DOI: 10.48305/jims.v43.i810.0346

مجله دانشکده پزشکی اصفهان — سال چهل و سوم/شماره‌ی ۸۱۰/هفته‌ی دوم خرداد ۱۴۰۴

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۰/۲۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۱/۱۹ تاریخ چاپ: ۱۴۰۴/۰۳/۱۵

ارزیابی مشخصات جغرافیایی و ساختار تشریحی اکوتیپ‌های مختلف گیاه دارویی وج (*Acorus calamus L.*) و بررسی عملکرد فیتوشیمیایی اسانس و فعالیت بیولوژیکی عصاره‌های استخراج شده از اندام‌های گیاهی رویشگاه‌ها

حامد فتحی[۱و۲]، غلامرضا بخشی خانیکی[۳]، مهدی مقربی منظری[۴]، عباس قلی پور[۵]، محمدعلی ابراهیمی[۶]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: محل رویش گیاهان در اکوتیپ‌ها، تهیه، تحقیق و فرآوری آنها مهم می‌باشد. گیاه وج با نام علمی *Acorus calamus L.* دارای خواص فوق‌العاده‌ای بوده که توسط دانشمندان ایرانی همچون ابوعلی سینا، ذکریا رازی و عقیلی علوی خراسانی تأکید شده است. تهیه، شناسایی و مطالعه بر روی آن به سبب سختی کار و گمان به عدم وجود این گیاه در ایران مغفول مانده و اولین مقاله‌ی جامع و مروری روی وج در ایران توسط نویسندگان همین مطالعه انجام شده است. این مطالعه با هدف انجام آزمایشات گوناگون جهت شناخت بیشتر از وج از نظرخواص و اثرات دارویی اسانس و عصاره‌ی آن صورت پذیرفت.

روش‌ها: پس از مطالعه و بررسی‌های همه جانبه و میدانی از اکوتیپ‌های مختلف گیاه وج در ایران، از ۴ رویشگاه در سطح استان مازندران (رودپشت، گله کلاسفلی و کردخیل (F1)، ارزفون (F2)، پلسک (F3) و الندان–ازنی (F4) تهیه شد. مراحل خشک کردن، شناسایی هرباریومی، آناتومیکی و ریخت‌شناسی، اسانس‌گیری و بررسی عملکرد فیتوشیمیایی آن، تهیه‌ی عصاره‌ها و بررسی فعالیت بیولوژیکی اندام گیاه (هوایی و زیرزمینی) از مناطق مختلف ارزیابی شد.

یافته‌ها: به دنبال یافتن اطلاعات هرباریومی و جغرافیایی گیاه وج و نتایج بررسی مشخصات موفولوژیکی و آناتومیکی اندام‌های آن در این پروژه مقایسه، ارائه و ازنظر گیاه‌شناسی تطبیق داده شد. بازده اسانس در اندام زیرزمینی نسبت به هوایی بیشتر بوده است. مجموع میزان اسانس استخراج شده از اندام زیرزمینی و هوایی در اکوتیپ F4 بیشترین بوده است. در ۴ اکوتیپ، از اسانس‌های اندام‌های زیرزمینی و هوایی به ترتیب، ۴۰۷ پیک (با میانگین ۱۰۱/۷۵) و ۴۴۶ پیک (با میانگین ۱۱۵/۵) گزارش شد که ترکیبات دارویی همچون آسارون، سلین، کامفن و Epishyobunone مشاهده گردید. فعالیت ضد اکسایشی عصاره‌های آبی وج در جمعیت‌های مختلف قابل توجه بوده و بهترین عملکرد مربوط به عصاره‌ی آبی اندام زیرزمینی گیاه در جمعیت F2 با IC50 ۲۲۲/۱۶۱۱ ± ۳/۷۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بوده است.

نتیجه‌گیری: تنوع در زیست بوم و مشخصات منطقه رویش،مهم بوده و بر عملکرد دارویی گیاهان تأثیر دارد. ترکیبات شیمیایی اسانس F2B و F1A عملکرد قوی‌تری داشته و در عصاره، اکوسیستم F2 بهتر بوده است. در مجموع، اندام‌های گیاه دارای اثربخشی و عملکرد خوبی بوده و می‌تواند به عنوان گیاهی دارویی مؤثر و آنتی‌اکسیدان قوی (پیشگیری‌کننده‌ی سرطان) مفید باشد که جا دارد مطالعات دیگر آزمایشگاهی، حیوانی و بالینی انجام شود.

واژگان کلیدی: وج؛ اکوتیپ؛ مشخصات گیاه‌شناسی و جغرافیایی؛ اسانس؛ عملکرد فیتوشیمیایی؛ فعالیت بیولوژیکی

ارجاع: فتحی حامد، بخشی خانیکی غلامرضا، مقربی منظری مهدی، قلی‌پور عباس، ابراهیمی محمدعلی. **ارزیابی مشخصات جغرافیایی و ساختار تشریحی اکوتیپ‌های مختلف گیاه دارویی وج (*Acorus calamus.* L) و بررسی عملکرد فیتوشیمیایی اسانس و فعالیت بیولوژیکی عصاره‌های استخراج شده از اندام‌های گیاهی رویشگاه‌ها.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۴۰۴؛ ۴۳ (۸۱۰): ۳۴۶-۳۶۲.

مقدمه

گیاه خودرو، علفی و چند ساله سوسن صغیر یا وج/ اگیر ترکی/ پرچم شـــیرین (Sweet flag) با نام علمی *Acorus calmus L.* از تیره برگ شمشیریان (Acoraceae)، از گذشته مورد استفاده وشناخت بوده (۱) و در کنار رودخانه‌ها و جریان‌های آب رویش یافته و دارای ریزوم افقی (ســـاقه‌های زیرزمینی) و اســـتوانه‌ای شـــکل، برگ‌های متناوب و دارای

۱- پژوهشگر، مرکز تحقیقات علوم دارویی، پژوهشکده داروهای گیاهی و اختلالات متابولیک، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۲ – دکترای تخصصی زیست‌شناسی گیاهی، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

۳ - استاد، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

۴- استادیار، مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۵- دانشیار، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

۶-. استاد، گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: غلامرضا بخشی خانیکی: استاد، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

Email: Bakhshi@pnu.ac.ir

غلاف، باریک و درازا به طول ۵۰ تا ۶۰ سانتی‌متر و دارای ۲ لبه نسبتاً تیز که طی مدت زمان دو سال به ارتفاع یک متر می‌رسد (۲). رویشگاه گونه وج، آمریکای شمالی و مناطق گرمسیری جنوب شرق آسیا، بنگلادش و هندوستان نیز اعلام شده و در ایران هم مشاهده شده است.

A. calmus L. در فلور چین و سیستماتیک گیاهی سیمپسون گونه‌های آن ذکر شده است (۳). وج، گیاه دارویی سنتی آسیایی بوده و جزء مؤثر آن α-آسارون، فعالیت‌های بیولوژیکی مانند اثرات ضد التهابی و آنتی‌اکسیدانی از خود نشان داده و دارای اثر در مرگ سلولی ناشی از استرس اکسیداتیو و شبکه آندوپلاسمی (ER) بوده و بعنوان یک کاندید پتانسیل درمانی قوی برای بیماری‌های عصبی همچون آلزایمر دارد (۴). بخش‌های گیاه مشتمل بر ریشه، ریزوم و برگ در صنعت و تولید فرآورده‌های کشاورزی، بهداشتی و دارویی مهم بوده و دارای فعالیت‌های بیولوژیکی خوبی به عنوان ضد اسپاسم (در بهبود گر فتگی و درد عضلات) می‌باشد و در درمان بسیاری از بیماری‌ها مانند صرع، ناراحتی‌های روانی، اسهال مزمن و خونی، تب، تومورهای شکمی، ناراحتی‌های کلیوی و کبدی و آرتریت روماتوئید استفاده می‌شود (۵).

روغن استخراج شده از وج سرشار از ترکیبات مهم همچون تانن‌ها، فنول‌ها، آنتی‌اکسیدان‌ها، روغن‌های ضروری و آلکالوئیدها می‌باشد. ترکیبات شیمیایی با اهمیت وج مانند آسارون می‌تواند سطح استیل کولین مغز را، به عنوان عامل مهم در تقویت حافظه، ارتقا دهد. این گیاه در ایران بصورت محدود موجود است. وج، گیاهی تک لپه و از نهان‌دانگان یا گیاهان گلدار (Flowering plants)/ ماگنولیاتباران (Magnoliophyta) می‌باشد. در مجموع و به ویژه در سال‌های اخیر، تحقیقات معدودی روی آن صورت گرفته و اولین مقاله مروری به زبان فارسی در ایران وجهان بر روی گیاه *Acorus calmus L.* به صورت جامع توسط فتحی و همکاران منتشر شد (۶). با اینکه در کتاب‌هایی از دانشمندان بزرگ ایرانی مانند «قانون در طب» ابوعلی سینا (Ibn Sina)، «الحاوی فی‌الطب» اثر محمد زکریای رازی (Zakaria Razi) و «مخزن‌الادویه» اثر محمدحسین عقیلی علوی خراسانی (Seyyed Mohammd Hossein Aghili Khorasani-e Shirazi) از گیاه به نیکی و دارای اثر دارویی یاد شده است (۶).

اهمیت گیاهان دارویی بر کسی پوشیده نیست، شناخت گیاه و مشخصات آن بسیار مهم بوده و برای انجام تحقیقات بعدی در خصوص بررسی اثرات دارویی و تهیه فرآورده، مشخصات مورفولوژیکی و ریخت شناسی، شناخت اندام‌ها و عملکرد عصاره یا اسانس آنها و بررسی در مناطق جغرافیایی مختلف دارای اهمیت می‌باشد (۷، ۸).

واژه‌ی اسانس (Essential oil) در زبان فارسی دارای معادل‌هایی مانند عطرمایه روغن‌های فرار، عصاره و جوهر است (۹). اسانس یک مایع روغنی آبگریز غلیظ حاوی ترکیبات شیمیایی فرار (ترکیبات چندکربنه فرار دارای نقطه جوش تقریباً کم مانند اوکتانل، ترکیبات استری) از گیاهان می باشد که در دماهای معمولی به راحتی تبخیر می شود. عموماً عطرمایه‌ها با استفاده از تقطیر و غالباً با استفاده از بخار، استخراج می‌گردند (۱۰). از اسانس‌ها و فلاونوئیدها در ساخت عطر، شامپو، صابون، مواد آرایشی و خوشبوکننده‌های هوا، مواد بهداشتی و محصولات دیگر و از اسانس خوراکی جهت رنگ و طعم دادن به غذا، نوشیدنی‌ها، افزودن رایحه به محصولات تمیزکننده‌ی خانگی و عود استفاده می‌شود. قابل ذکر است نبایستی عطرمایه‌ها را با عطرها و خوشبوکننده‌ها اشتباه گرفت چراکه، خوشبوکننده‌ها اغلب شیمیایی بوده ولی اسانس‌ها از گیاهان گرفته شده و خاستگاه طبیعی دارند (۱۱، ۱۲).

در خصوص عصاره‌ی گیاهان، عملکرد دارویی و ضد اکسایش‌های گیاهی می‌توان گفت اثرات سودمند موجود در ترکیبات فنولیک به خصوصیت آنتی‌اکسیدانی آنها ارتباط دارد و موجب افزایش ایمنی غذایی و بدن نیز می‌شود (۱۳). رادیکال‌های آزاد مولد بیماری هستند ضد اکسایش‌ها می‌توانند آنها را مهار کنند، روی‌شان اثر گذاشته و به از بین بردن آنها کمک نمایند. لذا در درمان سرطان و به عنوان دارو و ترکیبات ضد سرطان مفید می‌باشند (۱۴) و در بیماری‌های قلبی- عروقی، عفونی، آلزایمر و در بهداشت، تهیه‌ی فرآورده و به عنوان ضد میکروبی دارای اهمیت و کاربرد هستند (۱۵) گیاه وج نیز از جمله این گیاهان و دارای اثرات فوق‌العاده آنتی‌اکسیدانی بوده که می‌توانند تب، برونشیت، سرفه، دستگاه گوارش و درد را درمان کند (۶، ۱۶) لازم به ذکر است توسعه ترکیبات ضداکسایشی، پاداکسَنده‌ها، جدید (که مانع واکنش شیمیایی اکسیداسیون می شوند) با کارآیی بالا و سمیت کم در صنایع دارویی و غذایی از اهمیت بالایی برخوردار می‌باشد (۱۷).

