	28.638	1701	0.19
iso-Spathulenol	28.914	1734	0.32
Curcumen-15-al	29.224	1713	0.56
8-Curcumen-15-al	29.335	1768	0.40
Total			95.201
Group components			
Monoterpene hydrocarbons			30.18
Oxygenated monoterpenes			43.12
Sesquiterpene hydrocarbons			4.69
Oxygenated Sesquiterpenes			17.21
Extraction time (min)			180
Yield (% ,w/w-dry basis)			1.15



شکل ۱. کروماتوگرام روغن اسانسی برگ گیاه اوکالیپتوس گونه *E.Saligna*

۵. مراجع

- [۱] م. ب. پاشا زانوسی، س. م. حجازی و س. دلفانیان، اندازه گیری ترکیبات روغن اسانسی *Eucalyptus globulus subsp* با تکنیک کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی (GC/MS)، مجله شیمی کوانتومی و اسپکتروسکوپی، ۳۳ (۱۳۹۲).
- [۲] کک، جوانشیر و ا، مصدق، اکالیپتوس، انتشارات دانشگاه تهران، تهران، ۱۲۸-۱۱۹ (۱۳۵۱).
- [۳] م، ح، عصاره و ح، سردابی، اکالیپتوس، انتشارات موسسه تحقیقات جنگل های و مراتع کشور، تهران، ۶۷۲ (۱۳۸۶).
- [۴] ب، محمودی، اکالیپتوس، آشنایی با اسانس های معطر گیاهی و اثرات شفابخش آنها، آروماتراپی، انتشارات نور دانش، تهران، وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی، ۲۷۶ (۱۳۸۸).

- [۵] وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی، دارونامه رسمی داروهای گیاهی ایران. اداره کل نظارت بر دارو و مواد مخدر، (۱۳۸۸).
- [۶] م، صفایی خرم، س، جعفرنیا و س، خسروشاهی، مهمترین گیاهان دارویی، مجتمع آموزش کشاورزی سبز ایران، تهران، ۱۱۴ (۱۳۸۸).
- [7] G. Milhau, Y. Pelissier and J.M. Bessiere, Invitro antimalarial activity of eight essential oils. *Journal of Essential oil Research.*, 9 (1997) 333.
- [8] J. Grrafsmann, S. Hippeli, K. Dornisch, K. Rohnert, N. Beuscher and E.F. Elstner, *Drug Research.*, 50 (2000) 135.
- [9] U.R. Juergens, U. Dethlefsen, G. Steinkamp, A. Gillissen, R. Repges and H. Vetter, *Medicine.*, 97 (2003) 250.
- [10] K. Cimanga, K. Kambu, L. Tona, S. Apers, T. De Bruyne, N. Hermans, J. Totte and A.J. Vlietinck, *J. Ethnopharmacol.*, 79 (2002) 213.
- [11] C. Orwa, A. Mutua, R. Kindt, R. Jamnadass, A. Simons, *Agroforestry Tree Database: a tree reference and selection guide.*, 4 (2009) 174.
- [12] j. E. Simon and J. Quinn, Characterization of essential oil of parsley. *J. Agric. Food.*, (1988).
- [13] Y. Takagai and S.h. Igarashi, Bull, *Chem. Soc. Jpn.*, 76 (2003) 1595.
- [14] P. Yaicel Gé, Á. Rolando Quert, T. Yosvel Viera and E. Robinson Herмосilla, *Eucalyptus pellita* F. Muell., 27 (2013) 1979.