استخراج، خالص‌سازی و شناسایی یک گواینولید از عصارهٔ گیاه دارویی *Artemisia absinthium* Linnaeus در استان اردبیل

فاطمه قدمی[۱]، محبوبه طاهرخانی[۲*]

[۱]دانشجوی کارشناسی‌ارشد، گروه آموزشی فیتوشیمی و شیمی فناوری اسانس، دانشکده شیمی دارویی، واحد علوم دارویی دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

[۲]استادیار، گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، واحد تاکستان، دانشگاه آزاد اسلامی، تاکستان، ایران

تاریخ دریافت: ۹۷/۸/۱۰ : تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۲/۲۸

چکیده

استفاده از گیاهان دارویی و معطر در صنایع داروسازی، آرایشی، بهداشتی و غذایی به شناسایی کمی و کیفی ترکیبات موجود در آنها مربوط می‌شود. در راستای این هدف شناسایی و بررسی‌های گیاه شناسی و فیتوشیمیایی گیاهان اولین گام به‌منظور استفاده کاربردی از آنها می‌باشد. گیاه *Artemisia absinthium* L. متعلق به خانوادهٔ Asteraceae بوده و در گذشته برای درمان درد معده، قلب، بهبود حافظه و بازگرداندن عملکرد ذهنی در طب سنتی مورد استفاده قرار می‌گرفته است. هدف از این تحقیق بررسی فیتوشیمیایی عصارهٔ یک گونه از درمنه‌های ایران به نام افسنطین جمع‌آوری شده از رویشگاه طبیعی آن در استان اردبیل، از نقطه نظر ترکیبات طبیعی می‌باشد. بدین‌منظور ابتدا اندام هوایی گیاه افسنطین در مرحلهٔ گلدهی از منطقه نمین در استان اردبیل واقع در شمال غربی ایران در تیرماه ۱۳۹٤ جمع‌آوری شد و به روش خیساندن در مخلوط سه حلال متانول: دی اتیل اتر: هگزان با نسبت ۱:۱:۱ عصاره گیری و سپس به‌منظور جداسازی هیدروکربن‌ها با زنجیره بلند، عمل چربی‌گیری انجام شد، عصارهٔ حاصل بر روی ستون کروماتوگرافی برده و از نظر ترکیبات متشکله مورد ارزیابی قرار گرفت. پس از بررسی‌های فیتوشیمیایی یک سزکوئی‌ترپن از خانوادهٔ گواینولیدها با استفاده از تکنیک‌های طیف سنجی ^{13}C-NMR، ^{1}H-NMR و DEPT شناسایی و تعیین ساختار مولکولی شد. جامد بلوری با فرمول مولکولی $C_{15}H_{18}O_2$ به‌عنوان یک نوع گواینولید از گیاه *A. absinthium* شناسایی و تعیین ساختار گردید.

واژه‌های کلیدی: استخراج، اردبیل، افسنطین، خالص‌سازی، شناسایی، گواینولید، *Artemisia absinthium* L.

*نویسنده مسئول: mahtaherkhani@yahoo.com

مقدمه

شناسایی و بررسی‌های گیاه شناسی و فیتوشیمیایی گیاهان اولین گام به‌منظور استفاده کاربردی از آنها می‌باشد. به عبارتی توسعه فرآوری گیاهان دارویی و معطر، مستلزم شناخت کافی از ترکیبات طبیعی موجود در اسانس و عصاره گیاهان می‌باشد. عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهان دارویی و اجزای تشکیل‌دهنده آن‌ها دارای اثرات شناخته شده دارویی می‌باشند (Taherkhani, 2016). در عصر حاضر با وجود پیشرفت و توسعه چشم‌گیر کاربرد داروهای سنتزی، هنوز گیاهان دارویی در سطح وسیعی مورد استفاده قرار می‌گیرند (Asgari et al., 2011). گیاه افسنطین[1] یکی از مهمترین گیاهان خانواده کاسنی[2] است که اثرات دارویی و درمانی زیادی داشته اما در عطاری‌های سطح کشور گیاه گل خشک[3] تحت نام افسنطین و به جای گیاه استاندارد عرضه می‌گردد (Iranshahi et al., 2007). گیاه *Artemisia absinthium* یکی از گیاهان دارویی اسانس دار ایران می‌باشد که درختچه‌ای چند ساله است و به علت دارا بودن خواص از بین برندگی کرم روده، اشتها آوری و همچنین داشتن ترکیبات تلخ و معطر از قدیم الایام در طب سنتی مورد استفاده قرار می گرفته است (Mahmoudi et al., 2009). اسانس بدست آمده از این گیاه به علت دارا بودن خواص ضدباکتریایی، ضدتب، ضدباروری و ضدمالاریا در داروسازی استفاده می‌شود و همچنین در معطر کردن برخی نوشیدنی‌ها و غذاها کاربرد دارد. مطالعاتی که قبلا خارج از ایران روی این گیاه صورت گرفته است مربوط به شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس آن، روش بهزراعی، ریزازدیادی و کالوس‌زایی و همچنین تراریزش با آگروباکتریوم رایزوژنز جهت تولید متابولیت‌ای ثانویه بوده است (Rezaeinodehi and Khangholi, 2008).