با توجه به اهمیت گیاهان دارویی در محیط زیست و به عنوان دارو و تغذیه (۱۸) و همچنین مواد مؤثره و فرآورده‌های تولید شده از آنها (۱۹) و مطالعات آزمایشگاهی، حیوانی و بالینی صورت گرفته بر روی آن‌ها (۲۰، ۲۱) و همچنین، شناسایی، محل رویش و پراکنش، تهیه و کاربرد آنها (۲۲) از یک سو، و انجام نشدن مطالعات جامع و کاربردی بر روی گیاه وج از سوی دیگر، این مطالعه با هدف بررسی جامع این گیاه از نظر مشخصات و عملکرد اسانس آن در ۴ اکوتیپ متفاوت جغرافیایی و نیز عملکرد بیولوژیکی و دارویی در این جمعیت‌ها و در دو اندام زیرزمینی و هوایی (مجموع ۸ عصاره) صورت پذیرفت.

روش‌ها

قابل ذکر است تصاویر ارائه شده در این مقاله اورجینال (Original)

بوده و توسط نویسندگان تهیه شده است.

(فقط تصاویر ۷ تا ۱۰ که با مراجعه به مناطق توسط نویسندگان و ارائه‌ی مشخصات دقیق و دریافت اطلاعات مکان از گوگل تهیه شده است).

آماده‌سازی نمونه‌ها برای مطالعات و مشخصات میکروسکوپی و بازده گیاهان

برای تهیه‌ی نمونه‌های گیاه وج به رویشگاه‌های طبیعی استان مازندران، گیلان، گلستان، تهران، البرز، قزوین، قم و سمنان مراجعه شد و نهایتاً نمونه‌ها در اکوتیپ‌هایی از استان مازندران تهیه و به شرح زیر نامگذاری گردید:

F1: بخش مرکزی شهرستان ساری (ساری به قائم شهر). F2: بخش کلیجان رستاق (وصل به جنگل‌های شیرگاه و سوادکوه). F3: جاده دودانگه و محدوده سد سلیمان تنگه. F4: بخش چهاردانگه (جاده ساری-کیاسر به سمنان)؛ مشخصات مناطق در ادامه ارائه شده است (۲۳).

تصویری از گیاه وج و تهیه‌ی آن در شکل ۱ آمده است.

شناسایی گیاه به روش تشخیصی انجام شد. سپس گیاهان گردآوری شده به دور از نور مستقیم آفتاب خشک شدند (شکل ۲).نمونه‌های هرباریومی از گیاهان مناطق مختلف با همکاری دانشگاه پیام نور تهران و ساری و دانشگاه علوم پزشکی مازندران، دانشکده داروسازی ساری، تهیه شد (۲۴).

ابتدا، برش عرضی از اندام گیاه تهیه شد و بعد از رنگ‌آمیزی با بلو دومتیلن (Methylene Blue) و فوشین فنیکه (Fuchsin)، با استفاده از میکروسکوپ نوری (Optical microscope) با لنز ۲۰، ۱۰، ۴ و ۴۰ مشاهده و ترسیم آناتومی (Anatomy) ثبت گردید و چند مورد بهتر انتخاب و بررسی شد (شکل ۳).

مشخصات موروفولوژیکی و بازده اندام‌های گیاهان وج تهیه و خشک شده از مناطق مختلف جغرافیایی نیز بررسی و گزارش شد (۲۵).

روش اسانس‌گیری

مقدار ۱۰۰ گرم از گیاه مورد نظر (از ۴ منطقه، از هر منطقه دو اندام و در مجموع ۸ مورد) در بالن ۱۰۰۰ سی‌سی ریخته و سپس ۳ تا ۵ برابر آب مقطر به آن اضافه گشت (۳۰۰ تا ۵۰۰ میلی‌لیتر آب) سپس بالن در دستگاه شوف بالن قرار داده شد و پس از اتصال دستگاه کلونجر به بالن و جریان آب خنک کننده کلونجر باز و شوف بالن رو شن گ شت. پس از جوش آمدن محتویات بالن، تا ۴ ساعت اجازه داده شد اسانس‌گیری صورت گیرد و مقدار اسانس بدست آمده جمع‌آوری شدند (۲۶) (شکل ۴).

شکل ۱. تصویری از مراجعه به رویشگاه طبیعی و تهیه‌ی گیاه وج

شکل ۲. تصویری در ارتباط با خشک و ریز کردن اندام هوایی و زیرزمینی وج

شکل ۳. تصویری مربوط به برش عرضی، مشاهده چشمی و رنگ‌آمیزی برای تصاویر میکروسکوپی

(به ترتیب از چپ به راست: ریشه، ساقه، برگ و اسپادیکس)

شکل ۴. تصویر انجام اسانس‌گیری با دستگاه شوف بالن و کلونجر

بررسی فیتوشیمیایی و تجزیه و تحلیل ترکیبات

به منظور اندازه‌گیری مواد مؤثره موجود در اسانس گیاه وج، از دستگاه کروماتوگرافی گازی- طیف سنجی جرمی (GC-MS) آزمایشگاه جامع تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی مازندران استفاده شد. کروماتوگرافی گازی از نوع MSD ۵۹۷۵ و GC۷۸۹۰ با ستون به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه ۰/۲۵ میکرومتر از نوع HP5-MS بود. برای شناسایی ترکیبات تشکیل‌دهنده‌ی اسانس، نمونه که توسط n-هگزان، مرک (Merck) آلمان، رقیق شده بود به مقدار ۱ میکرولیتر به دستگاه تزریق شد (شکل ۵).

برنامه‌ی دمایی ستون بصورت زیر تنظیم گردید: دمای ابتدایی آون ۵۰ درجه‌ی سانتی‌گراد و توقف در این دما به مدت ۵ دقیقه، گرادیان حرارتی ۳ درجه‌ی سانتی‌گراد در هر دقیقه، افزایش دما تا ۲۴۰ درجه‌ی سانتی‌گراد و سپس با سرعت ۱۵ درجه در هر دقیقه، افزایش دما تا ۳۰۰ درجه‌ی سانتی‌گراد و ۳ دقیقه توقف در این دما و زمان پاسخ ۶۰ دقیقه بود. دمای اتاقک تزریق ۲۹۰ درجه‌ی سانتی‌گراد و از گاز هلیوم به عنوان گاز حامل با سرعت جریان (Flow) ۰/۵ میلی‌لیتر در دقیقه استفاده شد.

طیف‌نگار جرمی مورد استفاده مدل Agilent 5973 با ولتاژ یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت، روش یونیزاسیون EI و دمای منبع یونیزاسیون ۲۲۰ درجه‌ی سانتی‌گراد بود. محدوده‌ی اسکن جرم‌ها از ۴۰ تا ۵۵۰ تنظیم شدند. نرم‌افزار مورد استفاده Chemstation بود. شناسایی طیف‌ها به کمک شاخص بازداری آنها و مقایسه‌ی آن با شاخص‌های موجود در کتب مرجع و مقالات و با استفاده از طیف‌های جرمی ترکیبات استاندارد و استفاده از اطلاعات موجود در کتابخانه کامپیوتری صورت گرفت و استاندارد داخلی آلکان (Alkane) نرمال بوده است (۲۷، ۲۸).

شکل ۵. تصویر دستگاه کروماتوگرافی گازی- طیف‌سنج جرمی GC-MS

عصاره‌گیری از اندام اکوتیپ‌های مختلف گیاه وج

بعد از وزن کردن گیاهان تهیه و خشک شده از مناطق مختلف (اندام‌های زیرزمینی و هوایی)، عصاره‌گیری با حلال آبی و طی ۳ مرحله استخراج و تبخیر آن با دستگاه روتاری (Rotary) تقطیر در خلاء، روتاری اواپراتور هایدولف Laborta 4000 (شکل ۶) و خشک کامل با دستگاه فریزدرایر (Freeze-drying) مدل OPR-20100520-E02_Operon، صورت گرفت و سپس در دستگاه فریزر ۸۰-(Premium U410) نگهداری و سپس برای مراحل بعدی استفاده شدند (۷).

بررسی اثرات ضد اکسایشی با فعالیت به دام اندازی رادیکال آزاد

۴ میلی‌لیتر از هر عصاره (۲۰-۱ میلی‌گرم/ میلی‌لیتر) با ۱ میلی‌لیتر محلول رادیکال DPPH(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)، ۱۰ میکرومولار (غلظت پایانی ۰/۲ میلی‌مولار DPPH) مخلوط شده

شکل ۶. عصاره‌گیری گیاهان اکوتیپ‌های مختلف با حلال آبی

و پس از هم زدن به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی انکوبه شده و سپس جذب آن در ۵۱۷ نانومتر در مقابل بلانک قرائت شده و بر این اساس توانائی اسکاونجری عصاره محاسبه شد. آزمایش‌ها ۳ بار تکرار شده و میانگین آن‌ها برحسب میکروگرم بر میلی‌لیتر (µg ml-1) گزارش شد. بر اساس اطلاعات حاصل، IC50 عصاره از منحنی درصد مهار در مقابل غلظت عصاره به دست آمد. بتاهیدروکسی اسید (BHA) به‌عنوان شاهد مثبت برای مقایسه بکار گرفته شد (۸، ۲۳).

یافته‌ها

تهیه‌ی گیاه و مشخصات موروفولوژیکی، میکروسکوپی و بازده اکوتیپ‌های مختلف

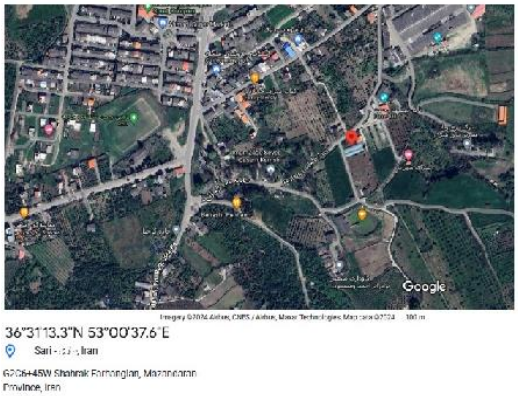
مراجعه و بازدید از مناطق مختلف رویشگاه‌های طبیعی کشور ایران انجام شد. پس از مراجعات و بازدیدهای فراوان در رویشگاه‌های مختلف توسط پژوهشگر)، از اکوتیپ‌هایی از استان مازندران نمونه‌ها تهیه شد. نام‌های محلی وج در اکوتیپ‌هایی که این گیاه رشد می‌کند بین بومیان این مناطق به این صورت بوده است: سازیل (sazil) و اگر (ager). سازیل که شبیه نی می‌باشد. در برخی از مناطق جهت پوشاندن سقف نیز استفاده می‌شود (سازیل یا ساختن) و این احتمال نیز دارد که به عنوان جارو (به مازندرانی سازه) کاربرد داشته باشد. گیاه وج دارای عطر خوب، برگ‌های سبز روشن، ملایم و در قسمت پایین درهم تنیده و میوه/ اسپادیکس آن دراز و کشیده می‌باشد. برای تهیه نمونه، در اکوسیستم‌ها و رویشگاه‌های طبیعی در روستاهای مختلف جستجو و پیگیری در سطح جنگل، رودخانه، تالاب، مرداب و آب بندان و...از ماه اسفند ۱۴۰۱ تا بهار و تابستان ۱۴۰۲ انجام شد و پروژه در سال ۱۴۰۳ نهایی گشت. در نهایت از رویشگاه‌های ذیل نمونه‌های مورد نظر تهیه شد.

