



مقایسه غلظت ترکیب آرتیمیزینین استخراج شده از گیاه آرتیمیزیا اسکوپاریا جمع آوری شده از کرمان و مشهد

ویدا معتمدی

دانشجوی کارشناسی ارشد شیمی آلی، دانشگاه پیام نور مشهد، ایران
motamedi_vida55@yahoo.com

جلیل لاری

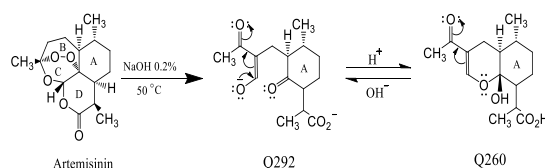
گروه شیمی آلی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه پیام نور مشهد، مشهد، ایران

محمد سرمد نبوی

گروه کشاورزی، دانشگاه پیام نور مشهد، مشهد، ایران

چکیده

معمولاً دو روش پرکولاسیون و سوکسله برای عصاره‌گیری ترکیبات گیاهی به کار می‌رود و روش مایکروویو روش جدیدتری است در این تحقیق با دو روش سوکسیله و مایکروویو استخراج ترکیب آرتیمیزینین از گیاه آرتیمیزیا اسکوپاریا انجام گرفت. با توجه به استخراج آرتیمیزینین از گیاه آرتیمیزیا اسکوپاریا جمع آوری شده از کرمان و مشهد با علاوه بر تنوع اقلیم تفاوت روش کار امکان انتخاب بهترین شرایط را در بین متغیرها، ممکن می‌سازد. با توجه به این که ترکیب آرتیمیزینین جذب خوبی توسط دکتور UV-VIS ندارد لذا این ترکیب را هیدرولیز و به ترکیب Q260 تبدیل نموده (شکل ۱) سپس با استفاده از دستگاه HPLC و داشتن نمونه استاندارد ترکیب آرتیمیزینین کار غلظت‌سنجی را انجام شد [۱-۲].



شکل ۱: چگونگی تبدیل آرتیمیزینین به Q260

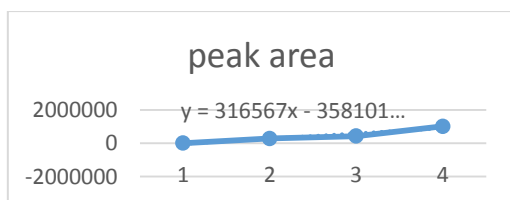
کلیدواژه: آرتیمیزیا اسکوپاریا، آرتیمیزینین، سوکسیله، مایکروویو

۱- مقدمه

برگ گیاه به مقدار ۱۵ گرم در n-هگزان به میزان ۴۰ CC داخل بالن بزرگ قرارداده به طوری که نمونه کاملاً به n-هگزان آغشته گردید و حدود یک سانتی متر حلال روی آن قرار گرفت. درب بالن را با چوب پنبه بسته و پس از ۲۴ ساعت n-هگزان را جدا نموده با قیف بوختر و در مجموع نمونه سه بار با اتر نفت شسته شد (پرکولاسیون). سپس نمونه را از بالن خارج نموده و زیر هود خشک گردید. بعد از چربی‌گیری، مقدار ۵ گرم از پودر گیاه پرکوله شده را داخل کارتوش سوکسیله اضافه نموده و از متانول به عنوان حلال به مقدار ۱۳۰ CC استفاده شد. آنالیز با روش پری کالوم انجام گرفت در این روش هیدرولیز، حجم مورد استفاده برای آنالیز با دستگاه HPLC از عصاره و نمونه‌های استاندارد به حجم برابر خود از محلول NaOH ۲٪ جرمی افزوده شد و در حمام آب قرار گرفت و سپس با استفاده از pH متر و اسید استیک ۰/۸ مولار خنثی و آماده تزریق به دستگاه گردید و قبل از تزریق نمونه‌ها به دستگاه با فیلتر سرسرنگی بیوفیلد صاف شد. از محلول‌های استاندارد آرتیمیزینین خالص هیدرولیز شده در غلظت‌های (ppm) ۲۵ و ۵۰ و ۱۰۰ و ۲۰۰، با سرنگ HPLC، ۱۰ μl برداشته و به دستگاه HPLC تزریق گردید.