جنس *Artemisia* متعلق به تیرهٔ گیاهی آستراسه (کمپوزیته) می‌باشد. در ایران حداقل دارای ۳٤ گونه گیاه علفی یک‌ساله و چندساله می‌باشد که درسرتاسر ایران پراکنده شده‌اند. پراکندگی جغرافیایی این جنس در ایران از دشت‌های ساحلی تا ارتفاعات کوهستانی می‌باشد (Msaada et al., 2015). تاکنون تحقیقات بسیار متعددی بر روی ترکیبات متشکلهٔ روغن اسانسی و عصارهٔ جنس آرتمیزیا صورت گرفته و ترکیبات طبیعی متنوعی نظیر ترکیبات مونوترپنی، سزکوئی ترپنی، فلاونوئیدی، کومارینی و غیره با خواص بیولوژیکی و دارویی از این جنس استخراج و شناسایی شده است (Rustaiyan and Masoudi, 2011). امروزه با توجه به افزایش سطح آگاهی و نگرانی‌های عمومی در خصوص عوارض داروهای سنتزی و نگهدارنده‌های شیمیایی موجود در مواد غذایی نظیر نیتریت و نیترات‌ها در فرآورده‌های گوشتی، تمایل به مصرف محصولات فاقد نگهدارنده و یا با نگهدارندهٔ طبیعی رو به افزایش است. بنابراین در سال‌های اخیر مطالعات زیادی پیرامون نگهدارنده‌های طبیعی مانند روغن‌های اسانسی و عصاره‌های گیاهی صورت گرفته است (Taherkhani and Rustaiyan, 2016). از جمله این گیاهان می‌توان به نوعی گیاه بومی ایران به نام افسنطین اشاره کرد. این گیاه در ایران غالباً در اطراف تهران، اردبیل، آذربایجان، خراسان و گیلان یافت می‌شود. در پزشکی سنتی ایران، از دم کرده این گیاه برای درمان نارسایی کبد، گلودرد، عفونت گوش، یبوست و اسهال مزمن و در التیام زخم‌ها و همچنین به‌عنوان داروی ضدکرم و ضدعفونی‌کننده استفاده می‌شود (Taherkhani, 2013). روغن اسانسی گیاه

1. *Artemisia absinthium* L.
2. Asteraceae
3. *Helichrysum oligcephalum* DC.

A. absinthium در مقابل سویه‌های استافیلوکوکوس بسیار فعال است (Samarth, et al., 2006).

افسنطین گیاهی پایا از منطقه ایرانی-تورانی و خزری می‌باشد که در اروپا، ترکیه، ایران، آسیای مرکزی، سیبری و افغانستان پراکندگی دارد. در طب سنتی برای تسکین دردهای مزمن، یرقان، نقرس، برونشیت، مالاریا، سیاه سرفه، زخم‌های لثه و دهان، سوزش معده و قلب، درد عصبی، التهاب، سرخک، تب و راش مورده استفاده قرار می‌گرفته است (Rustaiyan and Taherkhani, 2015). امروزه نیز در درمان رماتیسم، رفلکس‌مری، دردهای قلبی، دیابت ملیتوس، مالاریا، هپاتیت، عفونت‌های قارچی، باکتریایی، ویروسی (از جمله هرپس سیمپلکس) لیشمانیوز و تنگی نفس کاربرد دارد. مطالعات فیتوشیمیایی حضور فلاونوئیدها، استروئیدها، ترپنوئیدها، ساپونین‌ها، تانن‌ها و روغن‌های فرار را در گونه‌های مختلف درمنه و از جمله افسنطین نشان می‌دهند (Martín et al., 2011). گیاه *A. absinthium* نقش حفاظتی در برابر اکسیداسیون لیپید دارد (Kharoubi et al., 2008).

گواینولید[1] یا سزکویی‌ترپن لاکتون[2] گروهی از ترکیبات شیمیایی می‌باشد که باعث واکنش‌های حساسیتی (آلرژی) می‌شود و در گیاهانی پیدا شده است که نام برخی از این گیاهان شامل؛ گل داودی[3]، عاقرقرها (بابونه گاوی)[4]، پیر بهار (نوعی ابروسیا)[5]، درمنه[6]، خاراگوش (افسنطین)[7]، گل راسن[8]، گل انبه (گل بداغ)[9]، بابونه[10] و کنگر فرنگی (انگنار)[11] می‌باشد (Kazemi et al., 2010). با توجه به نگرانی مصرف‌کنندگان و متولیان بهداشتی در مورد استفاده از نگهدارنده‌های شیمیایی و مضرات آن‌ها، در سال‌های اخیر تولیدکنندگان مواد غذایی به استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی به خصوص گیاهان دارویی در مواد غذایی گرایش پیدا کرده‌اند. افسنطین یکی از گیاهان دارویی بومی کشور بوده که از گذشته دیرباز از خواص درمانی آن استفاده می‌شده است (Konowalik and Kreitschitz, 2012). مطالعات متعددی روی ترکیبات این گیاه در مناطق مختلف ایران و جهان صورت گرفته است. با توجه به اثرات دارویی و فارماکولوژیکی این گیاه، هدف از این مطالعه، بررسی فیتوشیمیایی ترکیبات طبیعی موجود در عصارهٔ گیاه *A. absinthium* جمع‌آوری شده از استان اردبیل می‌باشد.

مواد و روش‌ها

تهیه نمونه گیاه: اندام هوایی گونهٔ گیاهی *Artemisia absinthium* L. در مرحلهٔ گلدهی از منطقه نمین، استان اردبیل در شمال غربی ایران در تیرماه ۱۳۹٤ توسط دکتر ولی الله مظفریان جمع آوری شد. نمونه هرباریومی این گیاه با شمارهٔ ۱۳۰۳۵ در دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی مشهد موجود است. گیاهان جمع‌آوری شده جهت استفاده در مرحله عصاره‌گیری در دمای محیط خشک و سپس آسیاب شدند.

