بررسی خواص آنتی اکسیدانی عصاره اسطوخدوس استخراج شده به روش سوکسله

روح الله حسینی نیافرد، غلامرضا نجفی*، منوچهر فدائیان

گروه شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قم، قم، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۲/۰۲؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۲/۰۵)

چکیده

اسطوخدوس *(Lavandula angustifolia)* جزء گیاهان دارویی اسانس دار از خانواده نعناع و بومی ایران می‌باشد و بصورت سنتی در درمان مفاصل، دل پیچه و ذکام کاربرد دارد. پس از شناسایی و جمع آوری، گیاه اسطوخدوس در شرایط مناسب خشک گردید. سپس با استفاده از دستگاه سوکسله و با حلال‌های آب، هگزان و مخلوط آب و اتانول، عصاره گیاه استخراج شد. عصاره‌ها پس از تغلیظ با دستگاه روتاری، اسپکتروفوتومتر و در آخر با دستگاه *GC-MS* مورد بررسی و آنالیز قرار گرفت. در عصاره هگزانی این گیاه به ترتیب بیشترین درصد دکان، دودکان، کامفور، تترا دکان، ۳-متیل نونان ۱و۸-سینئول هستند. بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی به روش *DPPH* بیشترین حساسیت را در، عصاره آبی نشان داد.

کلیدواژگان

اسطوخدوس، آنتی اکسیدانی، سوکسله، ضدمیکروبی.

* نویسنده مسئول، رایانامه: q_najafi@yahoo.com

مقدمه

اسطوخدوس از جمله گیاهانی است که از نظر فیتوشیمی به طور وسیع مطالعه شده اما جنبه‌های آنتی اکسیدانی این گیاه به طور کامل مورد مطالعه قرار نگرفته است. این گیاه از خانواده نعناییان بوده واز دیر باز در طب سنتی نقش داشته است [۱،۲].

از نظر غالب حکمای سنتی طبیعت گرم و خشک داشته واز آن برای تقویت ذهنی،کنترل رشد و رشد وسرگیجه و تشنج توصیه شده است [۳]. اسطوخدوس در درمان بیماری‌های معده، سردرد و به خصوص سردرد ناشی از تنش موثر است.این گیاه خواص ضد درد،ضد گرفتگی عضلات و آرام بخش دارد. این گیاه در اکثر بیماری‌های وابسته به دستگاه عصبی مرکزی مانند میگرن و صرع موثر می‌باشد [۴].

ترکیات فراوانی در اسانس این گیاه شناسایی شده اند که از مهمترین آن‌ها میتوان به ژرانیول، لینانول ، سینئول، آلفاپینن، کامفور، اسیدبوتیریک می‌توان اشاره کرد.

آنتی اکسیدان‌ها موادی هستند که در غلظت کم و با سازوکار ویژه ای عمل می‌کنند و یا باعث کاهش یا به تاخیر افتادن می‌شوند. از مهم ترین انواع آنتی اکسیدان‌ها در سیستم‌های بیولوژیک می‌توان به رادیکال آزاد اشاره کرد. توان مهار رادیکال آزاد از خصوصیت‌های مهم یک آنتی اکسیدان به شمار می‌رود [5].

امروزه آنتی اکسیدان‌های طبیعی که از گیاهان و ادویه جات بدست می‌آیند به طور گسترده ای ارزیابی می‌شوند واعتقاد بر این است که آنتی اکسیدان‌های طبیعی اثرات جانبی کمتری دارند [۶،۷،۸].