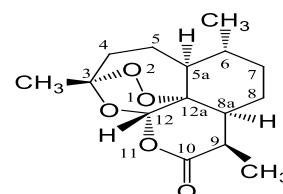
از هر کدام از عصاره‌های هیدرولیز شده مقدار ۵ μl به‌طور جداگانه به دستگاه HPLC تزریق گردید. با مقایسه زمان پیک‌ها در عصاره‌ها با پیک مربوط به نمونه مشتق شده از آرتیمیزینین خالص، پیک مربوط به مشتق آرتیمیزینین در طیف عصاره‌ها شناسایی شد. شدت جذب، زمان بازدارندگی و سطح زیر پیک‌ها از دستگاه مشخص گردید. سطح زیر پیک شناسایی شده در عصاره‌ها، در معادله خط گذاشته شد و غلظت هر پیک در حجم تزریق شده به دست آمد و با تبدیل آن به حجم اولیه عصاره که حاوی ۵g پودر گیاه است، غلظت و درصد جرمی آرتیمیزینین موجود در نمونه‌های مختلف این گیاه بر مبنای ۱۰۰ گرم پودر اندام‌های هوایی خشک شده گیاه به دست آمد.

نمودار ۱: رگرسیون محلول‌های استاندارد با غلظت‌های متفاوت



قدمت شناخت خواص گیاه دارویی گیاهان شاید بیرون از حافظه تاریخ باشد و یکی از دلایل مهم این قدمت، حضور باورهای مردم سرزمین‌های مختلف در خصوص استفاده از گیاهان دارویی است که ناشی از متابولیست‌های ثانویه هستند این ترکیبات، مواد حاصل از سوخت و ساز ثانویه گیاهان هستند که در اثر جذب ازت توسط گیاه تولید می‌شوند، این تولیدات ظاهراً اغلب برای خود گیاه بدون فایده هستند ولی بر عکس اثرات درمانی آن‌ها قابل توجه است. عموماً این مواد در حالت طبیعی به طور خالص یافت نمی‌شوند و به حالت ترکیب با ترکیبات دیگری هستند که به صورت مکمل اثرات آن‌ها را تقویت می‌کنند.

آرتیمیزینین ترکیبی است (شکل ۲) که دارای گروه لاکتون پراکسید در ساختار خود است زمانی که پراکسید در ساختار ماده‌ای باشد در تماس با غلظت بالای آهن مثل سلول‌های سرطانی که در مقایسه با سلول‌های نرمال سطح سلولی بیش‌تری برای گیرنده‌ها دارند باعث رهاسازی گونه‌های اکسیژن فعال و ناپایدار شدن مولکول می‌شود و سلول‌های سرطانی به دلیل کمبود آهن از بین می‌روند [۳]. از دیگر اثرات آرتیمیزینین درمان مالاریا است. نتایج نشان داده است که این ترکیب سریع‌تر از کلروکین موجب حذف انگل از گردش خون بیمار می‌گردد و تب نیز در زمان کوتاه‌تری برطرف می‌شود و تاکنون برای درمان بیش از ۱/۵ میلیون بیمار مبتلا به مالاریا مخصوصاً مالاریا مغزی مورد استفاده قرار گرفته است [۴-۶-۷].



شکل ۲: آرتیمیزینین

۲- شرح آزمایش (یا روش محاسبات)

ابتدا گیاه پودر گردید، نمونه گیاهی معمولاً حاوی مقداری چربی‌های غیرقطبی و کلروفیل می‌باشند. برای جداسازی این مواد،

مشخص گردید. از آن‌ها رگرسیون خطی گرفته و معادله خط به دست آمد.

متغیرهای مورد بررسی در محاسبه درصد جرمی آرتیمیزین جمع آوری شده عبارت بودند از تنوع محل رویش و تاثیر آن بر غلظت ترکیب آرتیمیزین و هم‌چنین بررسی روش‌های سوکسیله و مایکروویو و تاثیر آن بر میزان استخراج ترکیب آرتیمیزین.

با توجه به بررسی‌ها و محاسبات انجام گرفته گونه آرتیمیزیا اسکوپاریا جمع آوری شده از مشهد دارای میزان بیش‌تری از ترکیب آرتیمیزین می‌باشد و از طرفی در روش مایکروویو میزان بیش‌تری از ترکیب آرتیمیزین استخراج شد. بنابراین گونه مشهد به روش مایکروویو بهترین حالت ممکن را دارد. بنابراین برای تولید این ترکیب در مقیاس صنعتی می‌توان به بررسی‌هایی از این دست توجه و از آن استفاده نمود.

