

## شناسایی اجزای تشکیل دهنده اسانس از اندام هوایی گیاه روناس صخره زی (*florida Rubia*)

اکرم آریان فر<sup>۱\*</sup>، معصومه مهربان سنگ آتش<sup>۲</sup>، سمیه صالح آبادی<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد قوچان، دانشگاه آزاد اسلامی، قوچان، ایران.  
<sup>۲</sup> استادیار گروه پژوهشی کیفیت و ایمنی مواد غذایی، پژوهشکده علوم و فناوری مواد غذایی جهاد دانشگاهی، مشهد، ایران.  
<sup>۳</sup> گروه علوم و صنایع غذایی، واحد قوچان، دانشگاه آزاد اسلامی، قوچان، ایران.  
<sup>۴</sup> نویسنده مسئول: باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد قوچان، دانشگاه آزاد اسلامی، قوچان، ایران.  
پست الکترونیک: a\_aria\_1443@yahoo.com

### چکیده

**زمینه و هدف:** گیاه چند ساله روناس با نام علمی *Rubia florida*، گیاهی عمدتاً صنعتی است که در زمان گذشته در صنعت رنگرزی مورد استفاده قرار می گرفته است. هدف از این تحقیق بررسی ترکیبات مؤثره اسانس روناس صخره زی، بومی استان خراسان شمالی است تا به شناخته شدن این گیاه کمک نماید و راه را برای تحقیقات آینده داروسازی و کاربردی جهت درمان هموار سازد.

**مواد و روش کار:** اندام هوایی گیاه روناس صخره زی پس از جمع آوری و خشک شدن در دمای محیط با روش تقطیر با بخار آب و با استفاده از دستگاه شیشه ای کلونجر، اسانس گیری شد. اسانس به صورت یک لایه روغنی زرد روشن با بازده ۰/۰۳۱ درصد بدست آمد. ترکیب های موجود در اسانس با دستگاه گاز کروماتوگراف متصل شده به طیف سنج جرمی (GC/MS) مورد بررسی قرار گرفت. شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس با استفاده از شاخص های بازداری و بررسی طیفهای جرمی ترکیبات و مقایسه آنها با طیف های جرمی استاندارد موجود در کتابخانه های کامپیوتری و مراجع معتبر صورت گرفت.

**یافته ها:** بازده اسانس اندام هوایی گیاه روناس صخره زی *Rubia florida* ۰/۰۳۱٪ به دست آمد و ۳۲ ترکیب در اسانس شناسایی گردید. عمده ترین ترکیب های شناسایی شده در اسانس: دکان (۸/۳۸٪)، پالمیتیک اسید (۸/۰۷٪)، اکتان (۶/۵۵٪)، پالمیتیک اسید، متیل استر (۵/۱۱٪)، لینولئیک اسید، اتیل استر (۵/۵۳٪) بودند.

**نتیجه گیری:** محققین خاصیت ضد سرطانی و آنتی اکسیدانی و درمان و پیشگیری آلرژی غذایی را در ایزومر سیس و ترانس اسید لینولئیک به اثبات رساندند. با توجه به ترکیب درصد ها می توان چنین نتیجه گیری نمود که ۵۲/۱۲٪ از کل اسانس گیاه روناس صخره زی را ترکیبات آنتی اکسیدانی تشکیل می دهد.

**واژه های کلیدی:** *Rubia florida*، اسانس، GC-MASS، پالمیتیک اسید، لینولئیک اسید

## مقدمه

گیاه چند ساله روناس با نام علمی *Rubia florida* گیاهی عمدتاً صنعتی است که در زمان گذشته در صنعت رنگرزی مورد استفاده قرار می‌گرفته است [۱]. همچنین این گیاه دارای ویژگی‌های دارویی (ضد سرطان و نقرس) است. روناس گیاهی بسیار مقاوم در برابر شوری و گرما بوده و در این مناطق رشد بسیار خوبی دارد. بیشتر جنس‌ها و گونه‌ها در مناطق استوایی و نیمه استوایی و معدودی در مناطق معتدله سرد یافت می‌شوند [۲]. تیره روبیاسه که روناس به آن تعلق دارد نزدیک به ۴۶۰ جنس و ۷۰۰ گونه است که ۱۶ جنس و حدود ۱۰۰ گونه از اعضای این خانواده در ایران انتشار دارند که از جنس‌های مهم این خانواده می‌توان روبیا (با ۱۳ گونه)، اسپرولا (با ۱۴ گونه)، گالیوم (با ۴۰ گونه)، کورکانیلا (با ۷ گونه)، نگالونیا (با ۶ گونه) را نام برد. پراکنش این گیاه در ایران شامل نواحی غربی کشور، اراک، تبریز، دیلمان، خوی، ارومیه، آذربایجان، کرمان، بلوچستان، یزد، اردکان و همچنین اطراف دماوند است [۳]. گیاهانی که در جنس *Rubia* قرار می‌گیرند معمولاً نیمه‌علفی کوتاه یا علفی دائمی و گاهی اوقات بالا رونده‌اند. برگ‌ها در هر حلقه از ۴ تا ۶ عدد و به ندرت ۲ تا ۷ عدد می‌باشد. گل‌ها با آرایش خوشه‌ای محوری و انتهایی با انشعابات متراکم و انبوه دیده می‌شود. کاسه گل تحلیل رفته و فاقد کاسه گل هستند. جام گل ۵ قسمتی و قیفی شکل می‌باشد. رنگ گل کرم یا سبز مایل به زرد بوده میوه معمولاً منفرد و نیمه‌کروی گوشتی سته‌مانند است [۴]. روناس در زبانهای مختلف به عنوان رنگ قرمز شناخته شده، این گیاه در ناراحتی‌های کلیوی و مثانه مورد استفاده قرار گرفته و ضد عفونی کننده و آرامش بخش است [۵]. ترکیبات شیمیایی که در ریشه روناس وجود دارد، شامل گلیکوزیدی به نام روبه ریتریک است که در ریشه گیاه وجود دارد [۶] و یکی از مهمترین عوامل درمانی گیاه است، این ماده در بنزن غیر محلول، اما در آب و آب آهک محلول است [۷]. از مواد دیگر می‌توان آلیزارین، پورپورین، روبیادین، گلوکز، مواد پکتیکی، مشتقات آنتراکینونی، رزینی و مواد چرب را نام برد [۶، ۷]. پژوهش‌ها در زمینه سنتز رنگها نشان داده است که ریشه روناس