مواد شیمیایی و معرف‌ها: تمامی مواد شیمیایی، معرف‌ها و استانداردهای استفاده شده از شرکت‌های Merck، Sigma-Aldrich و Fluka خریداری شدند. ورق‌های آلومینیومی TLC سیلیکاژل ٦۰ مرک و ستون‌های کروماتوگرافی نیز تهیه شدند. بستر ستون

1. Guaianolide
2. Sesquiterpene lactone
3. Chrysanthemum
4. Pyrethrum
5. Ragweed
6. Sagebrush
7. Wormwood
8. Sneezeweed
9. Marsh elder
10. Chamomile
11. Artichoke

کروماتوگرافی نیز با سیلیکاژل مرک ٦٠ (مش ٤٠٠-۲۳۰) آماده سازی و انجام شده است.

دستگاه‌ها: به منظور تهیهٔ عصاره خشک از دستگاه روتاری مدل EL 131 ساخت کشور آلمان مجهز به حمام آب گرم مدل Buchi٤٦١ استفاده شد و برای اندازه‌گیری محتوای فلاونوییدی از دستگاه اسپکتروفوتومتر فرابنفش مدل PC X-ma۲۰۰۰ ساخت شرکت Human corporation استفاده شد. برای توزین مواد از ترازوی مدل AND HR-۲۰۰ ساخت ژاپن با دقت ٤ رقم اعشار (۰/۰۰۰۱) استفاده گردید. کاغذهای TLC و ستون‌های کروماتوگرافی نیز تهیه شدند. تکنیک‌های طیف سنجی ^{1}H-NMR، ^{13}C-NMR و DEPT توسط دستگاه NMR دانشگاه صنعتی شریف، ساخت شرکت BRUKER آلمان با بکار بردن TMS به عنوان استاندارد داخلی و با قدرت ۵۰۰ مگاهرتز و حلال DMSO گرفته شد.

عصاره‌گیری: پانصد گرم از کل اندام هوایی گیاه، پس از ۷۲ ساعت خشک کردن در مکانی تاریک، با دستگاه خردکن، خرد و به مدت ۷۲ ساعت در مخلوط سه حلال متانول: دی اتیل اتر: هگزان با نسبت ۱:۱:۱ در تانکی در محلی بدون نور به روش ماسراسیون (خیساندن) عصاره گیری شد. مخلوط حاصل با قیف بوخنر و پمپ خلاء صاف و محلول حاصل توسط دستگاه روتاری تبخیر و تغلیظ شد. شیرهٔ ویسکوز و غلیظی به رنگ سبز تیره بدست آمد. به منظور جدا کردن چربی‌ها و ترکیبات اشباع با زنجیره‌های بلند، عمل چربی‌گیری انجام شد (Taherkhani and Rustaiyan, 2016).

چربی گیری: به میزان ۳۰۰ میلی لیتر آب مقطر به همراه عصاره حاصل به دکانتور منتقل گردید. سپس با ۲۰۰ میلی لیتر حلال هگزان مخلوط گردید. سپس با قرار دادن دکانتور در جای ساکن، جداسازی فازها انجام شد. پس از جداسازی کامل، فاز بالایی که فاز هگزان و چربی و هیدروکربن‌های حل شده در آن است جدا و محلول فاز پایین به دکانتور منتقل و به آن ۲۰۰ میلی لیتر هگزان افزوده و مرحله قبلی تکرار شد. فاز پایین مجدداً به دکانتور منتقل شد. ادامه مراحل مشابه با مرحله قبلی صورت گرفت؛ با این تفاوت که از اتیل استات برای حل کردن مواد نیمه قطبی به جای هگزان استفاده شد. فازهای اتیل استات از مرحله چربی گیری توسط دستگاه روتاری تا حصول یک عصارهٔ ویسکوز تغلیظ شد. به عصارهٔ غلیظ مقداری سیلیکاژل همراه با میزان کمی اتیل استات افزوده شد. سپس توسط دستگاه روتاری، فرآیند تبخیر صورت گرفت تا جایی که عصاره کاملاً خشک و جذب سیلیکاژل شد. عصارهٔ حاصل به صورت پودر سبز تیره آماده جداسازی توسط ستون کروماتوگرافی شد (Taherkhani, 2016).

ستون کروماتوگرافی: پس از آماده کردن ستون کروماتوگرافی توسط بستری از دوغاب سیلیکاژل و هگزان، عصاره ای که جذب سیلیکاژل شده بود به ستون افزوده گردید. شست و شوی ستون به ترتیب با هگزان، اتیل استات و متانول انجام گرفت. در نهایت ۲۸ فراکسیون از ستون بدست آمد.

کروماتوگرافی لایه نازک: پس از سه روز از فراکسیون‌های بدست آمده کروماتوگرافی لایه نازک انجام شد. در این مرحله از حلال‌های اتر و هگزان به نسبت ۱ به ۱ استفاده شد. جهت مشاهده لکه بنفش، ورقه TLC زیر لامپ UV برده شد و لکه بنفش در فراکسیون‌های ۸+۹+۱۰ مشاهده گردید.