آدرس و موقعیت‌های جغرافیایی اکوسیستم‌های موجود در کشور ایران، استان مازندران گیاه وج تهیه شده به صورت زیر می‌باشد:

۱- رودپشت (Rudpusht)/ محدوده کردخیل (Kordkheil)، گله کلا سفلی (Geleh Kola Sofla) و سرخکلا (Sorkhkola) مسیر ساری به قائمشهر:

روستاهای بخش مرکزی: رودپشت، سرخکلا، رودپشت، گله کلا سفلی، کردخیل، تلوباغ، سنگریزه، میانرود، سرخکلا، باریک آبسر، گله کلاعلیا، شرفدارکلا سفلی، شرفدارکلا علیا، ماهفروجک، پاشاکلا، تیرکلا، ماچک پشت، میارکلا؛ دهستان کلیجان رستاق سفلی شامل روستاهای تنگه لته، پرچی کلا، وارد محله، سانخیل، پایین کولا و بالا کولا.

و نهایتاً دهستان اسفیورد شوراب (Esfivard-e Shurab Rural District): بخش مرکزی شهرستان ساری: شهرک فرهنگیان، روستای رودپشت (مزرعه و گلخانه تحت کشت دکتر قلی‌پور ((و حد واسط تلوباغ به رودپشت و نیز محدوده‌ی کارخانه چوخا سابق یا دهکده/مجتمع نیاوران، بهشت رحمت، ملک سنگلپا/ملک و باغ حاج ولی الله فتحی، امامزاده سیدقاسم))، کردخیل و گله کلا سفلی (شکل ۷).



شکل ۷. مشخصات جغرافیایی و تصویر نقشه هوایی اکوتیپ ۱

۲- جاده ساری کیاسر بخش کلیجان رستاق دهستان کلیجان رستاق علیا: ارزفون (بین اراضی و جنگل‌های شهرستان‌های ساری، قائمشهر و سوادکوه)

کیلومتر ۲۱ ساری؛ بخش کلیجان رستاق (Kolijan Rostaq District) دهستان کلیجان رستاق علیا: پهنه کلا، ملا کلا، درودار، امره، ماشین کلا، دلاک خیل و ارزفون (شکل ۸) وصل به جنگل‌های شیرگاه.گیاه وج از سطح آب بندان و رودخانه‌های منطقه/ جنگل تهیه شد.

شکل ۸ مشخصات جغرافیایی و تصویر نقشه هوایی اکوتیپ ۲

۳- جاده دودانگه ساری- شهرستان پل سفید، بخش کلیجان رستاق دهستان تنگه سلیمان

در ۴۰ کیلومتری جنوب شرقی ساری؛ جاده ساری کیاسر، به سمت جاده دودانگه، شهرستان پل سفید، بخش کلیجان رستاق دهستان تنگه سلیمان: لارما، اجارستاق، میدانک، کلاخیل، آبکسر، پروریج آباد، پلسک (شکل ۹).

گیاه وج از سطح آب‌بندان/ دریاچه منطقه جنگل تهیه شد.

شکل ۹. مشخصات جغرافیایی و تصویر نقشه‌ی هوایی اکوتیپ ۳

۴- جاده‌ی ساری به سمنان بخش چهاردانگه دهستان گرماب

کیلومتر ۷۰ ساری به سمت جنوب؛ جاده ساری سمنان بخش چهاردانگه دهستان گرماب روستاهای نوکنده، نرگس زمین، اروت، ازنی، الندان (شکل ۱۰). گیاه وج از سطح دریاچه منتهی در دل جنگل و رویشگاه طبیعی تهیه شد.

شکل ۱۰. مشخصات جغرافیایی و تصویر نقشه هوایی اکوتیپ ۴

م شخ صات هرباریوم و جغرافیایی گیاهان تهیه شده‌ی وج از اکوتیپ‌های مختلف مطالعه

مشخصات هرباریومی گیاه پس از تهیه، شناسایی و خشک کردن در مرکز تحقیقات علوم دارویی و گروه فارماکوگنوزی و گیاهان دارویی دانشکده‌ی داروسازی و پیام‌نور ساری، در جدول ۱ آمده است.

تهیه‌ی گیاه توسط نویسنده و مجری این پژوهش در بهار و تابستان ۱۴۰۲ (۲۰۲۳ میلادی) از رویشگاه‌های استان مازندران انجام شد. شناسایی گیاه توسط دکتر قلی پور، دکتر بهمن اسلامی و دکتر حامد فتحی متخصصین زیست شناسی گیاهی، سیستماتیک صورت پذیرفت. ضمن اینکه پژوهشگر در هنگام تهیه‌ی نمونه‌ی گیاه، آشنایی قبلی با گیاه از نظر مشخصات و بوی آن، گیاه وج را به عنوان نمونه استاندارد همراه خود داشته و همواره ساختار گیاه وج و نیز عطر خاص آن را با نمونه استاندارد تطابق می‌داده است.

ارتفاع محل (از سطح دریا) منطقه F4 (رویشگاه ۴) بیشتر و منطقه F1 کمتر از بقیه مناطق جمع‌آوری گیاه بوده است (جدول ۱). اندام‌های مورد بررسی گیاه; ریشه، ریزوم، برگ و اسپادیکس (Spadix) گل آذین در مرحله میوه، بوده اند.اسپادیکس سنبله‌ای و بخشی از ساقه‌ی گوشتی بوده که توسط گروهی از گل‌های کوچک دوجنسی پوشیده شده و در خانواده Araceae رایج است و اسپات (Spathe)، همان برگچه اسپادیکس بوده (ساختاری برگ مانند، اغلب بزرگ و رنگارنگ، که اطراف اسپادیکس یا سنبله گل برخی از گیاهان را احاطه کرده یا از آن پخش می‌شود)، اسپادیکس و اسپات، مخصوص گیاهان خانواده گل شیپوریان می‌باشد. نوک اسپادیکس می‌تواند شبیه گرز یا کروی و تنه آن می‌تواند مارپیچی باشد. دمگل (Peduncle)به پایه یک گل اطلاق می‌شود. نقطه‌ای که برگ منشأ می‌گیرد گره و قسمتی از ساقه را که بین دو گره واقع شده است، میانگره (Intrnode) می‌نامند. اولین میانگره شاخه در زیر نهنج، پایک است. ترتیب فراوانی نمونه‌ها در اکوتیپ‌های مورد مطالعه به صورت F4<F3<F2<F1 می‌باشد (F1 نمونه زراعی بود).

کاشت و تکثیر گیاه در محیط دیگر و ماندگاری وج در آزمایشگاه

گیاه وج از محیط آب بندان- دریاچه یکی از اکوتیپ‌ها تهیه و به پایین دست و فضای خانگی و باغی منتقل شد، از طریق ریزوم تکثیر پیدا کرد و مدتی تحت مراقبت و آبیاری قرار گرفت و رشد نمود که در تصویر شماره ۱۱ آمده است. همچنین در محیط آزمایشگاه در

جدول ۱. مشخصات هرباریومی و جغرافیایی گیاهان تهیه شده

ردیف	منطقه‌ی جمع‌آوری شده	نام مخفف اکوتیپ‌ها	تاریخ تهیه گیاه	ارتفاع محل از سطح دریا (m)	مشخصات جغرافیایی	شماره هر باریومی
۱	رودپشت کردخیل گله کلاسفلی	F1	۱۴۰۲/۰۲/۱۹	۳۷	36°31'13.3"N 53°00'37.6"E	Mazums-1037
۲	ارزفون	F2	۱۴۰۲/۰۲/۲۰	۲۸۵	36°24'34.0"N 53°02'25.1"E	Mazums-1038
۳	پلسک	F3	۱۴۰۲/۰۲/۲۱	۶۷۱	36°16'40.0"N 53°15'06.8"E	Mazums-1039
۴	الندان- ازنی	F4	۱۴۰۲/۰۲/۲۲	۹۹۹	36°13'12.8"N 53°25'45.5"E	Mazums-1040

شکل ۱۱. تکثیر و رویش گیاه وج در محیط خانگی و باغی

دمای اتاق، نمونه‌ها داخل آب نگهداری شدند بطوریکه ریزوم داخل آب بوده است. از نظر زنده ماندن و سبز بودن گیاهان، نمونه زراعی رودپشت،کردخیل وگله کلا وضعیت بهتری داشته که احتمال می‌رود به سبب مشابهت و نزدیکی محیط‌های برداشت و کشت بوده باشد. پلسک، الندان و ارزفون در رتبه‌ی بعدی قرار دارند.

مشخصات مورفولوژیکی اندام‌های مختلف گیاه تهیه شده‌ی وج از اکوتیپ‌های مختلف

برخی از این مشخصات در ذیل آمده است:

تعداد ریشه و طول ریزوم گیاه منطقه F3 بیشتر از بقیه بوده و گیاه منطقه F4 دارای بزرگترین ریشه بود. ساقه قطور مربوط به منطقه F1 بود. کوچکترین برگ از منطقه F4 گزارش شد و تعداد برگ‌ها در گیاهان همه مناطق عموماً ۷تا بوده است. تعداد اسپادیکس در گیاهان اکوتیپ‌های مختلف ۱ مورد گزارش شد و بزرگترین آن مربوط به رویشگاه F2 بود. با افزایش ارتفاع منطقه جمع‌آوری گیاه، طول برگ‌ها و طول گیاه کامل بزرگتر شده و بلندترین گیاه از منطقه F3 بوده است.

مشخصات وزن اندام‌های گیاه وج (تازه و خشک) تهیه شده از مناطق جغرافیایی مختلف

برخی از این مشخصات در ذیل آمده است:

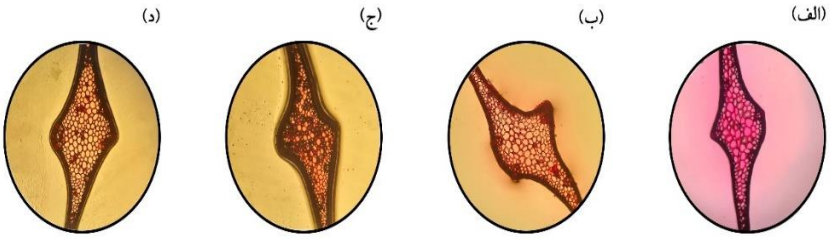
به طور میانگین ۵۰ نمونه‌ی گیاهی مورد نظر در سطح ۵۰ مترمربع از هر کدام از مناطق جغرافیایی ۴گانه مورد مطالعه تهیه و ارزیابی شد. بیشترین وزن در بین نمونه‌های تازه و خشک به ترتیب، مربوط به اکوتیپ‌های F2 و F3 بود و وزن اندام زیرزمینی تازه و خشک از رویشگاه F1 از سایر رویشگاه‌ها کمتر بوده است. بالاترین بازده در خشک شدن گیاه، مربوط به گیاه اکوتیپ F3 به میزان بالای ۵۰ درصد بوده است. در بین مناطق ۴گانه همچنین بین گیاهان تازه و خشک، به طور معمول بیشتر وزن گیاه مربوط به اندام هوایی بود (بالای ۶۰ درصد). در این بین، وزن تازه و خشک اندام هوایی از اکوتیپ F2 از سایر مناطق بیشتر بوده است. بالاترین بازده در خشک شدن اسپادیکس در رویشگاه F1 مشاهده شد و بیشترین وزن گیاه (تازه و خشک) از رویشگاه F4 به دست آمد. از لحاظ ضخامت و کلفتی برگ‌ها، گیاه اکوتیپ F4 ضخیم‌ترین برگ را داشته و F2، F3، F1 در ردیف بعدی بودند که این را به نوعی می‌توان بر اثر ارتفاع بیشتر منطقه F4 و همچنین آب فراوان و دائمی آب‌بندان و فضای تقریباً باز محوطه دریاچه در دل جنگل و بهره‌مندی بیشتر از نور خورشید دانست. در شکل شماره ۱۲ تصویر گیاه تازه و خشک وج، تهیه شده توسط نگارنده آمده است.