منابع

- [1] Qian, GP, Yang, YW, Ren, QL, Determination of artemisinin in *Artemisia annua* L. by reversed phase HPLC, *J Liq Chrom relat Tech.* 2005, 28, 705-712.
- [2] Hussain, I, Ullah Khan, F, Khan, L, Ayaz, S, Ullah Khan, I, Analysis of Artemisinin in *Artemisia* Species Using High Performance Liquid Chromatography, IDOSI Publications. 2010, 10, 632-636.
- [۳] اصغرخانی، الناز، اکبرزاده، عظیم، چپانی، محسن، ایرانی، شیوا، اطیابی، محمد. و نوروزیان، داریوش (۱۳۹۱)، بررسی اثر سمیت سلولی آرتیمیزین نانونیوزومه بر رده سلول‌های سرطانی سینه، سال پنجم، شماره چهارم، فصلنامه بیماری‌های پستان ایران، ص ۱۲-۷.
- [۴] آزاد بخت، محمد. و آزاد بخت، مسعود (۱۳۸۷)، داروهای گیاهی ۵ ضد تک یاخته شایع، دوره هجدهم، شماره ۶۷، مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ص ۱۳۲-۱۱۸.
- [۵] حامدی، یعقوب (۱۳۸۵)، مقاومت دارویی مالاریا در ایران، سال دهم، شماره دوم، مجله پزشکی هرمزگان، ص ۹۹-۹۳.
- [۶] ابراهیمی سیقلی، کامبیز (۱۳۸۸)، بررسی اثرات داروی تهیه شده از عصاره گیاه درمنه سبیری بر روی مراحل مختلف سیر تکاملی انگل آیمریا تولا در جوجه‌های گوشتی، تهران: دانشگاه تهران، دانشکده دامپزشکی.
- [۷] رنجبر، مجتبی، نقوی، محمدرضا، علیزاده، هوشنگ، سلطانلو، حسن، زالی، عباسعلی. و تقی زاد فرید، رحیم (۱۳۹۲)، آنالیز بیان نسبی چهار ترپن سنتاز در گونه‌های آرتیمیزیا، دوره هشتم، شماره ۲، ژنتیک نوین، ص ۲۰۶-۱۹۹.

عصاره آرتیمیزیا اسکوپاریا جمع آوری شده از کرمان که پس از چربی‌گیری توسط روش سوکسیله عصاره‌گیری شده بود.

$$(118738+358101)/316567\text{mg/L}\times 2\times 0.015\text{L} \\ \times 1\text{g}/1000\text{mg})/5=9.037\times 10^{-6}$$

مقدار آرتیمیزین برحسب گرم در یک گرم از پودر نمونه خشک گیاه عصاره آرتیمیزیا اسکوپاریا جمع آوری شده از مشهد که پس از چربی‌گیری توسط روش سوکسیله عصاره‌گیری شده بود.

$$(834929+358101)/316567\text{mg/L}\times 2\times 0.015\text{L} \\ \times 1\text{g}/1000\text{mg})/5=2.2611\times 10^{-5}$$

مقدار آرتیمیزین برحسب گرم در یک گرم از پودر نمونه خشک گیاه عصاره آرتیمیزیا اسکوپاریا جمع آوری شده از کرمان که پس از چربی‌گیری توسط روش مایکروویو عصاره‌گیری شده بود.

$$(150842+358101)/316567\text{mg/L}\times 0.05\text{L} \\ \times 1\text{g}/1000\text{mg})/5=1.67\times 10^{-5}$$

مقدار آرتیمیزین برحسب گرم در یک گرم از پودر نمونه خشک گیاه عصاره آرتیمیزیا اسکوپاریا جمع آوری شده از مشهد که پس از چربی‌گیری توسط روش مایکروویو عصاره‌گیری شده بود.

$$(32598+358101)/316567\text{mg/L}\times 2\times 0.05\text{L} \\ \times 1\text{g}/1000\text{mg})/5=2.46\times 10^{-5}$$

مقدار آرتیمیزین برحسب گرم در یک گرم از پودر نمونه خشک گیاه

۳- نتایج و بحث

تحت شرایط بهینه، منحنی‌های کالیبراسیون برای ترکیب آرتیمیزین رسم گردید و منحنی‌ها در غلظت‌های (ppm) ۲۵ و ۵۰ و ۱۰۰ و ۲۰۰، با توجه به مقایسه پیک‌های این چهار تزریق از روی توجه به زمان وقوع پیک‌ها و مساحت زیر پیک‌ها و غلظت‌های تزریق شده، پیک مربوط به مشتق آرتیمیزین