حاوی گلیکوزید آنتراسنیک است که الیزارین، ماده رنگی اصلی در ریشه روناس، قابل تجزیه می‌باشد و یک ماده رنگ کننده قوی است که از زمان‌های قدیم برای ساختن رنگ و جوهر مورد استفاده قرار می‌گرفته است [۸]. قنوان<sup>۱</sup> و همکاران (۱۹۹۴) در بررسی اثرات محافظت کبدی اسانس *Rubia cordifolia* دریافتند که دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ mg/kg این اسانس به صورت خوراکی، قدرت حفاظت از کبد را در برابر آسیب‌های هپاتیک CC14 دارد [۹].

پندی<sup>۲</sup> و همکاران (۱۹۹۴)، دریافتند که عصاره الکلی *Rubia cordifolia* علاوه بر اثرات ضد التهابی مانع از پراکسیداسیون چربی‌ها شده و از تشکیل پراکسید در کبد موش جلوگیری می‌کند [۱۰].

یکی از بهترین منابع آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی ترکیبات فنلی موجود در اسانس‌های گیاهی است. اسانس گیاهی در صنایع مختلف از جمله صنایع غذایی، داروسازی و بهداشتی استفاده می‌شوند. امروزه فعالیت‌های بیولوژیکی اسانس‌ها از جمله خاصیت آنتی‌اکسیدانی آنها بیش از پیش توجه محققین را به خود جلب کرده است [۷]. اسانس‌ها به روش‌های مختلفی همچون تقطیر با آب، تقطیر با آب و بخار، تقطیر با بخار یا فشردن سرد (Cold press) به دست می‌آیند. در بین این روش‌ها تقطیر با بخار و تقطیر با آب و بخار به نحو گسترده‌ای به عنوان روش تولید تجاری اسانس‌ها پذیرفته شده‌اند. تقریباً ۹۰٪ اسانس‌ها با این روش استخراج می‌شوند [۱۱]. در این مطالعه، ترکیبات شیمیایی موجود در اسانس گیاه روناس صخره‌زی توسط کروماتوگرافی گازی (GC) و کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی (GC/MS) مورد بررسی قرار گرفته است.

## روش کار

جمع‌آوری گیاه و استخراج اسانس: اندام هوایی گیاه *Rubia florida* در اواخر اردیبهشت ماه از روستای حسین‌آباد از توابع شهرستان شیروان واقع در استان خراسان شمالی جمع‌آوری شد. نمونه گیاه در محیط آزمایشگاه و در سایه در دمای ۲۰ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد

1-Quan

2-Pandy

خشک شد. ۳۲۰ گرم اندام هوایی گیاه خشک شده، به روش تقطیر با آب و با استفاده از دستگاه ای کلونجر، اسانس گیری شد [۱۲]. در هر مرحله اسانس گیری، ۴۰ گرم از گیاه خشک آسیاب شده، با یک لیتر آب مخلوط شده و با دستگاه کلونجر اسانس گیری شد. لازم به ذکر است که اسانس گیری سه بار تکرار شد. به اسانس جمع شده نرمال هگزان اضافه کرده تا با افزایش حجم براحتی از دستگاه خارج شود. با افزودن سولفات سدیم جهت حذف رطوبت تا زمان تزریق به دستگاه، در شیشه تیره در یخچال نگهداری شد. سپس نمونه جهت شناسایی ترکیبات و تهیه طیف های GC و GC/MS از اسانس و شناسایی اجزای تشکیل دهنده آن آماده شد [۱۳، ۱۴].

شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس: پس از تزریق اسانس ها به دستگاه گاز کروماتوگراف (GC) و یافتن مناسب ترین برنامه ریزی حرارتی ستون، جهت دستیابی به بهترین جداسازی، اسانس های حاصله با هگزان نرمال، رقیق و به دستگاه گاز کروماتوگراف کوپل شده با طیف سنج جرمی GC/MS تزریق و طیف های جرمی و کروماتوگرام های مربوط به دست آمد. سپس با استفاده از زمان بازداری، شاخص بازداری کواتس، مطالعه طیف های جرمی و مقایسه با ترکیبات تشکیل دهنده اسانس ها مورد شناسایی کمی و کیفی قرار گرفت.