روش شناسایی و تعیین ساختار مولکولی: جهت شناسایی و تعیین ساختار مولکولی ترکیب طبیعی حاصل از فراکسیون ۸+۹+۱۰ که در TLC دارای لکه مربوط بود، طیف ^{1}H-NMR و ^{13}C-NMR و DEPT گرفته شد.

نتایج

نتایج مربوط به طیف‌های رزونانس مغناطیسی هسته پروتون، کربن و DEPT برای ترکیب جداسازی شده در ادامه آمده است. مشخصات طیفی ترکیب شناسایی شده از گیاه *A. absinthium* در جدول ۱ و ۲ آورده شده است.

جدول ۱: داده‌های مربوط به طیف رزونانسی مغناطیسی هسته پرتون

نوع پروتون	δ (ppm) جابجایی شیمیایی	شکافتگی	J (Hz) ثابت کوپلاژ	انتگرال
H_1	۳/۳۰	m	-	۱
$H_{2\alpha}$	۱/۸۸	m	-	۱
$H_{2\beta}$	۱/۸۱	m	-	۱
$H_{3\alpha}$	۲/٤٤	m	-	۱
$H_{3\beta}$	۲/٤۳	m	-	۱
H_5	۲/۸۸	m	-	۱
H_6	۳/۹٥	t	۹/۲≈	۱
H_7	۲/۹۷	m	-	۱
$H_{8\alpha}$	۱/۳۲	m	-	۱
$H_{8\beta}$	۲/۱۳	m	-	۱
$H_{9\alpha}$	۲/٤۰	m	-	۱
$H_{9\beta}$	۲/۲٥	m	-	۱
H_{13a}	٦/۰٤	d	۳/۳	۱
H_{13b}	٥/٦٤	d	۳/۳	۱
H_{14a}	٥/۰۹	brs	-	۱
H_{14b}	٤/۹۹	brs	-	۱
H_{15a}	٤/۸۷	brs	-	۱
H_{15b}	٤/۷٥	brs	-	۱

طبق جدول ۱ در این ترکیب، هجده نوع هیدروژن وجود دارد که در طیف ^{1}H-NMR مشاهده شد که با الگوی شکافتگی و جابجایی شیمیایی پروتون‌ها قابل تفسیر است. پروتون‌های ۲، ۳، ٥، ۷، ۸ و ۹ که SP^3 بوده و به اتم الکترونگاتیو اکسیژن متصل نیستند به صورت چندتایی در جابجایی کمتر از ۳ppm ظاهر می‌شوند. از طرفی اتم‌ها و یا گروه‌های الکترونگاتیو سبب دشیلد شدن هیدروژن‌ها و جابجایی به طرف میدان پایین تر می‌شود. پروتون ٦ به دلیل اتصال به اتم اکسیژن در جابجایی شیمیایی بالاتری (δ=۳/۹ppm) و به‌دلیل مجاورت با دو پروتون ۷ و ٥ به صورت تریپلت ظاهر شده است. هیدروژن‌های اولفینی ۱۳، ۱٤ و ۱٥ که متصل به کربن با هیبرید SP^2 می باشند در ناحیهٔ ٤/۷ تا ٦ppm ظاهر می شوند. پروتون‌ها و جابجایی‌های شیمیایی و نحوهٔ شکافتگی آنها در جدول ۱ آورده شده است.

فراوانی ایزوتوپ ^{13}C بسیار کمتر از ^{12}C است به همین دلیل در ^{13}C-NMR شدت پیک‌ها کمتر است اما در طیف واجفت شده از پروتون، برای کربن‌های نوع اول که ۳ هیدروژن دارند شدیدتر است و برای کربن‌های فاقد هیدروژن، شدت پیک کمتر خواهد بود. سیگنال ظاهر شده در بالاترین جابجایی شیمیایی مربوط به کربن کربونیل (در گروه لاکتونی) در این

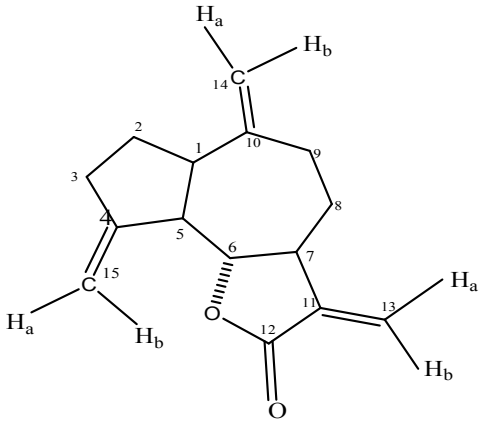
طیف مربوط به کربن ۱۲ می‌شود که پیک آن در ناحیه ۱۷۰ ppm قابل مشاهده است.

جدول ۲: داده‌های مربوط به طیف رزونانسی مغناطیسی هسته کربن

نوع کربن	(PPm)δ
C_1	۳۰/۰۳
C_2	٤٤/٤
C_3	۳٦/۳٥
C_4	۱٥۰/۲
C_5	٥۲
C_6	۸٥/۲
C_7	٤۷/۰٥
C_8	۳۰/۸
C_9	۳۲/٦٦
C_{10}	۱٤۰/۳
C_{11}	۱٥۲/٦
C_{12}	۱۷۰/۰۹
C_{13}	۱۲۰/٤
C_{14}	۱۰۸/۷
C_{15}	۱۱۲/٤