آنتی اکسیدان‌ها شامل مواد مغذی (ویتامین‌ها و املاح معدنی) و آنزیم‌ها (پروتئین‌های موجود در بدن که در واکنش‌های شیمیایی نقش کمکی دارند) به نظر می‌رسد این مواد در جلوگیری از ایجاد بیماری هایی مانند سرطان، بیماری قلبی، سکته مغزی، آلزایمر، آرتریت روماتوئید و کاتاراکت نقش دارند. رادیکال‌های آزاد مولکول‌های فعال شده‌ای هستند که در همه جا حضور دارند آن‌ها به‌طور طبیعی در سلول‌های زنده تولید شده و محصولات آن‌ها در حضور مولکول‌ها افزایش پیدا می‌کند و به‌علت فعالیت بالا بر روی اکثر مولکول‌های بیولوژیکی اثر می‌گذارند. رادیکال‌های آزاد هم به‌وسیله پروسه‌های بیوشیمیایی و در طی متابولیسم طبیعی بدن و هم ممکن است به علت منشأ خارجی در بدن موجودات زنده تولید می‌شوند. به‌طور کلی استرس‌های اکسیداتیو به دو علت اگزوژن و آندروژن می‌باشد. گیاهان و حیوانات حاوی سیستم‌های پیچیده‌ای از انواع مختلف آنتی اکسیدان‌ها از قبیل گلوتاتیون، ویتامین و همچنین آنزیم‌ها مانند کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز وپراکسیدازهای مختلف هستند[۹].

بخش تجربی

مواد و دستگاه‌ها

در این پژوهش از گیاه خشک شده اسطوخدوس و حلال‌های آب مقطر،هگزان و اتانول استفاده شد.

دستگاه‌های مورد استفاده شامل سوکسله، طیف سنج فرابنفش-مرِیی و کرو ماتوگرافی مجهز به طیف سنج جرمی می‌باشد.

عصاره گیری به روش سوکسله

ابتدا اجزای مختلف دستگاه سوکسله به هم متصل شد. پس از آن حدود ۲/۳ حجم کارتوش به‌طور جداگانه از نمونه‌های گیاهی مورد نظر پرشد و در محل مخصوص خود قرار گرفت و با حلال‌های مختلف به مدت ۸ ساعت آزمایش عصاره‌گیری انجام شد.

الف) عصاره آبی

به عنوان اولین حلال، آب مقطر به مقدار ۵۰۰ سی سی داخل بالن سوکسله ریخته‌شد. گیاه خشک شده پودرو وزن آن که با ترازوی دیجیتال حدود ۱۴ گرم بود داخل انگشت دانه ریخته و در آن بسته شد. در نهایت دستگاه سوکسله بسته و شیر آب باز می‌گردد. بعد از گذشت ۱۰ دقیقه آب توسط هیتربرقی به جوش آمد و عملیات عصاره گیری به مدت ۸ ساعت ادامه پیدا کرد و ۱۲ بار عمل سیفون صورت گرفت عصاره آبی که به رنگ محلول بنفش پر رنگ بود، جدا، سپس درون شیشه درب دار داخل یخچال گذاشته و فریز گردید.

ب) عصاره هگزانی

دومین حلال، هگزان (غیر قطبی) به مقدار ۵۰۰ سی سی داخل بالن سوکسله ریخته‌شد. گیاه خشک شده پودر و وزن آن که با ترازوی دیجیتال حدود ۱۳ گرم بود داخل انگشت دانه ریخته و در آن بسته شد. در نهایت دستگاه سوکسله بسته و شیر آب را باز گردید. بعد از گذشت ۵ دقیقه هگزان توسط هیتر برقی جوش آمد و عملیات عصاره گیری به مدت ۵ ساعت ادامه پیدا کرد و ۱۲ بار عمل سیفون صورت گرفت عصاره آلی را که به رنگ محلول سبز کم رنگ بود، جدا، و درنهایت درون شیشه درب دار داخل یخچال گذاشته و فریز گردید.

پ) مخلوط عصاره آبی اتانولی

سومین حلال، آب-اتانول را به مقدار ۵۰۰ سی سی داخل بالن سوکسله ریخته‌شد، و نسبت آن ۷۰:۳۰ بود،یعنی مقدارآب ۱۵۰ سی سی و مقدار اتانول ۳۵۰ سی سی، سپس گیاه خشک شده پودر و وزن آن که با ترازوی دیجیتال حدود ۱۴ گرم بود داخل انگشت دانه ریخته و در آن بسته شده و در نهایت دستگاه سوکسله بسته و شیر آب باز گردید. بعد از گذشت ۱۰ دقیقه حلال توسط هیتر برقی به جوش آمد و عملیات عصاره گیری به مدت ۸ ساعت ادامه پیدا کرد و ۱۲ بار عمل سیفون صورت گرفت، عصاره آبی اتانولی به رنگ محلول سبز پر رنگ بود، جدا، و در نهایت درون شیشه درب دار داخل یخچال گذاشته و فریز گردید.