مشخصات دستگاه های مورد استفاده:

دستگاه GC: گاز کروماتوگراف شیمادزو مدل (shimadzu-QP2010SE) مجهز به ستون Rtx-5MS (طول ستون ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی متر، ضخامت فاز ثابت ۰/۲۵ میکرومتر) می باشد. برنامه ریزی حرارتی ستون به نحوی بود که دمای ابتدایی آن ۵۰ درجه سانتی گراد و توقف در این مدت ۵ دقیقه و دمای دستگاه ۵ درجه سانتی گراد در هر دقیقه افزایش یافت تا به دمای ۲۶۰ درجه سانتی گراد رسید و سپس به مدت ۱۰ دقیقه در این دما باقی ماند. از گاز هلیوم به عنوان گاز حامل و با سرعت جریان ۰/۹ میلی لیتر بر دقیقه و طیف سنج جرمی با انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت استفاده شد.

دستگاه GC/MS: از گاز کروماتوگراف متصل به طیف سنج جرمی استفاده شد. ستون مورد استفاده از نوع HP-

5 (طول ۳۰m، قطر داخلی ۰/۲۵ μm، ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ mm) است. برنامه ریزی حرارتی ۳۳۰-۴۰ درجه سانتیگراد و زمان اسکن ۰/۵ ثانیه و ناحیه جرمی از ۳۵ تا ۳۰۰، انرژی یونیزاسیون معادل ۷۰eV و با استفاده از گاز هلیوم با سرعت جریان ۱ml/min بوده است.

تجزیه اسانس و شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده: پس از تزریق اسانس ها به دستگاه گاز کروماتوگراف GC و یافتن مناسب ترین برنامه ریزی حرارتی ستون، جهت دستیابی به بهترین جداسازی، اسانس های حاصله با هگزان نرمال رقیق شده و به دستگاه گاز کروماتوگراف کوپل شده با طیف سنج جرمی GC/MS تزریق و طیف های جرمی و کروماتوگرام های مربوط به دست آمد. شناسایی طیف های حاصل با رسم کروماتوگرام یک سری از پارافین های نرمال (C<sub>5</sub>-C<sub>30</sub>) تحت شرایط یکسان با تزریق اسانس ها انجام شد و با توجه به زمان بازداری این ترکیب ها اندیس کوتر برای هر جزء موجود در کروماتوگرام اسانس محاسبه شد. این مقادیر با مقادیر اندیس کوتر موجود در جداول استاندارد مقایسه شد و ترکیب های موجود در اسانس روناس صخره زی بر اساس این داده ها و اطلاعات موجود در کتابخانه GC-MS شناسایی شد.

تعیین بازده استخراج اسانس: در این بررسی درصد بازده استخراج اسانس با فرمول زیر محاسبه گردید: [۱۵].  
اسانس (درصد بازده) = وزن اسانس / (وزن خشک گیاه × 100)

### یافته ها

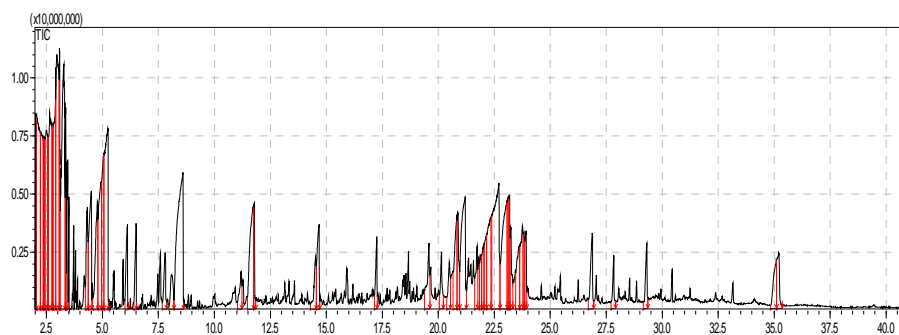
بازده اسانس گیاه روناس صخره زی جمع آوری شده براساس وزن خشک محاسبه گردید. براساس اطلاعات مقدار اسانس ۰/۳۱٪ بود. در دستگاه GC تفکیک ترکیبات تشکیل دهنده اسانس، براساس نقطه جوش می باشد. هرچه وزن مولکولی ترکیب کمتر و فرارتر باشد زودتر از دستگاه خارج می شود و اگر ترکیبی سنگین تر باشد، دیرتر خارج می شود. حلال هگزان نرمال بدلیل فراریت بیشتر، زودتر از دستگاه خارج می شود که بصورت پیک قرمز در دیاگرام مربوطه قابل مشاهده است. ( شکل ۱). بطور کلی در اسانس گیاه روناس صخره زی ( *Rubia florida* ) ۳۲ ترکیب شناسایی شدند. اندیس کواتس، زمان بازداری و درصد ترکیبات تشکیل دهنده اسانس گیاه