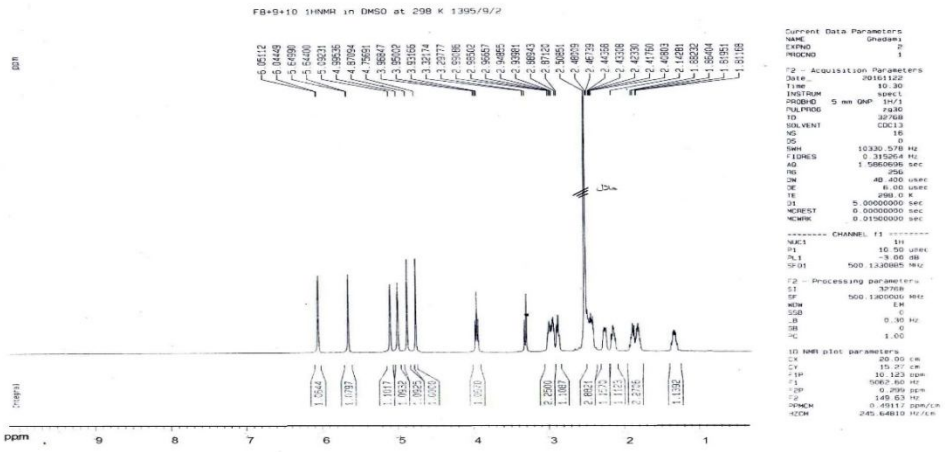
کربن‌های ساده مربوط به باند یگانه (کربن‌های ۱، ۲، ۳، ٥، ۷، ۸ و ۹) که به اتم الکترونگاتیو متصل نیستند در دلتای ۳۰ تا ٥۱ ظاهر شده‌اند. کربن شمارهٔ ٦ به دلیل اتصال به اتم اکسیژن دشیلد شده و در دلتای بالاتری (δ=۸٥/۲ppm) ظاهر می گردد. کربن‌های اولفینی که مربوط به باند دوگانه می باشند (کربن‌های ٤، ۱۰، ۱۱، ۱۳، ۱٤ و ۱٥) در جابجایی شیمیایی ۱۰۸ تا ۱٥۲ ظاهر شده‌اند. جابجایی شیمیایی این کربن‌ها در جدول (۲) آورده شده است.

برای شناسایی دقیق تر ترکیب از تکنیک DEPT استفاده می‌شود که روشی بسیار مناسب برای تشخیص نوع کربن است. در این روش، کربن‌های فاقد هیدروژن هیچگونه پیکی نمی‌دهند، درصورتیکه پیک کربن نوع ۲ (CH_2) به سمت پایین و CH و CH_3 به سمت بالا قرار می گیرند. مطابق شکل ۳، کربن‌های نوع ٤ که هیدروژن ندارند (مانند کربن‌های شماره ٤، ۱۰، ۱۱ و ۱۲) در طیف DEPT ظاهر نمی شوند. از نتایج به دست آمده از طیف سنجی‌های بالا، ترکیب گواینولید با ساختار شیمیایی زیر بدست آمد (شکل ۲):

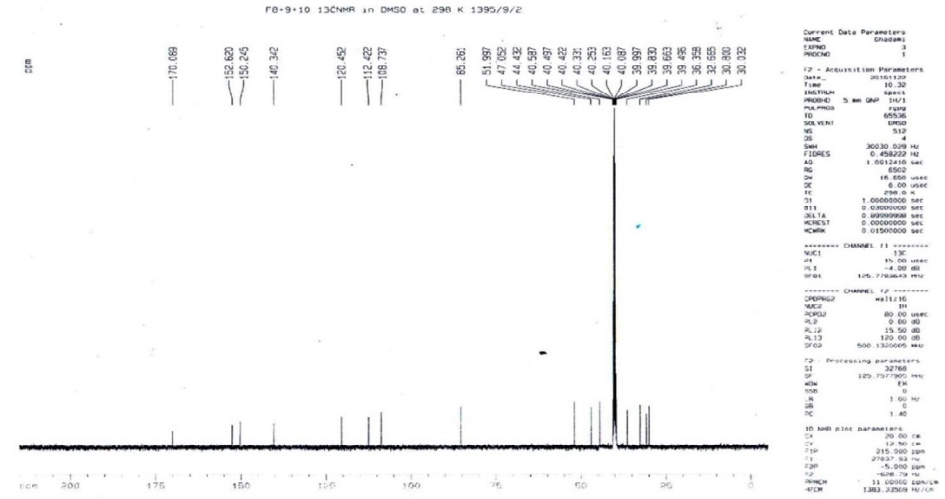


شکل ۲: ترکیب گواینولید استخراج شده از گیاه *Artemisia absinthium* L.

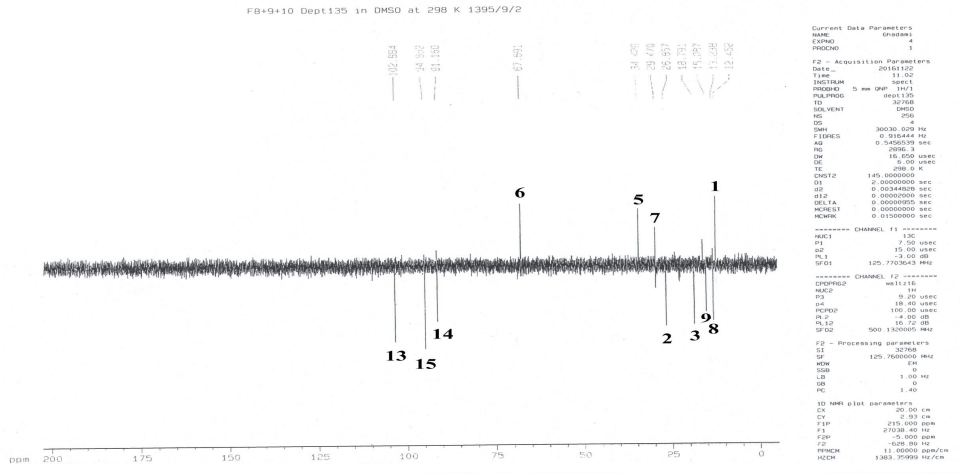
جامد بلوری با فرمول مولکولی $C_{15}H_{18}O_2$ به‌عنوان یک گواینولید با ساختار فوق از گیاه *A. absinthium* با استفاده از طیف‌های ^{1}H-NMR,^{13}C-NMR و DEPT شناسایی و تعیین ساختار گردید (شکل‌های ۳ تا ٥).