شکل ۱۲. تصویری از گیاه کامل تازه و نیز خشک شده وج

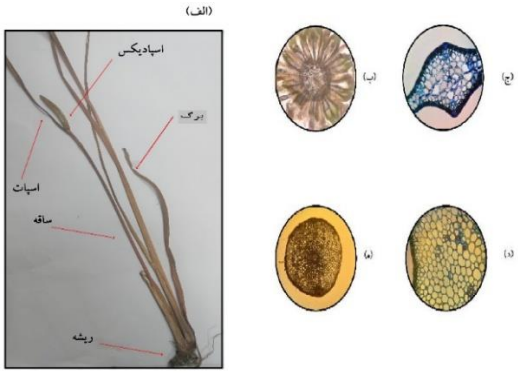
بررسی و مشاهده میکروسکوپی اندام گیاه وج

تصاویر مشاهده شده از اندام گیاهان مناطق چهارگانه مورد بررسی به وسیله‌ی میکروسکوپ بزرگنمایی ۱۰X۱۰ نشان‌دهنده‌ی تطابق و مشابهت گیاهان بود (شکل ۱۳). تصاویر میکروسکوپی اندام‌های مختلف گیاهان (زیرزمینی، ساقه، برگ و اسپادیکس)که دارای کیفیت و وضوح بهتری بودند در متن آورد شده است (شکل ۱۴).

در شکل شماره ۱۵، تصویر میکروسکوپی ریشه گیاه وج، با بزرگنمایی ۴۰X۱۰ آمده است؛ مشخصات و آناتومی آن در شکل مشخص شده است.



شکل ۱۳. تصویر میکروسکوپی برگ ۴ رویشگاه مورد بررسی وج (*Acorus calamus L.*)
الف: اکوتیپ F1 (رودپشت). ب: اکوتیپ F2 (ارزفون). ج: اکوتیپ F3 (پلسک). د: اکوتیپ F4 (الندان).

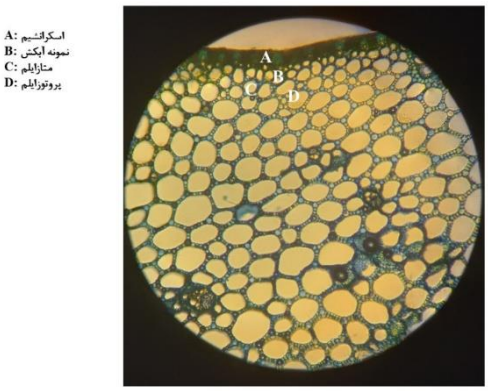


شکل ۱۴. تصویر اندام‌ها و آناتومی میکروسکوپی گیاه وج
الف: تصویر گیاه خشک وج و مشخص نمودن اندام‌های گیاه برای تصویر میکروسکوپی. ب: اسپادیکس. ج: برگ. د: ساقه. ه: ریشه.

شکل ۱۵. آناتومی و مشخصات اندام ریشه‌ی گیاه وج (*Acorus calamus L.*)

ساختار ریشه‌ی گیاهان تک لپه: آوند چوبی و آبکشی به صورت یک درمیان قرار گرفته، دارای مغز بوده، نوار کاسپاری نعل اسبی شکل دارد و پروتوزایلم آوند چوبی به سمت اپیدرم قرار گرفته است. در گیاهان دولپه آوند چوبی و آبکشی به صورت یک در میان قرار گرفته و مغز ندارد و مغز توسط متازایلم پر شده است، نوار کاسپاری در دو کنج بوده و پروتوزایلم آوند چوبی به سمت اپیدرم قرار دارد.

در شکل شماره‌ی ۱۶ تصویر میکروسکوپی ساقه گیاه وج با بزرگنمایی ۴۰X۱۰ آمده است؛ مشخصات وکالبدشناسی گیاهی (Plant anatomy) این اندام در شکل مشخص شده است.



شکل ۱۶. ساختار تشریحی ساقه در گیاه وج (*Acorus calamus L.*)

ساختار ساقه در گیاهان تک لپه: آوند چوبی و آبکشی به صورت کولترال قرار گرفته است، پروتوزایلم به سمت مغز قرار داشته و دستجات آوندی روی یک حلقه فرضی قرار دارند. در گیاهان دو لپه آوند چوبی و آبکشی به صورت کولترال قرار داشته، پروتوزایلم به سمت مغز قرار دارند و دستجات آوندی روی دوایر متحدالمرکز قرار گرفته‌اند.

در شکل ۱۷ تصویر میکرو سکوپی برگ گیاه در قالب فیتوتومی (Phytotomy) گیاهی این اندام در شکل مشخص شده است.

ساختار برگ در گیاهان تک لپه دارای رگه موازی (شاخص بارز) و در هر دو سطح بالا و پایین دارای روزنه و گل‌های آن اغلب سه گوش می‌با شند. برگ‌های دو لپه‌ای شبکه‌ای و فقط در یکی از سطوح برگ دارای روزنه و گل‌های آنها معمولاً چهار گوش یا پنج ضلعی می‌باشند.

مشخصات و بازده اسانس اندام‌ها و رویشگاه‌های مختلف گیاه وج

بازده اسانس به دست آمده از اندام‌های زیرزمینی و هوایی گیاه وج در رویشگاه‌های مختلف چهارگانه F1، F2، F3 و F4 از در جدول ۲ آمده است.

شکل ۱۷. ساختار تشریحی برگ گیاه وج (*Acorus calamus L.*)

به میزان ۱۰۰ گرم از هر کدام از اندام زیرزمینی (ریزوم و ریشه) و هوایی (برگ و ساقه) گیاه وج با ترازو توزین شده و سپس اسانس‌گیری انجام شد.

برای اندام زیرزمینی اکوتیپ F1 بازده کمتری نسبت به سایرین داشته (به میزان ۰/۶ درصد) و اکوتیپ F4 بیشترین بازده را داشته (به میزان ۲ درصد)

برای اندام هوایی اکوتیپ F1 بازده کمتری نسبت به سایرین داشته (به میزان ۰/۳۹ درصد) و اکوتیپ F4 بیشترین بازده را داشته (به میزان ۱/۲ درصد) است.

ترتیب میانگین درصد اسانس به دست آمده از اندام هوایی و زمینی در اکوتیپ‌های مختلف به ترتیب F4، F3، F2، F1 می‌باشد.

در مجموع، به نظر می‌رسد با افزایش ارتفاع در اکوتیپ‌ها، بازده اسانس نیز بیشتر شده است.

در کل، در بین اندام‌های مختلف گیاهان اکوتیپ‌های چهارگانه در این مطالعه، اندام زیرزمینی میزان اسانس (۱/۳۸۷۸ درصد) و بازده بیشتری (۰/۸۸۵ درصدی) نسبت به اندام هوایی داشته است. در مقایسه‌ی کلی در مورد عصاره‌ها نیز وضعیت به همین گونه بوده است.

همچنین میانگین کلی بازده اسانس‌های اندام زیرزمینی و هوایی این اکوتیپ‌ها، به میزان ۱/۱۳۶۲ درصد بوده است.

آنالیز اسانس و ماده‌ی مؤثره توسط دستگاه GcMass

تنوع فیتوشیمیایی ترکیبات اسانس برای نمونه های وج اکوتیپ‌های مورد بررسی بالای ۰/۵ درصد در بین اندام زیرزمینی و هوایی (رودپشت:F1، ارزفون:F2، پلسک:F3 و الندان:F4، مجموع ۸ مورد) بررسی شد و بهترین عملکرد فیتوشیمیایی برای اندام زیرزمینی گیاه در بین ۴ اکوتیپ مربوط به اندام زیرزمینی منطقه F1 می‌باشد که مشخصات مواد مؤثره نمونه در جدول ۳ آمده است.

در نمونه اندام زمینی zone1 ترکیبات انتخابی با RA بالای نیم در صد و در صد شباهت بالای ۹۵ انتخاب شدند. علت انتخاب این طیف برای تفسیر، میانگین بالای ترکیبات مهم در این نمونه نسبت به سایر نمونه‌ها می‌باشد. توضیح اینکه Compound نام ترکیب بوده، RT(min)زمان بازداری می‌باشد، محاسبه KI توسط فرمول kovats index به دست آمد (با داده‌های نرمال آلکان)، رفرنس RIها کتاب آدامز و سایت فروبیس می‌باشد. RA(%) نشان‌دهنده‌ی درصد است. کروماتوگرافی گازی برای بررسی ترکیبات موجود در اسانس گیاه وج در ستون با مشخصات قید شده در بالا انجام شد. در جدول بالا، ترکیبات ماژور با RA بالای نیم درصد و میزان شباهت بالای ۹۵ درصد انتخاب شدند. علت انتخاب این طیف برای تفسیر، میانگین بالای ترکیبات مهم در این نمونه نسبت به سایر نمونه‌ها می‌باشد.

نتایج نشان داد که نمونه اندام زیرزمینی این گیاه دارای درصد بالای ترکیبات (۱۲/۳۶ درصد) Epishyobunone، (۱۱/۰۴ درصد) alpha-Selinene، (۶/۷۶ درصد) Camphene، (۶/۷۵ درصد) β-Gurjunene، (۵/۳۵ درصد) Acorenone، (۳/۸۷ درصد) Isoshyobunone، (۳/۶۷ درصد) Aromandendrene ، (۳/۵۲ درصد) β-Cedrene و سایر ترکیبات مندرج در جدول ۳، آخرین مورد هم (۰/۵۸ درصد) Cadalene می‌باشد.

Epishyobunone یک سزکوییترپنوئید بوده، به عنوان متابولیت نقش دارد و در Acorus calamus گزارش شده است.

جدول ۲. بازده اسانس اندام‌های گیاه وج از رویشگاه‌های مختلف

ردیف	رویشگاه گیاهان	اندام زیرزمینی			اندام هوایی		میانگین کلی (درصد)
		وزن گیاه اسانس گرفته شده(gr)	اسانس به‌دست آمده(cc)	بازده اسانس (درصد)	وزن گیاه اسانس گرفته شده (gr)	اسانس به‌دست آمده (cc)	بازده اسانس (درصد)	
۱	رودپشت(F1)	۱۰۰	۰/۶	۰/۶	۱۰۰	۰/۳۹	۰/۳۹	۰/۴۹۵
۲	ارزفون(F2)	۱۰۰	۱/۳۱	۱/۳۱	۱۰۰	۰/۸۵	۰/۸۵	۱/۰۸
۳	پلسک(F3)	۱۰۰	۱/۶۴	۱/۶۴	۱۰۰	۱/۱	۱/۱	۱/۳۷
۴	الندان(F4)	۱۰۰	۲	۲	۱۰۰	۱/۲	۱/۲	۱/۶
	میانگین (درصد)		۱/۳۸۷۸			۰/۸۸۵		۱/۱۳۶۲

جدول ۳. ارزیابی تنوع فیتوشیمیایی ترکیبات اسانس اندام زمینی وج اکوتیپ ۱ (F1A)