جدول ۱: درصد وزنی واندیس کوتاس و زمان بازداری ترکیبات تشکیل دهنده اسانس گیاه روناس صخره زی

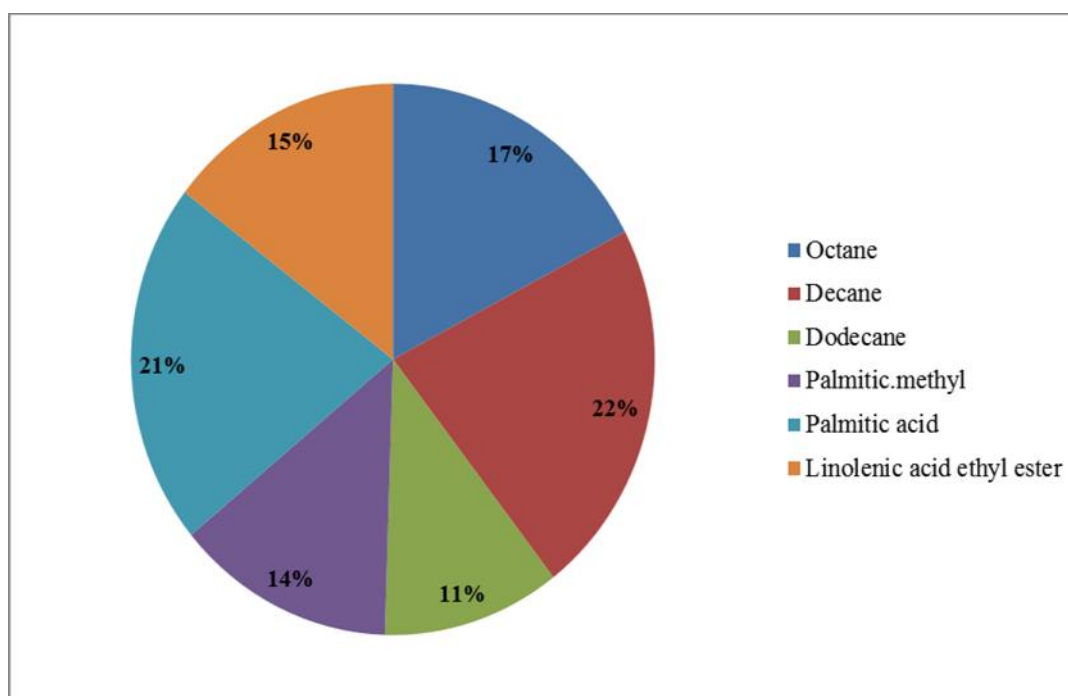
KI	Compound	Area%	R.time
724/1781	trans-1,2-Dimethylcyclopentane	2/08	3/453
783/8356	Toluene	1/8	4/324
796/0959	Heptane,3-methyl	3/17	4/503
811/8132	ethylcycloHexane	2/91	4/775
821/4286	Hexane,2,4-dimethyl	3/96	4/95
827/5824	1-Octanol, 2-methyl	3/41	5/062
837/6923	Octane	6/55	5/246
885/3846	p-Xylene	1/44	6/114
906/8132	o-Xylene	1/13	6/504
977/8571	3-Methylnonane	1/16	7/797
993/7912	Cyclopentane, 1-hexyl-3-methyl	1/08	8/087
1022/594	Decane	8/38	8/592
1176/994	3-methylundecane	0/97	11/19
1210/885	Dodecane	4/15	11/731
1214/033	Dodecane	1/11	11/779
1399/582	Tetradecane	1/24	14/519
1411/25	Tetradecane	1/99	14/678
1609/129	Hexadecane	1/08	17/255
1807/926	Octadecane	1/6	19/586
1859/171	2-PENTADECANON, 6,10,14-TRIMETHYL	1/08	20/142
1891/613	Isobutyl O-phthalate	1/06	20/494
1923/478	Pentadecanoic acid	2/57	20/828
1928/599	Linolenic acid methyl ester	1/5	20/881
1959/71	Palmitic acid, methyl ester	5/11	21/203
2011/515	EICOSANE	1/34	21/734
2028/788	1-OCTADECANOL	0/99	21/905
2037/374	Heptadecanoic acid, methyl ester	0/86	21/99
2054/646	7-Methyl-octadecan-7-ol	1/67	22/161
2072/323	Capric ether	3/34	22/336
2110/265	Palmitic acid	8/07	22/707
2147/725	Linolenic acid ethyl ester	5/53	23/061
2155/661	6,9,12,15-Docosatetraenoic acid	1/76	23/136
2160/847	Ethyl Linoleolate	1/26	23/185
2164/974	PHYTOL	1/5	23/224
2206/961	Docosane	1/72	23/618
652/2222	Docosane	2/21	23/76
177/2228	9,12,15-Octadecatrien-1-ol	1/17	23/81
442/2240	Octadecanoic acid	1/19	23/921
875/2589	Isooctyl phthalate	1/78	26/879
784/2713	HEXACOSANE	0.86	837/27
761/2916	HEXACOSANE	0.9	314/29

جدول ۲: ترکیبات شناسایی شده در اسانس گیاه روناس صخره زی بر اساس نوع ترپن و دارا بودن خاصیت آنتی اکسیدانی