شکل ۳: تصویر مربوط به طیف کلی ^{1}H-NMR



شکل ٤: تصویر مربوط به طیف کلی ^{13}C-NMR

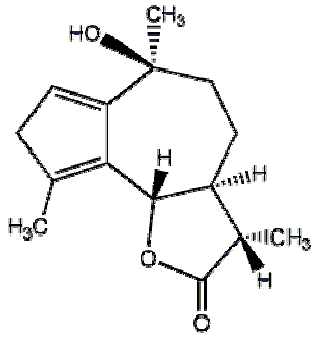


شکل ۵: تصویر مربوط به طیف کلی DEPT

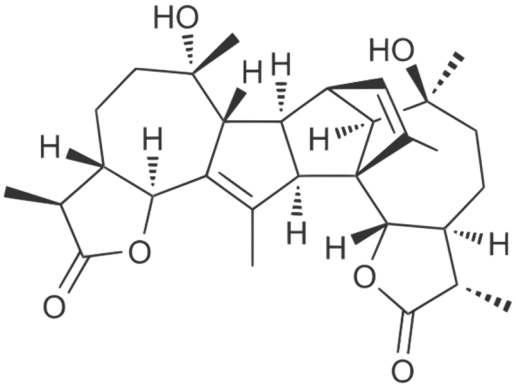
بحث

از جنس آرتمیزیا تاکنون اثرات فارماکولوژیکی فراوانی گزارش شده است و عصارهٔ گونه‌های این جنس از نظر شناسایی مواد شیمیایی تشکیل دهنده، به طور گسترده مورد مطالعه و بررسی قرار گرفته اند (Taherkhani, 2016; Taherkhani et al., 2013; Rustaiyan and Masoudi, 2011). مطابق با نتایج حاصل، در این تحقیق پس از عصاره‌گیری و انجام روش‌های کروماتوگرافی، یک سزکوئی ترپن لاکتون از خانوادهٔ گواینولیدها از گیاه *A. absinthium* L. جداسازی و شناسایی شد. مطالعات قبلی صورت گرفته نیز گمارش سیگنال‌های مربوطه در جدول ۱ و ۲ را اثبات می‌نماید (Gakuba, 2009). سزکوئی‌ترپن‌های گوایان شامل دو حلقه پنج و هفت عضوی هستند و گواینولیدها یکی از بزرگترین گروه‌های سزکوئی ترپن لاکتون با اسکلت گوایان هستند که در گیاهان جنس *Artemisia* یافت می شوند (Rustaiyan et al., 2009; Rustaiyan and Taherkhani, 2015). طبق گزارش‌های قبل، مواد محرک موجود در گیاه *A. absinthium* مربوط به ترکیبات تلخ مزه به تام آرتابسین[1] (سزکویی ترپن لاکتون) و آبسینتین[2] (دیمر سزکویی ترپن لاکتون) موجود در عصاره آن (شکل ٦ و ٧) (Msaada et al., 2015; Wright, 2002; Aberham et al., 2010) و همچنین ترکیبات β-پینن و β-توجون در اسانس این گیاه می باشد (Rezaeinodehi and S. Khangholi, 2008). در یک تحقیق دیگر، روغن اسانسی برگ گیاه *A. absinthium* L. جمع آوری شده از ایران به روش HS-SPME استخراج و توسط دستگاه GCMS مورد آنالیز قرار گرفت. نتایج نشان داد که ۷۲ ترکیب با غلظت ۹۷٪ از روغن اسانسیِ آن شناسایی شد و بیشترین غلظت نیز مربوط به ترکیبات کامفور (۱٤/۸۳٪) و پارا- سایمن (۱۰/۳۵٪) بود (Nezhadali and Parsa, 2010). همچنین اسانس *A. absinthium* L. جمع آوری شده از مراکش به‌طور عمده شامل ترکیبات α-توجون (۳۹/٦۹٪) سابینیل استات[3] (۱۰/۹٦٪) و β-توجون (۷/۲۵٪) می‌باشد (Derwich et al., 2009). علاوه بر این، مارتین و همکارانش نشان داد که ترکیبات اصلی موجود در عصاره SFE و اسانس هیدرولیز شدهٔ گیاه *A. absinthium* Z - اپوکسی اوسیمن[4]، کریسانتِنول[5] و کریسانتِنیل استات[6] می باشد (Martin et al., 2011). همچنین پنج سزکوئی ترپن لاکتون، دو لیگنان و یک فلاونوئید پلی متوکسیلاته و سه ترکیب آنابسین[7] (شکل ۸) به عنوان یک دی گوانولید، آنابسینتین[8] (شکل ۹) و یک دیمر جدید ۳-هیدروکسی آنابسینتین[9] از گیاه *A. absinthium* رویشی در اتریش توسط تکنیک‌های HPLC، طیف سنجی جرمی و رزونانس مغناطیسی هسته جداسازی و شناسایی شدند (Aberham et al., 2010). همچنین ترکیبات آنابسین، آنابسین استات، دِهیدرو آنابسین و دِهیدرو آنابسین استات از گیاه *A. absinthium* در ازبکستان جداسازی شده است (Kasymov et al., 1979). در این تحقیق نیز یک سزکوئی ترپن لاکتون از گیاه افسنطین از ایران استخراج و تعیین ساختار شد.