ردیف	ترکیب	RT (min)	KI	RI	RA (%)
۱	2-Pinene	۸/۶۳	۹۳۰	۹۳۲	۱/۱
۲	Camphene	۹/۲۰	۹۴۶	۹۴۶	۶/۷۶
۳	D-Limonene	۱۲/۱۴	۱۰۲۷	۱۰۲۴	۰/۷۷
۴	(+)-2-Bornanone(Camphor)	۱۵/۹۵	۱۱۴۳	۱۱۴۱	۲/۲۷
۵	β-Cedrene	۲۳/۶۶	۱۴۲۰	۱۴۱۳	۳/۵۲
۶	β-Gurjunene	۲۴/۰۳	۱۴۳۴	۱۴۳۱	۶/۷۵
۷	Prezizaene	۲۴/۴۷	۱۴۵۲	۱۴۴۴	۱/۳۷
۸	trans-.beta.-Farnesene	۲۴/۶۶	۱۴۶۰	۱۴۵۴	۰/۵۸
۹	Aromandendrene	۲۵/۴۱	۱۴۹۰	۱۴۵۶	۳/۶۷
۱۰	.alpha.-Selinene	۲۵/۶۴	۱۴۹۹	۱۴۹۸	۱۱/۰۴
۱۱	.alpha.-Gurjunene	۲۵/۸۸	۱۵۰۵	۱۵۰۹	۰/۶۲
۱۲	Epishyobunone	۲۶/۲۱	۱۵۱۲	۱۵۱۸	۱۲/۳۶
۱۳	.delta.-Cadinene	۲۶/۳۳	۱۵۱۴	۱۵۲۲	۲/۰۸
۱۴	Isoshyobunone	۲۶/۵	۱۵۱۸	۱۵۲۸	۳/۸۷
۱۵	.alpha.-Calacorene	۲۶/۷۹	۱۵۲۴	۱۵۴۴	۲/۸
۱۶	.beta.-Calacorene	۲۷/۲۵	۱۵۳۴	۱۵۶۴	۱/۳
۱۷	(-)-Spathulenol	۲۷/۶۲	۱۵۴۳	۱۵۷۷	۱/۰۸
۱۸	Caryophyllene oxide	۲۷/۷	۱۵۴۴	۱۵۸۲	۰/۸۷
۱۹	.beta.-Asarone	۲۸/۷۱	۱۶۶۶	۱۶۱۶	۲/۲۸
۲۰	Unknown	۲۸/۸	۱۶۶۸	-	۱/۹۷
۲۱	.alpha.-Cadinol	۲۹/۳۹	۱۶۸۱	۴۶۵۲	۰/۷۲
۲۲	Cadalene	۲۹/۸۱	۱۶۹۰	۱۶۷۵	۰/۵۸
۲۳	Acorenone	۳۰/۱۸	۱۶۹۸	۱۶۹۲	۵/۳۵

سلینن‌ها (Selinene) گروهی از ترکیبات شیمیایی ایزومریک نزدیک به هم بوده (دارای تعداد اتم‌های مساوی و آرایش فضایی متفاوت)که بعنوان سزکوئی‌ترپن (Sesquiterpene)ها (دارای خاصیت دارویی) طبقه‌بندی می‌گردند. همگی سلینن‌ها دارای فرمول مولکولی C15H24 بوده و از منابع گیاهی مختلفی جدا گشته‌اند. α- سلینن و بتا- سلینن رایج‌ترین بوده (موجود در دانه‌های روغن کرفس) و γ- سلینن و δ- سلینن کمتر رایج می‌باشند.

کامفن (Camphene) یک ترکیب شیمیایی دارای فرمول مولکولی C10H16 بوده و یک مونوترپن با یک ساختار دوحلقه‌ای و تقریباً در آب نامحلول و در حلال‌های آلی معمولی مانند حلال‌های استون (Acetone)، اتیل استات (Ethyl acetate) و کلروفرم (Chloroform) بسیار محلول و دارای بوی تند می‌باشد. این ماده‌ی تشکیل‌دهنده‌ی جزئی بسیاری از روغن‌های اساسی مانند ترپتین، روغن سرو، کافور، سیترونلا، نروولی، زنجبیل و والرین بوده و با ایزومریزا سیون کاتالیزوری شایع‌ترین آلفا پینن تولید می‌شود. از کامپن در تهیه‌ی عطرها و به عنوان یک افزودنی غذایی برای طعم دهنده استفاده می‌گردد.

gurjunene، به عنوان α-gurjunene-(−) شناخته می شود، یک سزکوئی‌ترپن کربوتری حلقه‌ای طبیعی بوده که بیشتر در بالسان گورجون، یک ترکیب ا سانس ا ستخراج شده از گیاهان از جنس دی پتروکارپوس (Dipterocarpus)_ سرده‌ای از گیاهان گلدار و از نوع تیره‌ی خانواده Dipterocarpaceae (دوبال‌میوگان) یافت می‌شود.

Isoshyobunone یک سزکوییترپنوئید می باشد به عنوان متابولیت نقش داشته در Acorus calamus گزارش گردیده است.

Aromandendrene یک سزکوییترپنوئید می‌باشد.

سدرن (Cedrene) نوعی سزکوئی‌ترپن بوده که در اسانس سدر یافت می‌گردد. دو ایزومر موجود در روغن عبارتند از (−)-α-cedrene و (+)-β-cedrene که در موقعیت یک پیوند دوگانه متفاوت می‌باشند.

کادالن (Cadalene) یک ترکیب شیمیایی با فرمول شیمیایی C15H18 و نشانگر زیستی (Biomarker) گیاهان عالی (پیدازادان یا گیاهان دانه‌دار یا اسپرماتوفیت‌ها (Spermatophytes) و دارای تولید مثل آ شکار و پیدا-پیدازادان (Phanerogams) تق سیم به بازدانگان و نهان‌دانگان و نهان‌دانگان به دو گروه: تک‌لپه‌ای ها و دولپه‌ای ها)

جدول ۴. بررسی تنوع فیتوشیمیایی ترکیبات اسانس اندام هوایی وج از اکوتیپ ۲ (F2B)

ردیف	ترکیبات	RT(min)	KI	RI	RA(%)
۱	Camphene	۹/۱۴	۹۴۶	۹۴۴	۱/۰۹
۲	D-Limonene	۱۲/۱۵	۱۰۲۷	۱۰۲۷	۱/۴۱
۳	trans-.beta.-Ocimene	۱۲/۶۱	۱۰۵۰	۱۰۴۱	۱/۶۵
۴	Linalool	۱۴/۷۳	۱۰۹۸	۱۱۰۴	۰/۹۴
۵	(+)-2-Bornanone(Camphor)	۱۵/۹۳	۱۱۴۳	۱۱۴۳	۱/۳۸
۶	Caryophyllene	۲۳/۶۹	۱۴۲۸	۱۴۲۱	۳/۷۰
۷	β-Gurjunene	۲۳/۹۷	۱۴۳۴	۱۴۳۲	۱/۰۶
۸	.alpha.-Humulene	۲۴/۵۳	۱۴۵۲	۱۴۵۵	۰/۷۹
۹	(E)-.beta.-Famesene	۲۴/۶۶	۱۴۶۰	۱۴۶۰	۱/۴۳
۱۰	Aromandendrene	۲۵/۳۹	۱۴۹۰	۱۴۸۹	۰/۷۳
۱۱	(+)-.alpha.-Selinene	۲۵/۶۳	۱۴۹۹	۱۴۹۹	۴/۳۰
۱۲	.alpha.-Gurjunene	۲۵/۸۷	۱۵۰۵	۱۵۰۴	۰/۶۶
۱۳	Epishyobunone	۲۶/۱۰	۱۵۱۲	۱۵۰۹	۲/۷۰
۱۴	delta.-Cadinene	۲۶/۲۸	۱۵۱۴	۱۵۱۳	۱/۴۸
۱۵	Isoshyobunone	۲۶/۴۳	۱۵۱۸	۱۵۱۷	۰/۵۶
۱۶	.gamma.-Asarone	۲۷/۵۹	۱۵۷۴	۱۵۴۲	۲/۴۹
۱۷	beta.-Asarone	۲۸/۹۸	۱۶۶۶	۱۶۷۲	۳۰/۶۳
۱۸	Unknown	۲۹/۱۴	–	۱۶۷۶	۱/۵۴
۱۹	.alpha.-Cadinol	۲۹/۵۰	۱۶۸۱	۱۶۸۴	۲/۴۰
۲۰	Acorenone	۳۰/۲۴	۱۶۹۸	۱۷۰۰	۴/۷۵

می‌باشد. نشانگر زیستی می شود، در تشخیص خطر بیماری، وجود بیماری در یک فرد یا متناسب سازی درمان با بیماری در فرد (انتخاب درمان دارویی یا اجرای رژیم) استفاده گردد.

بهترین عملکرد فیتوشیمیایی در بین اندام هوایی ۴ اکوتیپ، مربوط به اندام هوایی منطقه ارزفون یا F2 می‌باشد که مشخصات ترکیبات و مواد مؤثره نمونه در جدول ۴ قید شده است.

مشخصات اولیه در بالا و توضیحات جدول ۴ قید شده است.

نتایج نشان داد که نمونه اندام هوایی این گیاه دارای درصد بالای ترکیبات (۳۰/۶۳ درصد) beta.-Asarone، (۴/۷۵ درصد) Acorenone، (۴/۳۰ درصد) alpha-Selinene، (۳/۷۰ درصد) Caryophyllene و سایر ترکیبات مندرج در جدول ۴ آخرین مورد هم (۰/۵۶ درصد) Isoshyobunone می‌باشد.

آسارون (Asarone) یک ترکیب شیمیایی از کلاس فنیل پروپانوئید (Phenylpropanoid) است که در گیاهان خاصی همچون آکوروس و آساروم (Asarum) یک سرده از تیره زرآوندیان (Aristolochiaceae) و گیاهی علفی و پایا به ارتفاع حدود ۱۰ سانتی‌متر با برگ‌های صاف یافت می شود. دو ایزومر وجود دارد، α (یا trans) و β (یا cis). به عنوان یک روغن معطر فرار، در از بین بردن آفات و باکتری‌ها استفاده می شود. β-آسارون با مهار بیوسنتز ارگوسترول در Aspergillus niger فعالیت ضد قارچی از خود نشان می‌دهد. با این حال، سمیت و سرطان‌زایی آسارون به این معنی است که ممکن است تولید هر گونه داروی عملی بر اساس آن دشوار باشد.

کاریوفیلن (Caryophyllene) یک ترکیب شیمیایی با فرمول شیمیایی C15H24 و ترکیب کاریوفیلن سزکوئی‌ترپن دو حلقه‌ای می باشد که در اسانس گیاهانی مانند میخک (Syzygium aromaticum)، شاهدانه (Cannabis sativa)، رزماری (Salvia rosmarinus_Rosemary)، کوپایبا (Copaiba) استخراج شده از درختی به نام Copaifera officinalis و رازک (Humulus lupulus_Hops) یافت می‌شود.

کاریوفیلن به دلیل داشتن یک حلقه سیکلوبوتان و همچنین یک پیوند دوگانه ترانس در یک حلقه ۹ ضلعی قابل توجه بوده که هر دو در طبیعت کمیاب هستند. همچنین در فلفل سیاه، کاریوفیلن از ترکیبات شیمیایی است که منجر به عطر و رایحه‌ی خوش آن می‌شود.

بهترین نمونه هم بین ۸ نمونه عصاره F1A (اندام زیرزمینی منطقه‌ی رودپشت) بوده است.

فعالیت بیولوژیکی ضد اکسایشی عصاره‌ی آبی

در جدول ۵ فعالیت آنتی‌اکسیدانی و میزان IC50 عصاره‌ی گیاهان تهیه شده وج از اکوتیپ‌های مختلف با استفاده از حلال طبیعی و آب آمده است. در ادامه Fها مربوط به یک منطقه بوده (به ترتیب رودپشت، ارزفون، پلسک و الندان) و A به اندام زیرزمینی و B به اندام هوایی اطلاق می‌شود).

جدول ۵. فعالیت ضد اکسایشی عصاره‌ی آبی گیاهان تهیه شده وج از اکوتیپ‌های مختلف

ردیف	عصاره‌ی مورد بررسی (با حلال آبی)	DPPH Free Radical Scavenging IC50 (mg/mL-1)a
۱	F1A_Ab	۴۱۷/۹۹۶۷ ± ۶/۲۵
۲	F1B_Ab	۲۲۶/۳۸۱ ± ۲/۸۵
۳	F2A_Ab	۲۲۲/۶۱۱1 ± ۳/۷۴
۴	F2B_Ab	۲۹۵/۶۲۵۹ ± ۳/۰۵
۵	F3A_Ab	۴۵۰/۹۴۷۹ ± ۸/۱۵
۶	F3B_Ab	۴۱۱/۹۵۹ ± ۷/۹۴
۷	F4A_Ab	۲۸۳/۶۷۵۳ ± ۲/۲۷
۸	F4B_Ab	۳۷۶/۵۴۳۲ ± ۵/۲۵

بین A ها (اندام زیرزمینی) F2A_Ab (عصاره‌ی آبی اندام زیرزمینی منطقه ۲) مقدار کمتری نسبت به سایر عصاره داشت (۳/۷۴ ± ۲۲۲/۱۶۱۱) لذا اثر بهتری دارد.