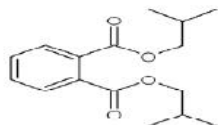
نام ترکیب	مونوترپن هیدروکربنه	مونوترپن اکسیژن	سزکویی ترپن هیدروکربنه	سزکویی ترپن اکسیژن	آنتی اکسیدان
اوکتان					
دکان					
دودکان					
پالمیتیک اسید					
پالمیتیک اسید متیل استر				✓	
لینولئیک اسید متیل استر				✓	
C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub>				✓	
Isobutyl O-phthalate				✓	
(C <sub>15</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub> )Pentadecanoic acid				✓	
Linolenic acid methyl ester				✓	
Palmitic acid, methyl ester				✓	
EICOSANE				✓	
C <sub>20</sub> H <sub>42</sub>				✓	
1-OCTADECANOL				✓	
C <sub>18</sub> H <sub>38</sub> O				✓	
Heptadecanoic acid, methyl ester				✓	
C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>				✓	✓
7-Methyl-octadecan-7-ol				✓	✓
C <sub>19</sub> H <sub>40</sub> O				✓	✓
(Capric ether) C <sub>8</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>		✓		✓	✓
6,9,12,15-Docosatetraenoic acid				✓	✓
Ethyl Linoleolate				✓	✓
Phytol				✓	✓
Docosane			✓		
Isooctyl phthalate				✓	✓
Octadecanoic acid				✓	
9,12,15-Octadecatrien-1-ol				✓	
هگزان، ۲،۴-دی متیل					✓
تری متیل هپتان					✓
تولونن					✓
1,2-Dimethylcyclopentane					✓
1-Octanol, 2-methyl				✓	
3-methylundecane					✓
Octadecane C <sub>18</sub> H <sub>38</sub>					
Tetradecane					
Ethylcyclohexane					✓



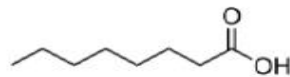
شکل ۱: کروماتوگرام GC-MS اسانس گیاه روناس صخره زی



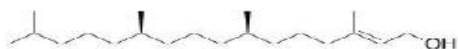
شکل ۲: نمودار ترکیبات عمده موجود در گیاه روناس صخره زی



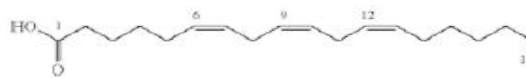
Isobutyl O-phthalate



Capric ether



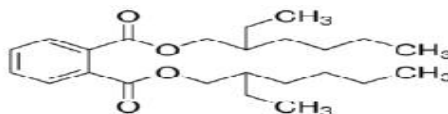
Phytol



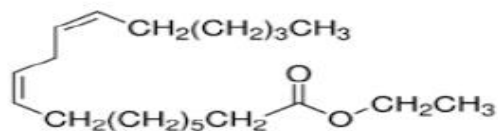
6,9,12,15-Docosatetraenoic acid



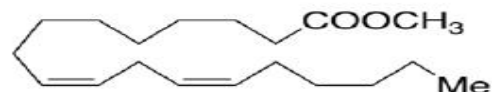
7-Methyl-octadecan-7-ol



Isooctyl phthalate



Ethyl Linoleolate



Linolenic acid methyl ester

شکل ۳: ساختمان شیمیایی ترکیبات دارای خاصیت آنتی اکسیدانی گیاه روناس صخره زی (۲۱ و ۲۳)

روناس صخره زی در جدول ۱ آورده شده است. همان‌طور که ملاحظه می‌شود درصد ترکیبات اسید لینولئیک و اسید پالمیتیک بیشترین اسیدهای چرب غیر اشباع و اشباع موجود در اسانس بودند. ضمن اینکه پالمیتک اسید (۸/۸۰۷٪) و لینولئیک اسید متیل استر (۵/۱۱٪) در این میان بعنوان ترکیبات فرار شناخته می‌شوند، زیرا در دمای بالاتر از ۵۰ تا ۶۰ درجه سانتی‌گراد بسیار سریع اکسید و پلیمریزه شده و به رزین تبدیل می‌شوند [۱۶]. همچنین این ترکیبات از نوع سزکوئی‌ترین اکسیژنه می‌باشند. در شکل ۲ ترکیباتی که بیشترین درصد را به خود اختصاص دادند، آورده شده است. ترکیبات شناسایی شده در اسانس گیاه روناس صخره زی بر اساس نوع ترپن و دارا بودن خاصیت آنتی‌اکسیدانی بر مبنای ساختار شیمیایی طبقه بندی شدند که در جدول ۲ آورده شده است.

### بحث

اژگن<sup>۱</sup> و همکاران (۲۰۰۳)، در بررسی فعالیت ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی *Rubia Peregrina* دریافتند که عصاره متانولی ریشه و ریزوم این گیاه در غلظت ۰/۲۵٪ دارای ۹۶٪ فعالیت آنتی‌اکسیدانی بوده است. همچنین عصاره‌های اتیل استاتی و کلروفومی آن نیز دارای اثر ضد میکروبی بر استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیا کلی می‌باشد اما اثرات ضد قارچی مشاهده نشده است [۱۷].