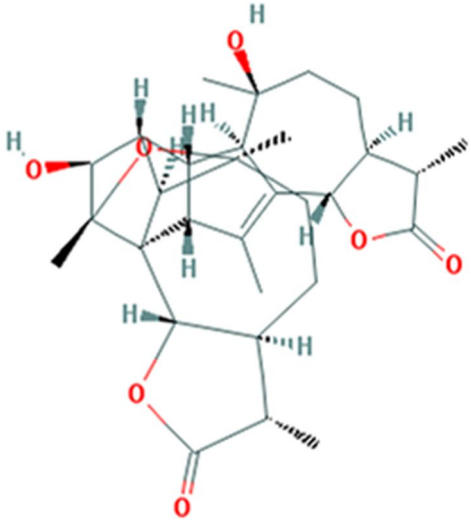
1. Artabsin
2. Absinthin
3. Sabinyl acetate
4. Z-epoxyocimene
5. Chrysanthenol
6. Chrysanthenyl acetate
7. Anabsin
8. Anabsinthin
9. 3'-hydroxyanabsinthin



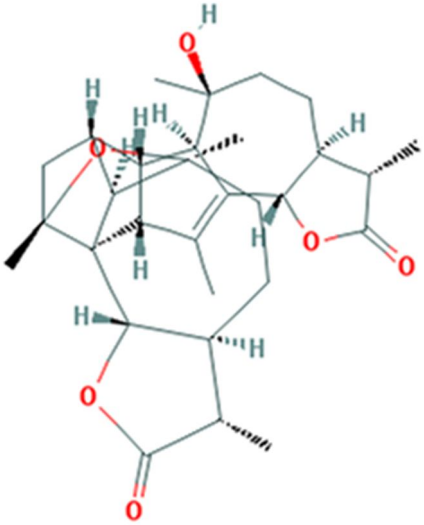
شکل ٦: آرتابسین



شکل ۷: آبسینتین



شکل ۸: آنابسین



شکل ۹: آنابسینتین

نتیجه‌گیری نهایی

عصارهٔ گیاه *A. absinthium* جمع‌آوری شده از استان اردبیل حاوی یک سزکوئی‌ترپن لاکتون (۱۲ و ٦- اولید) از خانوادهٔ گواینولیدها می باشد که توسط تکنیک‌های طیف سنجی ^{13}C-NMR، ^{1}H-NMR و DEPT شناسایی و تعیین ساختار مولکولی شد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم دارویی به خاطر مساعدت در استفاده از تجهیزات آزمایشگاهی تقدیر و تشکر می‌گردد.

References

1.Aberham, A., Cicek, S.S., Schneider, P. and Stuppner, H. 2010. Analysis of sesquiterpene lactones, lignans, and flavonoids in wormwood (*Artemisia absinthium* L.) using high-performance liquid chromatography (HPLC) – mass spectrometry, reversed phase HPLC, and HPLC-solid phase extraction-nuclear magnetic resonance. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 58(20): 10817-10823.

2.Asgari, S., Khadiv Parsi, P., Rezazadeh, S. and Pirali Hamedani, M. 2011. Experimental optimization of solid-liquid extraction. Nashrieh Shimi va Mohandesi Shimi Iran, 30(3): 61-68.

3.Derwich, E., Benziane, Z. and Boukir, A. 2009. Chemical compositions and insectisidal activity of essential oils of three plants *Artemisia* sp: *Artemisia*

herba-alba, *Artemisia absinthium* and *Artemisia pontica* (Morocco). Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry, 8(11): 1202-1211.

4.Gakuba, E. 2009. Isolation and characterization of secondary metabolites of two asteraceae species, *Artemisia afra* and *Elytropappus Rhinocerotis*, M.Sc. Thesis, University of Kwazulu-Natal.

5. Iranshahi, M., Emami, A. and Mahmoud-Soltani, M. 2007. Detection of sesquiterpene lactones in ten *Artemisia* species population of Khorasan provinces. Iranian Journal of Basic Medical Sciences, 10(3): 183-188.

6.Kasymov, S.Z., Abdullaev, N.D., Sidyakin, G.P. and Yagudaev, M.R. 1979. Anabsin - a new diguaianolide from *Artemisia absinthium*. Chemistry of Natural Compounds, 15(4): 430-435.

7.Kazemi, M., Mozaffarian, V., Rustaiyan, A., Larijani, K. and Ahmadi, M.A. 2010. Constituents of *Artemisia tournefortiana* Rchb. essential oil from Iran. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 13(2): 185-190.

8.Kharoubi, O., Slimani, M., Krouf, D., Seddik, L. and Aoues, A. 2008. Role of wormwood (*Artemisia absinthium*) extract on oxidative stress in ameliorating lead induced haematotoxicity. African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines, 5(3):263-270.