بین Bها (اندام هوایی) F1B_Ab (عصاره‌ی آبی اندام هوایی منطقه ۱) مقدار کمتری نسبت به سایر عصاره داشت (۲/۸۵ ± ۲۲۶/۳۸۱) لذا اثر بهتری دارد.

IC50 برای بتا هیدروکسی اسید برابر ۹/۱±۳۸/۷ میکروگرم در میلی‌لیتر به دست آمد؛ یعنی بتاهیدروکسی اسید از بهترین عصاره (F2A_Ab = ۲۲۲/۱۶۱۱ ± ۳/۷۴) حدود ۵/۷۴ برابر بهتر است.

مجموع IC50 مقادیر اندام زیرزمینی (A)، برابر ۲۰/۴۱ ± ۱۳۷۴/۷۶ و میانگین اندام زیرزمینی ۴ منطقه برابر a(mg/mL-1) ۳۴۳/۶۹ بوده است.

مجموع IC50 مقادیر اندام هوایی برابر (B)، ۱۹/۰۹ ± ۱۳۱۰/۴۹ و میانگین اندام زیرزمینی ۴ منطقه برابر a (mg/mL-1) ۳۲۷/۶۲۲۵ بوده است.

مجموع میزان مقادیر اندام زیرزمینی (A) و مقادیر اندام هوایی (B)، اندام هوایی مقدار IC50 کمتری داشته و لذا اثر بیشتر ضد اکسایشی و مهارکنندگی رادیکال آزاد داشته است و تفاوت معنی‌داری نسبت به نمونه‌های اندام زیرزمینی داشت (P <۰/۰۵).

در مقایسه‌ی بین مناطق جغرافیایی مختلف این مطالعه در میانگین دو اندام یک منطقه، اکوسیستم F2 اثر بهتری نسبت به سایر مناطق داشت (۲۵۸/۸۹۳۵) و تفاوت معنی‌داری نسبت به نمونه‌های دیگر داشت (P < ۰/۰۵).

بحث

با توجه به ارزیابی درصد و عملکرد اسانس بین جمعیت‌های رودپشت، ارزفون، پلسک و الندان و شرح مفصل فایل‌ها، پیک‌ها و داده‌های آن انجام شد بهترین نمونه زیرزمینی و نمونه هوایی شناسایی و بررسی دقیق و تخصصی گشت، بیشترین درصد و عملکرد اسانس در جمعیت اندام زیرزمینی رودپشت مشاهده شد در مطالعه‌ی Safaii و همکاران نیز اینگونه برر سی و گزارش گردید و حضور ۱۹ ترکیب اسانس جمعیت‌های مورد بررسی مشاهده شد. ترکیبات گیاه و منطقه مورد جمعیت و رویش بر عملکرد تأثیر داشته است (۲۹).

نظر به ارزیابی پیرامون گیاه وج و نیز بررسی مقالات نام آن در ایتالیا Plant of Venus، آیوردا Vacha، بلژیک Bach، سنسکریت Bhutanashini, Ugragandh, Jatila، یونانی Bacch و به هندی Bajai می‌باشد، طبقه‌بندی کلاسیک گیاه وج و پیشینه و کاربرد دارویی آن در کشورها و فرهنگ‌های مختلف جهان (آسیا، اروپا و امریکا در مطالعه‌ی فتحی و همکاران به تفصیل اشاره شده است (۶).

ارزیابی آناتومیکی گیاه وج توسط Seago و Fernando در سال۲۰۱۳ صورت پذیرفت (۳۰). بررسی، کشت و انتخاب جمعیت مناسب اندام‌های گیاه از وج و تنوع ژنتیکی با نشانگرهای مولکولی ISSR در مطالعه‌ی Gholipour و همکاران در ۲۰۲۱ انجام شد (۳۱). در پژوهش حاضر مانند آن تهیه نمونه‌ها از جمعیت‌های مختلف انجام شد (به همراه جمعیت جدید و نیز در اندام‌های مختلف،کشت و تکثیر با ریزوم نیز صورت پذیرفت البته برگ ۴ اکوتیپ بررسی و مشاهده شده، و اندام ریشه، ساقه، برگ و اسپادیکس گیاه مشاهده، تحلیل و اجزای آن مشخص شدند و با مطالعه همخوانی داشت.

روغن گیاه استخراج شده سرشار از ترکیبات ضروری از قبیل روغن‌های ضروری، آلکالوئیدها، فنول‌ها و تانن‌هاست. ترکیبات اصلی این گیاه مثل آسارون (asarone) قادرند سطح استیل کولین (ACh-Acetylcholine) مغز را به عنوان عامل مهم در تقویت حافظه افزایش دهند (۵). در پروژه‌ی حاضر نیز ترکیبات beta.-Asarone (۲/۲۸ درصد) در اندام زیرزمینی گزارش گردید.

تغییرات جمعیت‌های گیاه وج در مطالعه‌ی Gholipour بررسی شد (۳۲). علاوه بر از ۳ اکوسیستم مورد آزمایش آن تحقیق، در مطالعه‌ی حاضر منطقه‌ی چهارم نیز بررسی شد و به همراه اندام هوایی، اندام زیرزمینی و سایر به این تحقیق اضافه و مورد ارزیابی قرار گرفتند.

ترکیبات فعال از برگ‌ها، ریزوم‌ها و اسانس‌های *A.calamus L.* در مطالعات قبلی جداسازی و شناسایی شده، آلفا و بتا آسارون اجزای فعال زیستی غالب و تشکیل دهنده بوده و اثرات دارویی همچون ضد میکروبی، ضد دیابت و سمیت ژنتیکی مرتبط با آنها می‌باشد (۳۳). در مطالعه‌ی اخیر gamma.-Asarone (۲/۴۹ درصد) و beta.-Asarone (۳۰/۶۳ درصد) در اندام هوایی گزارش شد.

Gholipour و همکاران در مطالعه روی نمونه‌های گیاه *Acorus calamus* مطالعه‌ای انجام دادند و نتایج حاصل از تحلیل واریانس مولکولی (AMOVA) نشان داد که ۹۴ درصد تغییرات ژنتیکی یافت شده مربوط به درون گروه‌ها و ۶ درصد در بین گروه‌ها بود. مطابق شاخص‌های محاسبه شده، میزان تنوع ژنتیکی نمونه‌های باززایی شده گیاه وج در مقایسه با نمونه‌های طبیعی بیشتر بود. کمترین میزان واگرایی ژنتیکی بین نمونه‌های طبیعی و باززایی شده در جمعیت الندان مشاهده گشت، لذا گیاهان این جمعیت برای اهلی‌سازی و پرورش در ایران می‌تواند مناسب باشد (۳۴) و در این مطالعه از لحاظ فراوانی نمونه‌ها، در اکوتیپ F4 (الندان) کمتر، بعد F3 و F2 بیشترین و در دسترس بوده‌اند و نمونه‌ی زراعی هم در گلخانه F1 موجود بوده است.

گیاه وج در طب آیورودا (Ayurvedic medicine)، طب سنتی هندوستان (Siddha)، یونانی و چینی و برای درمان بیماری های مختلف مانند کاهش اشتها، برونشیت، درد قفسه سینه، قولنج، گرفتگی عضلات، اختلالات گوارشی، نفخ، گاز، سوء هاضمه، روماتیسم، آرام‌بخش، سرفه، برونشیت، التهاب، تومور، هموروئید بیماری‌های پوستی، بی‌حسی، ناتوانی عمومی و اختلالات عروقی و غیره استفاده می‌شد. نظر به مطالعه‌ی Rajput و همکاران، ترکیبات فعال از برگ‌ها، ریزوم‌ها و اسانس‌های *A.calamus L.* جدا شده و مشخص شده و از اجزای تشکیل‌دهنده، آلفا و بتا آسارون اجزای فعال زیستی غالب هستند و اثرات دارویی همچون ضد سرطان و جهش‌زایی از گیاه و ترکیبات_بتا و آلفا آسارون_گزارش شده است (۳۳). اثر داروئی و ضد میکروبی گیاه وج نیز گزارش گردید و می‌تواند ناشی از وجود مواد و ترکیبات موثره و دارویی آن باشد.

در مطالعه‌ی Gholipour و همکاران، ترکیبات شیمیایی اسانس اندام هوایی سه جمعیت گیاه دارویی اگیر ترکی در ایران بررسی شد در مجموع ۴۱ ترکیب شیمیایی در اسانس شناسایی شد. مطالعه‌ی حاضر با آن هم‌خوانی داشته (هم‌چون ترکیبات Caryophyllene، Asarone، Farnesene، Acorenone) و البته در مجموعه آزمایشات این پروژه و پس از چند سال و تغییرات محیطی و آب و هوایی صورت گرفته بصورت جامع‌تر و با افزایش نمونه اندام زیرزمینی و هوایی و نیز منطقه در سطح ۴ اکوتیپ به بررسی فیتو شیمیایی اسانس‌ها پرداخت و مواد بیشتری شناسایی و گزارش گردید. اندام زمینی ۴ اکوسیستم در مجموع ۴۰۷ Peak Number (با میانگین۱۰۱/۷۵) و در اندام هوایی در مجموع ۴۴۶ Peak Number (با میانگین ۱۱۵/۵) گزارش شد. اندام زیرزمینی و هوایی منطقه‌ی جغرافیایی F1(رودپشت) با کمترین تعداد پیک با مجموع ۱۵۹ (میانگین۷۹/۵) و بیشترین تعداد مربوط به رویشگاه F4 (الندان-ازنی) با مجموع ۲۵۹ (میانگین ۱۲۹/۵) بوده است (۳۵).

در تحقیقات Parki و همکاران، تغییرات فصلی در ترکیبات اسانس گیاه وج با هدف انجام غربالگری فیتوشیمیایی با استفاده از آنالیز GC/MS، فصلی و ارتفاعی از سه نقطه بررسی شد α-asarone، β-asarone و linalool نیز همانند این پژوهش گزارش گردید و لذا گیاه می‌تواند به عنوان منبع خوبی از ترکیبات زیست فعال به عنوان یک آنتی‌اکسیدان برای جلوگیری از زوال اکسیداتیو در غذا عمل نماید (۳۶) که با این مطالعه همخوانی داشت.

نتایج پژوهش حقیرالسادات و همکاران در سال ۲۰۲۲ نشان داد که اسانس رازیانه با نام علمی Foeniculum vulgare در غلظت‌های مختلف می‌تواند اثرات ضد تکثیری قابل توجهی بر رده‌های سلولی MCF-7 سرطان پستان و A2780، سرطان تخمدان داشته باشد (۱۴).

عملکرد ضد اکسایشی گیاه بومادران با نام علمی Achillea wilhelmsii L در سال ۲۰۱۱ صورت پذیرفت گیاه از رویشگاه طبیعی تهیه، شناسایی، و خشک کردن و عصاره‌گیری صورت پذیرفت IC50 برای فعالیت مهار رادیکال DPPH به میزان 58.9±2.7 µg/ml-1 بوده که عملکرد بهتری نسبت به گیاه این مطالعه داشته است (۷).

در مطالعه‌ی Assaggaf و همکاران، سنجش‌های ضد اکسایشی آزمایشگاهی با استفاده از روش‌های مهار رادیکال DPPH و ABTS و نتایج طیف‌سنجی جرمی کروماتوگرافی گازی (CG-MS) همچون مطالعه حاضر و بر روی *Acorus calamus L.* نیز بررسی شدند. آسارون‌ها جزء اصلی گیاه عنوان شدند که با این مطالعه همخوانی داشت، لذا گیاه وج، ترکیبات و روغن آن می‌تواند به عنوان فرمول‌های طبیعی جدید مفید در مواد غذایی و زیست‌داروها یا داروهای زیستی توسعه یابد (۱۷).