با توجه به نتایج بدست آمده، بطور کلی اسانس گیاه روناس صخره زی، شامل (۶ منوترپن هیدروکربنه، ۲ منوترپن اکسیژنه، ۱ سزکوئی‌ترین هیدروکربنه، ۱۴ سزکوئی‌ترین اکسیژنه) می‌باشند.

از نقطه نظر شیمیایی، روغنهای اسانسی، عمدتاً متشکل از لیپیدهای ساده‌ای هستند که ترپن نامیده می‌شوند. ترپنها، مولکولهای آلی نسبتاً کوچکی هستند که تنوع ساختاری گسترده‌ای دارند. تاکنون هزاران ترپن مختلف شناخته شده است. بعضی از آنها هیدروکربن هستند و برخی دیگر در ساختارشان اکسیژن هم دارند. تعدادی از آنها مولکولهای راست زنجیرند و برخی ترکیبات هم دارای یک یا چند حلقه می‌باشند، ترپنهای موجود در اسانسهای گیاهی در داروسازی، عطرسازی و صنایع غذایی کاربرد

دارند [۱۸]. مونوترپن‌ها و سزکوئی‌ترینها عمدتاً در گیاهان یافت می‌شوند، ولی ترپنهای بالاتر، هم در گیاهان و هم در جانوران دیده می‌شوند. به عنوان مثال، میرسن یک مونوترپن است که از اسانس درخت غار *Laurus nobilis* L. استخراج می‌شود. لاترپین در اسانس گشنیز *Coriandrum sativum* و سیرونولول در اسانس شمعدانی *Pelargonum graveolens* یافت می‌شود [۱۹]. در شکل ۳ ساختمان شیمیایی ترکیبات تشکیل دهنده گیاه روناس صخره زی که دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشند آورده شده است. داینس<sup>۲</sup> و همکاران (۲۰۰۳) خاصیت ضد سرطانی و آنتی‌اکسیدانی و درمانی و پیشگیری آلرژی غذایی را در ایزومر سیس و ترانس اسید لینولئیک به اثبات رساندند [۲۰]. میازاوا<sup>۳</sup> و همکاران (۲۰۰۶)، در شناسایی ترکیبات آرومای کلیدی در ریشه خشک شده *Rubia cordifolia* با دستگاه طیف سنج جرمی GC/MS ۴۳۰ ترکیب را در ۹۱/۵٪ روغن شناسایی کردند. مهم‌ترین ترکیبات *Faro* (Eugenol(12/7%)، *mollugin*(17/4%) و *mollugin*(19/6%) و *E.anethole*(10/6%) بود. بیشترین ترکیبات معطر *Eugenol*، *Geraniol* و *Geranyl acetat* بودند.

با توجه به ترکیب درصدها می‌توان چنین نتیجه‌گیری نمود که ۵۲/۱۲٪ از کل اسانس گیاه روناس صخره زی را ترکیبات آنتی‌اکسیدانی تشکیل می‌دهد. این خاصیت با توجه به رزونانس پارامغناطیسی الکترون و حضور حلقه فنولی تعیین شده است. اسید لینولئیک و پلمتیک بیشترین اسیدهای چرب غیر اشباع و اشباع موجود در اسانس بودند. پامتیک اسید (۸/۰۷٪) و لینولئیک اسید متیل استر (۵/۱۱٪) به عنوان ترکیبات فرار شناخته می‌شوند، زیرا در دمای بالاتر از ۵۰ تا ۶۰ درجه سانتی‌گراد بسیار سریع اکسید و پلیمریزه شده و به رزین تبدیل می‌شوند. همچنین این ترکیبات از نوع سزکوئی‌ترین اکسیژنه می‌باشند [۱۱]. میازاوا و همکاران (۲۰۰۶) و همکاران (۲۰۰۷)، در شناسایی و اندازه‌گیری ترکیبات آنتو

2-Daines

3-Miyazawa

1-Ozgen



فنولیک شناسایی شد و قدرت آنتی اکسیدانی آنها مورد ارزیابی قرار گرفت و هیدروکسی آنتراکوئینین مهمترین ترکیب آنتی اکسیدانی در ریشه این گیاه شناسایی شد [۲۵].

### نتیجه گیری

گونه گیاهی روناس صخره زی (*florida Rubia*) گیاهی عمدتا صنعتی است که از گذشته دور در صنعت رنگرزی مورد استفاده قرار می گرفته است. بررسی و شناسایی اسانس اندام هوایی این گونه برای اولین بار در ایران گزارش می شود. بازده اسانس اندام هوایی این گیاه ۰/۰۳۱٪ به دست آمد و عمده ترین ترکیبات آن شامل دکان (۸/۳۸٪)، پالمیتیک اسید (۸/۰۷٪)، اکتان (۶/۵۵٪)، پالمیتیک اسید، متیل استر (۵/۱۱٪)، لینولئیک اسید، اتیل استر (۵/۵۳٪) بودند.

سیانینی درتوت *Rubia Peregrina* دریافتند که مهمترین آنتوسیانین این گیاه سیانیدین-۳-۰-روتینوزید بوده است که به دلیل رنگ جذاب و مقدار فراوان در مناطق مدیترانه ای منبع خوبی به عنوان رنگدانه طبیعی و آنتی اکسیدانی است [۲۱].