ارزیابی اثر آنتی اکسیدانی به روش*DPPH*

در این روش خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره‌ها از طریق اندازه گیری ظرفیت کاهش رادیکال ۲و۲- دی فنیل ۱-پیکریل هیدرازیل *DPPH* مورد ارزیابی قرار گرفت.

DPPH بنفش رنگ و به صورت رادیکالی می‌باشد. این رادیکال با گرفتن یک الکترون از آنتی اکسیدان (عصاره‌های گیاهی) از بنفش به زرد تغییر رنگ می‌دهد.

کاهش جذب رادیکال بنفش رنگ *DPPH* در ۵۱۷ نانومتر، نمونه مورد آزمایش، به وسیله اسپکتروفتومتر اندازه گیری شد. میزان و سرعت این کاهش جذب با غلظت مواد آنتی اکسیدان رابطه مستقیم دارد به صورتی که هر چه غلظت آنتی اکسیدان‌ها در نمونه بیشتر باشد، رنگ *DPPH* از بنفش سریع‌تر به سمت زرد رفته و میزان جذب در طول موج مذکور بشتر کاهش می‌یابد.

روش کار

میزان ۰/۳۱۸ گرم بر میلی لیتر از نمونه عصاره آبی الکلی در بالن ژوژه ۲۵ سی سی با متانول به حجم رسانده شد، به‌طوری‌که اجزای عصاره کاملا در متانول حل شود.

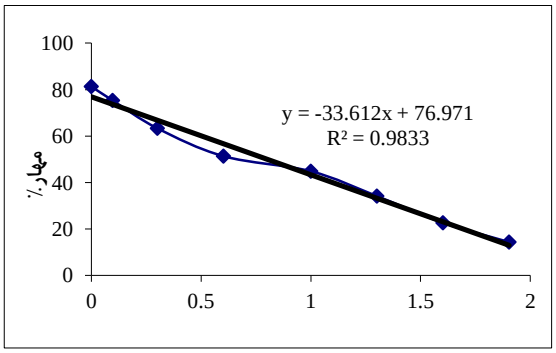
بعد از تهیه محلول‌ها با غلظت‌های متفاوت محلول *DPPH* تهیه شد. به این ترتیب که میزان ۰/۰۵۷۸۸گرم از *DPPH* در بالن ۵۰ سی‌سی تیره حل شده و با متانول به حجم رسید.

سپس جذب محلول‌های تهیه شده در طول موج

۵۱۷ نانومتر توسط اسپکتروفتومترخوانده شد، به این صورت که ابتدا دستگاه را با محلول‌های موجود صفر کرده و سپس محلول‌های بالن تیره را خواندیم.

جدول ۱- نتایج ارزیابی اثر آنتی اکسیدانی عصاره آبی گیاه اسطوخدوس به روش *DPPH*

c(mg/mL)	−log c	%مهار
۱	۰	۸۱/۳
۰/۸	۰/۰۹۶۰۱	۷۵/۳
۰/۵	۰/۳۰۱۰۳	۶۳/۳
۰/۲۵	۰/۶۰۲۰۶	۵۱/۳
۰/۱	۱	۴۴/۸
۰/۰۵	۱/۳۰۱۰۳	۳۴/۱
۰/۰۲۵	۱/۶۰۲۰۶	۲۲/۶
۰/۰۱۲۵	۱/۹۰۳۰۹	۱۴/۳