فعالیت ضد اکسایشی گیاه Acorus توسط Lu و همکاران در سال ۲۰۱۶ انجام شد. در بحث بهبود یادگیری و حافظه، به ویژه بیماری آلزایمر (AD) بیماری پیش‌رونده که تحلیل برنده‌ی مغز بوده و باعث مختل شدن شدید فکر و حافظه می شود که بیماری تخریب کننده‌ی عصبی بوده و درمان مؤثری در دسترس نداشته و بیش از ۳۵ میلیون نفر در سراسر جهان را تحت تأثیر قرار داده است وج یک گیاه پزشکی سنتی چینی بوده که از ریزوم‌های آن برای درمان بیماری‌های تخریب‌کننده عصبی مانند آپوپلکسی و زوال عقل، فرامو شی، صرع استفاده می‌شود. لذا جستجو برای ترکیبات زیست فعال در درمان

بیماری AD به طور فزاینده‌ای ضروری است (۳۷). در مطالعات قبلی، بیشتر روی ریزوم کار شده و تحقیق حاضر علاوه بر اندام زیرزمینی روی اندام هوایی و در۴ جمعیت بررسی صورت پذیرفت و این موضوع تأیید شد و همسو بوده است.

در تحقیقات Fathi و همکاران در سال ۲۰۲۳ عملکرد فعالیت ضد اکسایشی (IC50 DPPH) اندام هوایی ازمک (Cardaria draba Lepidium draba L/ L) ۲/۳ µg ml-1 ± ۴۰۳ و زیرزمینی µg ml-1 ۳/۱ ± ۵۵۵ بوده که عملکرد آنتی‌اکسیدانی اندام هوایی و زیرزمینی گیاه وج در این مطالعه بهتر بوده است و لذا می توان برای استفاده به عنوان یک ترکیب و ضداکسایش طبیعی، عامل ضد میکروبی و دارو در صنعت و پزشکی بیشتر مورد مطالعه و استفاده قرار داد (۳۸).

تنوع شیمیایی و بیولوژیکی برگ و ریزوم گیاه *Acorus calamus L.* در کشور ترکیه توسط Süzgeç-Selçuk در سال ۲۰۱۷بررسی شد (۳۹) β-asarone، sesquiterpene، shyobunone، camphor، camphene، limonene، β-ocimene از ترکیبات اصلی بودند و فعالیت بیولوژیکی و اثرات آنتی‌اکسیدانی خوبی گزارش شد و عملکرد اندام هوایی بهتر بود و با مطالعه‌ی حاضر و با مجموع عملکرد همخوانی داشت.

مطالعه‌ی Hasanah و همکاران در کشور آسیایی اندونزی (۲۰۲۳) نیز در این راستا و بررسی به صورت شناسایی ترکیبات شیمیایی و پتانسیل آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ی برگ و ریزوم وج بوده که اثر ریزوم بهتر از برگ بوده (۱۳۷/۹ mg/L و ۹۶) و در مطالعه‌ی حاضر نیز بهترین عملکرد مربوط به نمونه زیرزمینی ارزفون (۲۲۲/۱۶۱۱ و ۲۲۶/۳۸۱) بوده است (۴۰).

نتیجه‌گیری

پس از تحقیق، مراجعه و بازدید در اکوتیپ‌های مختلف در ایران، گیاه مورد نظر در برخی رویشگاه‌ها و آب‌بندان و دریاچه‌های استان مازندران یافت و مورد واکاوی قرار گرفت. گیاه سوسن صغیر (*Acorus calamus L.*) بیشتر از طریق تولید مثل غیرجنسی و از طریق ریزوم تکثیر می‌گردد. تنوع ژنتیکی و مورفولوژیکی یا ریخت شناسی بین نمونه‌های طبیعی وجود داشته است در سازگاری گیاه با شرایط زیستگاهی متغیر و بقاء آن تأثیر دارد. ارتفاع جمعیت منطقه الندان و پلسک دارای بیشترین اختلاف و ارتفاع از سطح دریا بوده‌اند. مسافت از دریا و شهر، به ترتیب اکوسیستم F1 در نزدیکترین فاصله، F2، F3 و F4در دورترین نقطه بوده است. مشاهده میکرو سکوپی و بررسی آناتومیکی از اندام‌های گیاه با مطالعات معتبر دیگر محققین همخوانی داشته است. تنوع در زیست بوم و مشخصات منطقه رویش مهم بوده و بر مواد مؤثره، عملکرد دارویی و اثرات درمانی گیاه تأثیر دارد.

میزان و نوع ترکیبات اسانس جمعیت‌های ایرانی گیاه اگیر ترکی (رودپشت، ارزفون، پلسک و الندان) با همدیگر و نیز با نمونه‌های جمعیت‌های سایر نقاط جهان متفاوت هستند، که احتمال دارد عوامل ژنتیکی و تغییر رویشگاه گیاه، ارتفاع از سطح دریا و آب و هوای رویشگاه‌ها و خاک و آب اکوتیپ‌ها، بر میزان و نوع ترکیبات شیمیایی این گیاهان زیستگاه‌ها تأثیر داشته باشد و لذا انجام دیگر مطالعات مرتبط ضرورت خواهد داشت. اندام زیرزمینی میزان اسانس و بازده بیشتری نسبت به اندام هوایی داشته و اکوسیستم F4 بیشترین مجموع بازده اندام زمینی و هوایی را دارا بوده است. مقادیر ترکیبات شیمیایی اسانس F2B و F1A عملکرد قوی‌تری داشته و اندام زیرزمینی اکوتیپ۱ بهتر بوده است. اندام زمینی ۴ اکوسیستم در مجموع Peak Number۴۰۷ (با میانگین ۱۰۱/۷۵) و در اندام هوایی در مجموع Peak Number ۴۴۶ (با میانگین ۱۱۵/۵) گزارش شد. اندام زیرزمینی و هوایی منطقه‌ی جغرافیایی F1 (رودپشت) با کمترین تعداد پیک با مجموع ۱۵۹ (میانگین ۷۹/۵) و بیشترین تعداد مربوط به رویشگاه F4 (الندان-ازنی) با مجموع ۲۵۹ (میانگین ۱۲۹/۵) بوده است. کمترین تعداد پیک نامبر مربوط نمونه اسانس F1B (اندام هوایی منطقه ۱ به تعداد ۷۹ مورد) بیشترین تعداد پیک نامبر مربوط نمونه اسانس F4A (اندام زیرزمینی اکوسیستم۴به تعداد ۱۳۸ مورد) بوده است. از اندام زیرزمینی ترکیباتی همچون Epishyobunone، alpha-Selinene، β-Camphene، Gurjunene، Acorenone، Isoshyobunone، β-Aromandendrene، Cedrene، Cadalene و سایر ترکیبات و در انوام هوایی ترکیبات-beta. Asarone، Acorenone، alpha.-Selinene، Caryophyllene، Isoshyobunone و سایر ترکیبات گزارش گردید.

بین اندام زیرزمینی این ۴ جمعیت گیاهی، اندام زیرزمینی اکوتیپ ارزفون (F2A_Ab) کمترین مقدار و لذا دارای اثر بهتر، و برای اندام هوایی ۴ منطقه، عصاره‌ی هوایی جمعیت رودپشت (F1B_Ab) بهترین عملکرد را داشته است و در مجموع یک اکوسیستم ارزفون (F2) اثر بهتری نسبت به سایر داشته است؛ مجموع میزان مقادیر اندام هوایی کمتری داشته‌اند لذا اثر بیشتر و مطلوب‌تری داشته‌اند. بررسی عملکرد بیولوژیکی عصاره های مختلف اندام های گیاه وج در جمعیت‌های چهارگانه نشان داد، رادیکال‌های آزاد بیماری‌زا بوده و برای بدن و سلامتی مخاطره‌انگیز می‌باشند. ضداکسایش‌ها می‌توانند آنها را مهار کنند و روی‌شان اثر بگذارند لذا گیاه وج که دارای اثرات ضد اکسایشی خوبی بوده می‌تواند در درمان سرطان مفید بوده و به عنوان ضد سرطان باشد. بنابراین اسانس و عصاره‌ی آبی استخراج شده از گیاه وج دارای ترکیبات مشخصی با فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی بالایی بوده که در درمان بسیاری از بیماری‌ها و اختلالات بدن دارای پتانسیل و کارساز می‌باشد.

تشکر و قدردانی

در انتها از حمایت‌ها و مشاوره‌های مجموعه دانشگاه علوم پزشکی مازندران (و معاونت تحقیقات و فناوری، مرکز تحقیقات علوم داروئی و دانشکده داروسازی ساری) و دانشگاه پیام نور تهران و ساری، آقای دکتر بهمن ا سلامی، خانم دکتر سرور فروغیان، دکتر شهرام ا سلامی، خانم فاطمه فرجی (مو سسه سمن زیست فناوران پژوهان سلامت ایرانیان/ هلال احمر استان مازندران_ساری) و همچنین فرنام فتحی، فرنوشا فتحی، آقای حمید فتحی، خاتم عشرت سعادتی و نیز آقای حسین فرجی و خانم سکینه جعفری بابت حمایت، همکاری در پروژه، تهیه‌ی نمونه های گیاهی، تدوین و انجام تحقیق، مراحل آزمایشگاهی، تحلیل، جمع‌بندی و چاپ بعد از اهتمام و تلاش زیاد نگارنده و گروه مقاله و نیز از آزمایشگاه جامع تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی مازندران بابت همکاری در بخش دستگاهی GcMass تشکر می‌شود و امید است مطالب و نتایج مفید واقع گردد و نویسندگان این مطالعه، افراد و یا دستگاه‌ها تعارض منافعی برای انتشار این مقاله ندارند.