ایتوکاوا<sup>۱</sup> و همکاران (۱۹۹۳)، میزان آنتراکینون، نفتوهیدروکینون و دیمرفهای نفتوهیدروکینون و همچنان فعالیت سیتوتوکسیک *Rubia cordifolia* را بررسی کرده و چهار نفتوهیدروکینون و گلیکوزیدهایش و ۱۱ آنتراکینون و گلیکوزیدهایش از ریشه خشک واریته *pratensis* ایزوله کردند که شامل *dihydromollugin*, *2-carbomethoxy-3-(3'-hydroxy)isopentyl-1,4-naphthohydroquinone 4-O-β-glucoside*, *2-methyl-1,3,6-trihydroxy-9,10-anthraquinone 3-O-β-glucoside*, *2-methyl-1,3,6-trihydroxy-9,10-anthraquinone 3-O-(3'-O-acetyl)-α-rhamnosyl (1→2)-β-glucoside*, *2-methyl-1,3,6-trihydroxy-9,10-anthraquinone 3-O-(3',6'-O-diacetyl)-α-rhamnosyl(1→2)-β-glucoside* and *2-methyl-1,3,6-tri-hydroxy-9,10-anthraquinone 3-O-(4',6'-O-diacetyl)-α-rhamnosyl(1→2)-β-glucoside* بودند [۲۲].

تری پاتی<sup>۲</sup> و همکاران (۱۹۹۷)، روبیادین (دی هیدروکسی آنتراکینون) را به عنوان یک آنتی اکسیدان از عصاره الکلی *Rubia cordifolia* استخراج کردند. این ترکیب مانع از تحریک پراکسیداسیون چربی ها شد و خاصیت آنتی اکسیدانی آن بیشتر از EDTA مانیتول و ویتامین E و بنزو کوئینین بود [۲۳].

تری پاتی و همکاران (۱۹۹۸) در مقایسه فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره الکلی *Rubia cordifolia* با روبیادین خالص دریافتند که هر دوی این ترکیبات بسته به دوز به کار رفته مانع از پراکسیداسیون چربی ها شدند [۲۴].

کای<sup>۳</sup> و همکاران (۲۰۰۵)، ترکیبات فنولیک را به روش HPLC و LC.MS در *Rubia cordifolia* شناسایی کردند و هفده هیدروکسی آنتراکوئینین، اسید گالیک و تانن را جداسازی کردند. ۱۴ ترکیب به عنوان ترکیبات

1-Itokawa

2-Tripathi

3 -Cai

## References

1. Rasooli I, A biopreservation approach, Global Science Books, 2007; 1(2): 111-136.
2. Halliwell B, Aeschbach R, Loliger J, Aruoma OI, The characterization of antioxidants, Food Chem, Toxicol 1995; 33: 601-617.
3. Khorsandi F, Banakar MH, Salt Tolerance of *Rubia tinctorum* at Germination Stage, American-Eurasian, J Agric & Environ Sci 2011; 11 (4): 547-550.
4. Abdelhafeez MA, Mohammed Philip H, Coombes Neil R, Crouch Dulcie A, Chemical Constituents from *Fadogia homblei* De Wild (Rubiaceae), International Letters of Chemistry, Physics and Astronomy 2013; 9(2): 116-124.
5. Ranju P, Kundlik G, Ashutosh U, Thirumoorthy N, Antioxidant and free radical scavenging activity of ethanolic extract of the root of *Morinda citrifolia* (Rubiaceae), African Journal of Pharmacy and Pharmacology 2012; 6(5): 278-282
6. Longo L, Scardino A, Vasapollo G, Identification and quantification of anthocyanins in the berries of *Pistacia lentiscus* L, *Phillyrea latifolia* L and *Rubia peregrina* L, Innovative Food Science & Emerging Technologies 2007; 8(3): 360-364.
7. Siddharthan S, Yi-Zhong C, Harold C, Mei S, Systematic evaluation of natural phenolic antioxidants from 133 Indian medicinal plants, Food Chemistry 2007; 102: 938-953.
8. Ghaderi Ghahfarokhi M, Alami M, Sadeghi Mahoonak AR, Azizi MH, Ghorbani M, Effects of phenolic compounds extraction from acorn fruit's (*Quercus branti* var *persica* Lindl.) with different solvents on antioxidant activity in oxidative stability of sunflower oil, Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 2012; 28(1): 59-72.
9. Pandey S, Sharma M, Chaturvedi P, Tripathi YB, Protective effect of *Rubia cordifolia* on lipid peroxide formation in isolated rat liver homogenate, Indian J Exp Biol. 1994.32(3):180-
10. Quan, M.P., Tian, C.R. Hepatoprotective effect of essential oil of *Rubia cordifolia*. Modern Food Science and Technology, 2015. 31(5):12-17
11. Wdavies B, Gas Chromatographic Retention Indices of Monoterpenes and Sesquiterpenes on Methyl Silicone and Carbowax 20 m Phases, J Chromatograph 1990; 503: 1-24.
12. Nadaf M, Halimi M, Mortazavi M, Identification of Nonpolar Chemical Composite *Spartium Janceum* flower growing in Iran by GC-MS, Middle-East J Sci Res 2012; 11 (2): 221-224 [Persian]
13. ChytSaz M, Pergr A, Naseri M, Kamalinezhad M, Bazargan M, Mansouri S, "et al", Essential oil composition and antibacterial effects of the hydro-alcoholic extract and essential oils of (*Ziziphora clinopodioides*: LAM) on selected bacteria, Bimonthly Research Journal of Daneshvar Medicine, Shahed University, 2007.14(68):15-22.
14. Bluma R. V. and Etcheverry M. G., Application of essential oil in maize grain: Impacted of aspergillus section *flavi* growth parameter and aflatoxin accumulation, Food microbiology, 2008 25(2): 324-334.
15. Azarnivand H, Ghavam Arabani M, Sefidkon F and Tavili A, The effect of Ecological characteristic on quality and quantity of the essential oils of *Achillea millefolium* L. subsp *Millefolium*. Iran J Medicin Arom Plant Res. 2010;25:556-571 [ Persian]
16. Hakamaa I, Oksanena A, A spray reagent for the detection of terpene derivatives on thin-layer plates, Journal of Chromatography A 1975; 105: 193-194.
17. Ozgen U, Houghton PJ, Ogundipe Y, Coşkun M, Antioxidant and antimicrobial activities of *Onosma argentatum* and *Rubia peregrina*, Fitoterapia. 2003.74(7-8):682-5
18. Ganzler K, Bati J, Valko K, Effective Sample Preparation Method for Extracting Biologically Active Compounds from Different Matrices by a Microwave Technique, Journal of Chromatography 1990; 520: 257-262.
19. Kaufman AJ, Hayes JM, Strauss H, The abundance of <sup>13</sup>C in marine organic matter and isotopic fractionation in the global biogeochemical cycle of carbon during the past 800 Ma, Chemical Geology 1999; 161: 103-125
20. Daines AM, The synthesis of naturally occurring Vitamin K and analogues, Current Organic Chemistry 2003;7: 1625-1630.