9.Konowalik, K. and Kreitschitz, A. 2012. Morphological and anatomical characteristics of *Artemisia absinthium* var. absinthium and its Polish endemic variety *A. absinthium* var. *calcigena*. Plant Systematics and Evolution, 298(7): 1325-1336.

10.Mahmoudi, M., Ebrahimzadeh, M.A., Ansaroudi, F., Nabavi, S.F. and Nabavi S.M. 2009. Antidepressant and antioxidant activities of *Artemisia absinthium* L. at flowering stage. African Journal of Biotechnology, 8(24): 7170-7175.

11.Martín, L., Mainar, A.M., González-Coloma, A., Burillo, J. and Urieta, J.S. 2011. Supercritical fluid extraction of wormwood (*Artemisia absinthium* L.). Journal of Supercritical Fluids, 56(1): 64-71.

12.Msaada, K., Salem, N., Bachrouch, O., Bousselmi, S., Tammar, S., Alfaify, A., Al Sane, K., Ammar, W.B., Azeiz, S., Haj Brahim, A., Hammami, M., Selmi, S., Limam, F. and Marzouk, B. 2015. Chemical composition and antioxidant and antimicrobial activities of wormwood (*Artemisia absinthium* L.) essential oils and phenolics. Journal of Chemistry, Volume 2015, Article ID 804658.

13. Nezhadali, A. and Parsa, M. 2010. Study of the volatile compounds in *Artemisia absinthium* from Iran using HS/SPME/GC/MS. Advances in Applied Science Research, 1(3): 174-179.

14.Rezaeinodehi, A. and Khangholi, S. 2008. Chemical composition of the essential oil of *Artemisia absinthium* growing wild in Iran. Pakistan Journal of Biological Sciences, 11(6): 946-949.

15.Rustaiyan, A. and Masoudi, S. 2011. Chemical constituents and biological activities of Iranian *Artemisia* species. Phytochemistry letters, 4(4): 440-447.

16.Rustaiyan, A., Nahrevanian, H. and Kazemi, M. 2009. A new antimalarial agent; effect of extracts of *Artemisia diffusa* against *Plasmodium berghei*. Phytochemistry Magazine, 5(17): 1-7.

17.Rustaiyan, A. and Taherkhani, M. 2015. Terpenes and terpenoids, Islamic Azad University Press, Science and Research Branch, Tehran, Iran. Vol. 1: 61-63.

18.Samarth, R.M., Panwar, M., Kumar, M. and Kumar, A., 2006. Protective effects of *Mentha piperita* Linn on benzo[a]pyrene-induced lung carcinogenicity and mutagenicity in Swiss albino mice. Mutagenesis, 21(1): 61-66.

19.Taherkhani, M. 2016. Chemical investigation and protective effects of bioactive phytochemicals from *Artemisia ciniformis*. Iranian Journal of Chemistry and Chemical Engineering, 35(2): 15-26.

20.Taherkhani, M. and Rustaiyan, A. 2016. Investigation of in vitro cytotoxic, mutagenic and anti-mutagenic effects of shirazolide extracted from *Jurinea leptoloba*. Natural Product Research, 17: 1-4.

21. Taherkhani, M., Rustaiyan, A., Nahrevanian, H., Naeimi, S. and Taherkhani, T. 2013. Comparison of antimalarial activity of *Artemisia turanica* extract with current drugs in vivo. Journal of Vector Borne Diseases, 50(1): 51-56.
22. Wright, C.W. Artemisia, Taylor & Francis, New York, NY, USA, 2002.

Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants, 8th Year, Volume Four, Winter 2021

Extraction, purification and characterization of a Guaianolide from *Artemisia absinthium* L. extract collected from Ardabil province, northwest Iran

Ghadami, F.[1], Taherkhani, M.[2*]

[1]M.Sc student, Department of Phytochemistry and Essential Oils Technology, Faculty of Pharmaceutical Chemistry, Pharmaceutical Sciences Branch, Islamic Azad University, Tehran - Iran (IAUPS)

[2]Assistant Professor, Department of Chemistry, College of Science, Takestan Branch, Islamic Azad University, Takestan, Iran

Received: 2018-11-1 ; Accepted: 2019-5-18

Abstract

The use of medicinal and aromatic herbs in the pharmaceutical, cosmetic, sanitary and food industries is related to the quantitative and qualitative identification of their compounds. So, identification and phytochemical studies of plants is the first step towards their practical use. *Artemisia absinthium* L. belongs to the Asteraceae family and has been used to treat stomach and heart pain, improve memory and restore mental function in traditional medicine. The aim of this study was to investigate the phytochemical analysis of an extract of a species of an Iranian Artemisia called Afsantin from Ardabil province. For this purpose, the aerial parts of the plant was collected at the flowering stage from Namin area in Ardebil province, northwest of Iran in July 2015. The extraction was performed by maceration method in a mixture of three solvents: methanol: diethyl ether: hexane with a 1:1:1 ratio. Then, to separate the long chain hydrocarbons, the defatting was achieved and the obtained extract was analyzed by GC to evaluate compound composition. After phytochemical studies, a sesquiterpene from guaianolides family was identified and its molecular structure was determined using ^{13}C-NMR, ^{1}H-NMR and DEPT spectroscopy techniques. A crystalline solid with molecular formula $C_{15}H_{18}O_2$ was detected as a type of guaianolide from *A. absinthium*.

Keywords: *Artemisia absinthium* L., Extraction, Identification, Purification

*Corresponding author; mahtaherkhani@yahoo.com