References

1. Singh R, Sharma PK, Malviya R. Pharmacological properties and ayurvedic value of Indian buch plant (Acorus calamus):a short review. Journal of Biological Research 2011; 5(3): 145-54.
2. Kumar A, Kumar P, Kumar V, Kumar M. Traditional uses of wetland medicinal plant Acorus calamus: review and perspectives. International Referred Online Research Journal 2014; 2(5): 37-67
3. He X, Chen X, Yang Y, Liu Y, Xie Y. Acorus calamus var. angustatus Besser: Insight into current research on ethnopharmacological use, phytochemistry, pharmacology, toxicology, and pharmacokinetics. Phytochemistry 2023; 210: 113626.
4. Mikami M, Takuya O, Yoshino Y, Nakamura S, Ito K, Kojima H, et al. Acorus calamus extract and its component α-asarone attenuate murine hippocampal neuronal cell death induced by l-glutamate and tunicamycin. Biosci Biotechnol Biochem 2021; 85(3): 493-501.
5. Sharma V, Singh I, Chaudhary P. Acorus calamus (The Healing Plant): A review on its medicinal potential, micropropagation and conservation. Nat Prod Res 2014; 28(18): 1454-66.
6. Fathi H, Mogharabi Manzari M, Ebrahimi M A, Bakhshi Khaniki G, Gholipour A. Phytochemical and biological effects of Acorus calamus(Acoraceae) in traditional medicine and laboratory and clinical studies and health products [in Persian]. J MazandaranUniv Med Sci 2023; 33(224): 192-206.
7. Fathi H, Lashtoo Aghaee B, Ebrahimzadeh MA. Antioxidant activity and phenolic contents of Achilleawilhemsii. Pharmacologyonline 2011; 2: 942-9.
8. Ghasemi K, Bolandnazar S, Tabatabaei SJ, Pirdashti H, Arzanlou M, Ebrahimzadeh MA, et al. Antioxidant properties of garlic as affected by selenium and humic acid treatments. New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science 2015; 43(3): 173-81.
9. Burhan AM,Abdel-Hamid SM, Soliman ME, Sammour OA. Optimisation of the microencapsulation of lavender oil by spray drying. J Microencapsul 2019; 36(3): 250-66.
10. Bensignor E, Fabriès L, Bailleux L. A split-body, randomized, blinded study to evaluate the efficacy of a topical spray composed of essential oils and essential fatty acids from plant extracts with antimicrobial properties. Vet Dermatol 2016; 27(6): 464-e123.
11. Da Silva Correa H, Blum CT, Galvão F, Maranho LT. Effects of oil contamination on plant growth and development: a review. Environ Sci Pollut Res Int 2022; 29(29): 43501-15.
12. Zhou XR, Liu Q, Singh S. Engineering nutritionally improved edible plant oils. Annu Rev Food Sci Technol 2023; 14(1): 247-69.
13. Tarighati H, Raftani Amiri Z, Esmailzadeh Kenari R. Antioxidant effect of Mentha pulegium leaf extract on oxidative stability in soybean oil [in Persian]. Journal of food science and technology (Iran) 2019; 16(92): 143-52.
14. Haghiralsadat BF, Naderifar M, Nikounahad-Lotfabadi N. Investigating the antioxidant and anti-proliferative activity of Foeniculum vulgare seed essential oil on MCF-7 breast cancer cell line and A2780 ovarian cancer cell line [in Persian]. Armaghan –e-Danesh 2022; 27(4): 418-29.
15. Yarley OP, Kojo AB, Zhou C, Yu X, Gideon A, Kwadwo HH, et al. Reviews on mechanisms of in vitro antioxidant, antibacterial and anticancer activities of water-soluble plant polysaccharides. Int J Biol Macromol 2021; 183: 2262-71.
16. Djarkasi GS, Lalujan LE, Nurali E, Sumual MF. Antioxidant activity of karimenga (Acorus calamus). AIP Conf. Proc 2019; 2155: 020051.
17. Assaggaf H, Jeddi M, Mrabti HN, Ez-Zoubi A, Qasem A, Attar A, et al. Design of three-component essential oil extract mixture from Cymbopogon flexuosus, Carum carvi, and Acorus calamus with enhanced antioxidant activity. Sci Rep 2024; 14(1): 9195.
18. Ebrahimzadeh MA, Fathi H, Ziar A, Mohammadi H. Attenuation of brain mitochondria oxidative damage by Albizia julibrissin Durazz: neuroprotective and antiemetic effects. Drug Chem Toxicol 2019; 42(2): 122-9.
19. Farzaneh S, Rezaei S, Fathi H, Mogharabi-Manzari M, Salehipour M. A review of the biochemical and pathophysiological properties of curcumin [in Persian]. J Mazandaran Univ Med Sci 2024; 34(231): 83-101
20. Nabili M, Moazeni M, Hedayati MT, Aryamlo P, Gohar AA, Madani SM, et al. Glabridin Induces Over-expression of Two Major Apoptotic Genes, MCA1 and NUC1, in Candida albicans. J Glob Antimicrob Resist 2017; 11: 52-56.
21. Abolfazli S, Foroumand S, Mohammadi E, Ahangar N, Kheirandish A, Fathi H, et al. Brain mitochondrial damage attenuation by quercetin and N-acetyl

cysteine: peripheral and central antiemetic effects. Toxicol Res (Camb) 2024; 13(5): tfae139.
22. Vazini H, Rahimi Esboei B, Abedian R, Ghorbani A, Fathi H. Comparing the effect of hydroalcoholic extract of rosemary and metronidazole in treating infection caused by giardia lamblia in mice under in vivo conditions [in Persian]. J Babol Univ Med Sci 2017; 19(6): 7-13.
23. Mahmoudi M, Ebrahimzadeh MA, Abdi M, Arimi Y, Fathi H. Antidepressant activities of Feijoa sellowiana fruit. Eur Rev Med PharmacolSci 2015; 19(13): 2510-3.
24. Fathi H, Ebrahimzadeh MA, Ziar A, Mohammadi HR. Oxidative damage induced by retching; antiemetic and neuroprotective role of Sambucus ebulus L.Cell Biol Toxicol 2015; 31: 231-9.
25. Zhang X, Sun X, Miao Y, Zhang M, Tian L, Yang J, et al. Ecotype division and chemical diversity of cynomorium songaricum from different geographical regions. Molecules 2022; 27(13): 3967.
26. Brochot A, Guilbot A, Haddioui L, Roques C. Antibacterial, antifungal, and antiviral effects of three essential oil blends. Microbiologyopen 2017; 6(4): e00459.
27. Saleem S, Kanwal M, Miana GA, Nafees R, Maqsood S, Naeem K, et al. Phytochemical and GCMS approaches to identify active constituents in Erythrina suberosa bark extract and evaluation of its therapeutic potency. Pak J Pharm Sci 2021; 34(6): 2227-33.
28. Motevalli-Haghi F, Fathi H, Ebrahimzadeh MA, Eslami Sh, Karamie M, Eslamifar M, et al. Evaluation of Phytochemical, Total Phenolic and Flavonoid content, Antioxidant Activities, and Repelling Property of Sambucus ebulus. Journal of Medicinal Plants and By-products 2020; 1: 97-105.
29. Safaii L, Najafpoor Navaii M, Sharifi Ashoorabadi E, Mirza M, Aminazarm D. The evaluation of yield traits and oil components in three population of Ziziphora tenuir L. Crop Production Journal 2022; 14(4): 141-56.
30. Seago Jr JL, Fernando DD. Anatomical aspects of angiosperm root evolution. Annals of botany 2013; 112(2): 223-38.
31. Gholipour A, Kazemitabar SK, Ramzanpour H. A comparative study on Acorus calamus (Acoraceae)micropropagation and selection of suitable population for cultivation in Iran. Acta Biologica Szegediensis 2021; 65(1): 29-34.
32. Gholipour A. Chromosome number variation in Iranian populations of Acorus calamus. Journal of Genetic Resources 2019; 5(1): 17-21.
33. Rajput SB, Tonge MB, Karuppayil SM. An overview on traditional uses and pharmacological profile of Acorus calamus Linn. (Sweet flag) and other Acorus species. Phytomedicine 2014; 21(3): 268-76.
34. Gholipour A, Kazemitabar SK, Sharifi Soltani S. Study of genetic diversity of wild and regenerated accessions of acorus calamus(Acoraceae)by ISSR Markers [in Persian]. Plant Genetic Researches 2021; 7(2): 109-18.
35. Gholipour A, Sonboli A, Golshahi M. Comparative study of essential oil composition of the aerial parts of three populations of Acorus calamus in Iran. J Med Plants 2015; 4(56): 87-94.
36. Parki A, Chaubey P, Prakash O, Kumar R, Pant AK. Seasonal variation in essential oil compositions and antioxidant properties of Acorus calamus L.Accessions. Medicines (Basel) 2017; 4(4): 81.
37. Lu Y, Xue Y, Chen S, Zhu H, Zhang J, Li XN, et al. Antioxidant lignans and neolignans from Acorus tatarinowii. Sci Rep 2016; 6(1): 22909.
38. Fathi H, Ebrahimzadeh MA, Ahanjan M, Shokri F, Jafari H, Eslami S, et al. Antioxidant capacity, chromatographic analysis of phenolic compounds and anti-microbial effects of Cardaria draba growing in Iran. Int J Pharm Sci Res 2023; 14(1): 373-80.
39. Süzgeç-Selçuk S, Özek G, Meriçli AH, Baser KH, Haliloglu Y, Özek T. Chemical and biological diversity of the leaf and rhizome volatiles of Acorus calamus L. from Turkey. Journal of Essential Oil Bearing Plants 2017; 20(3): 646-61.
40. Hasanah M, Hilma H, Munarsih E, Nia DH. Identification of Chemical compounds, Total phenolic compounds content and Antioxidant potential of Acorus calamus L. Leaves and rhizomes extract. InInternational Conference on Universal Wellbeing (ICUW) 2023; 1(1): 1-7.

DOI: *10.48305/jims.v43.i810.0346*

Journal of Isfahan Medical School **Vol. 43, No. 810, 3rd Week, April 2025**

Received: 18.01.2025 Accepted: 08.04.2025 Published: 05.06.2025

Evaluation of the Geographical and Anatomical Structure of Different Ecotypes of Medicinal Plant *Acorus Calamus L*, and Investigating the Phytochemical Performance of the Essential Oil and the Biological Activity of Extracts from the Plant Organs of Habitats

Hamed Fathi[1,2], Gholamreza Bakhshi Khaniki[3], Mehdi Mogharabi Manzari[4], Abbas Gholipour[5], Mohammad Ali Ebrahimi[6]

Original Article

Abstract

Background: Their growing place in ecotypes, preparation, research and processing are important. The plant with the scientific name Acorus calamus L. has extraordinary properties that have been emphasized by Iranian scientists such as Avicenna, Zakaria Razi and Alavi Khorasani Shirazi. Preparing, identifying and studying it has been neglected due to the difficulty of the work and the suspicion that this plant does not exist in Iran and the first comprehensive and review article on Vaj in Iran has been done by the authors of this research. This study was carried out with the aim of conducting and aggregating various investigations and experiments in order to know more about this plant in terms of the properties and medicinal effects of its essential oil and extract.

Methods: Following comprehensive and field studies of different ecotypes of *A.calamus* in Iran, from 4 habitats in Mazandaran province (Rudpusht_Geleh Kola Sofla,Kordkheil_(F1), Arzefun_(F2), Plesk (F3) and Alendan–Azni_(F4) was prepared. The stages of drying, herbarium, anatomical and morphological identification, extraction of essential oil and investigation of its phytochemical function, preparation of extracts and investigation of biological activity of plant organs (aerial and underground) from different regions were evaluated.

Findings: After finding the herbarium and geographical information of *A.calamus* and the results of examining the morphological and anatomical characteristics of its different organs were presented in this project. The efficiency of the essential oil in the underground organ has been higher than in the aerial one. The total amount of essential oil extracted from the underground and aerial organs was the highest in F4 ecotype. In 4 ecotypes, 407 peaks (with an average of 101.75) and 446 peaks (with an average of 115.5) were reported from the essential oils of underground and aerial organs, respectively, and medicinal compounds such as asarone, celine, camphene and epishyobunone were observed. The antioxidant activity of the aqueous extracts of the leaves was significant in different populations, and the best performance was related to the aqueous extract of the underground part of the plant in the F2 population with an IC50 of 222.1611 ± 3.74 mg/ml.

Conclusion: Diversity in the ecosystem and characteristics of the growing area is important and affects the medicinal performance of plants. The chemical compounds of the essential oil F2B and F1A had a stronger performance, and in the extract, the ecosystem F2 was better. Overall, the plant organs had good effectiveness and performance and could be useful as an effective medicinal plant and a strong antioxidant (cancer prevention), which requires further laboratory, animal and clinical studies.

Keywords: *Acorus calamus L*, Ecotype, Anatomical and Geographical Anatomical characteristics, Essential oil, Phytochemical function, Biological activity.

Citation: Fathi H, Bakhshi Khaniki Gh, Mogharabi Manzari M, Gholipour A, Ebrahimi MA. **Evaluation of the Geographical and Anatomical Structure of Different Ecotypes of Medicinal Plant Acorus Calamus L, and Investigating the Phytochemical Performance of the Essential Oil and the Biological Activity of Extracts from the Plant Organs of Habitats.** J Isfahan Med Sch 2025; 43(810): 346-62.

1 -Researcher, Pharmaceutical Sciences Research Center, Faculty of Pharmacy, Institute of Herbal Medicines and Metabolic Disorders, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
2- PhD in Plant Biology, Department of Biology, Payame Noor University, Tehran, Iran
3- Professor, Department of Biology, Payame Noor University, Tehran, Iran
4- Assistant Professor, Pharmaceutical Sciences Research Center, Hemoglobinopathy Institute, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
5- Associate Professor, Department of Biology, Payame Noor University, Tehran, Iran
6- Professor, Department of Agricultural Biotechnology, Payame Noor University, Tehran, Iran
Corresponding Author: Gholamreza Bakhshi Khaniki, -Professor, Department of Biology, Payame Noor University, Tehran, Iran; Email: Bakhshi@pnu.ac.ir