21. Miyazawa M., Kawata j, Identification of the Key Aroma Compounds in Dried Roots of *Rubia cordifolia*, *Journal of Oleo Science*, 2006; 55(1):37-39
22. Itokawa H, Ibraheim ZZ, Qiao YF, Takeya K, Anthraquinones, naphthohydroquinones and naphthohydroquinone dimers from *Rubia cordifolia* and their cytotoxic activity, *Cham Pharm Bull*, 1993; 41(10):1869-72.
23. Tripathi YB, Sharma M, Manickam M, Rubiadin, a new antioxidant from *Rubia cordifolia*, *Indian J Biochem Biophys*, 1997; 34(3):302-6
24. Tripathi YB1, Sharma M, Comparison of the antioxidant action of the alcoholic extract of *Rubia cordifolia* with rubiadin, *Indian J Biochem Biophys*, 1998; 35(5):313-6.
25. Cai Y. , Sun M., Xing J. , Corke H , Antioxidant Phenolic Constituents in Roots of *Rheum officinale* and *Rubia cordifolia* : Structure–Radical Scavenging Activity Relationships, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005; 52(26):7884-90

## Identification of chemical constituents of essential oil from aerial parts of florida Rubia

Arianfar A<sup>1\*</sup>, Mehraban Sang Atash M<sup>2</sup>, Salhe Abadi S<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Young Researchers and Elite Club, Quchan Branch, Islamic Azad University, Quchan, Iran.

<sup>2</sup>Assistant Professor, Food Science and Technology Research Institute, ACECR Mashhad Branch, Mashhad, Iran.

<sup>3</sup>Department of Food Science and Technology, Quchan Branch, Islamic Azad University, Quchan, Iran.

\*Corresponding Author: Young Researchers and Elite Club, Quchan Branch, Islamic Azad University, Quchan, Iran.

Email: a\_aria\_1443@yahoo.com

### Abstract

**Background & Objectives:** *Madder perennial herb or Rubia florida* is an industrial plant which is mainly used as a dye in the past time. The purpose of this study was to investigate the essential active compounds in *Rubia florida* oil. That is native in North Khorasan province and this project paves the way for future pharmaceutical researches and applications.

**Materials and Methods:** Samples were collected and extracted by water distillation method after drying at room temperature. The essential oils yield was %0.031. Components of essential oil were studied with gas chromatography mass spectrometer (GC/MS). Identification of essential oil components was done using a gas chromatography which was connected to a mass spectrometer GC- MASS. Identification of essential constituent compounds was done using the retention indices and mass spectra of compounds and comparing them with standard mass spectra in the computer libraries.

**Results:** The yields of aerial parts of *Rubia florida* was 0.31.0% and 32 compound were identified in essential oil. The major compounds such as Decane (8.38%), Palmitic acid (8.07%), octane (% 6.55), Palmitic acid methyl ester (% 5.11), linoleic acid, ethyl ester (% 5.53) were identified in the essential oil.

**Conclusion:** Researchers demonstrated the antioxidant and anti-cancer activity and prevention of food allergy in the cis and trans isomers of linoleic acid. Due to the composition it was concluded that the 52.12% of extracts of *Rubia florida* had antioxidant compounds.

**Keywords:** *Rubia florida*, essential oil, GC- MASS, Palmitic acid, linoleic acid