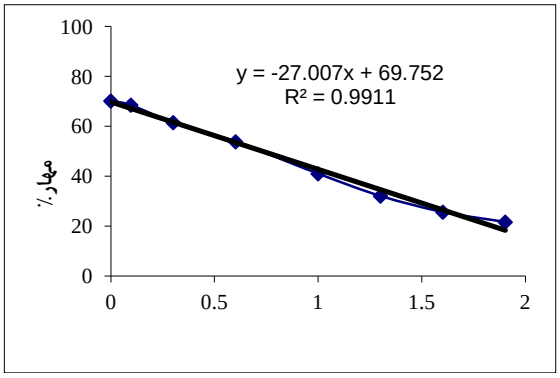


IC50	۷۹۴µg/ml

شکل ۱- تعیین اجزای تشکیل دهنده عصاره آبی گیاه اسطوخدوس با دستگاه *GC-MS*

جدول ۲- نتایج ارزیابی اثر آنتی اکسیدانی عصاره الکلی گیاه اسطوخدوس به روش *DPPH*

c(mg/mL)	−log c	%مهار
۱	۰	۷۰/۱۴۷۴۲
۰/۸	۰/۰۹۶۹۱	۶۸/۴۸۸۹۴
۰/۵	۰/۳۰۱۰۳	۶۱/۴۸۶۴۹
۰/۲۵	۰/۶۰۲۰۶	۵۳/۸۰۸۳۵
۰/۱	۱	۴۰/۹۹۰۱۷
۰/۰۵	۱/۳۰۱۰۳	۳۲/۰۴۹۱۴
۰/۰۲۵	۱/۶۰۲۰۶	۲۵/۶۱۴۲۵
۰/۰۱۲۵	۱/۹۰۳۰۹	۲۱/۶۱۶۷۱

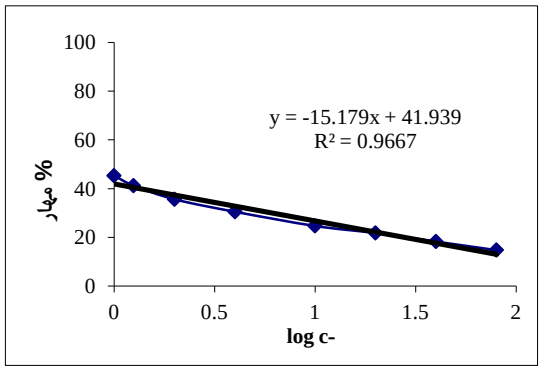


IC_{50}	۷۳۱µg/ml

شکل ۱- تعیین اجزای تشکیل دهنده عصاره الکلی گیاه اسطوخدوس با دستگاه *GC-MS*

جدول ۳- نتایج ارزیابی اثر آنتی اکسیدانی عصاره هگزانی گیاه اسطوخدوس به روش *DPPH*

c(mg/mL)	−log c	%مهار
۱	۰	۴۵/۳
۰/۸	۰/۰۹۶۹۱	۴۱/۲
۰/۵	۰/۳۰۱۰۳	۳۵/۶
۰/۲۵	۰/۶۰۲۰۶	۳۰/۵
۰/۱	۱	۲۴/۷
۰/۰۵	۱/۳۰۱۰۳	۲۱/۸
۰/۰۲۵	۱/۶۰۲۰۶	۱۸/۳
۰/۰۱۲۵	۱/۹۰۳۰۹	۱۴/۸



IC_{50}	568 µg/mL

شکل ۲- تعیین اجزای تشکیل دهنده عصاره هگزانی گیاه اسطوخدوس با دستگاه *GC-MS*

نتایج جداول ارزیابی اثر آنتی اکسیدانی به روش *DPPH* گیاه اسطوخدوس نشان می‌دهد که بسیاری از

این ترکیبات دارای اثر آنتی‌اکسیدانی قابل ملاحظه می‌باشند و برای استفاده در صنایع مختلف اهمیت زیادی دارند. نتایج تست آنتی اکسیدانی گیاه اسطوخدوس نشان دهنده فعالیت آنتی اکسیدانی دربرابر آنتی اکسیدان پایدار *DPPH* می‌باشد، و می‌توان گفت که درصدIC_{50} این گیاه *568 µg/mL* مربوط به عصاره هگزانی بود که، مهار رادیکال آزاد بهتری از بقیه دارد و با مقاله محمد نژاد کنجی مطابقت دارد. [۱۰]

عصاره نمونه هگزانی پس از آبگیری، با دستگاه *GC-MS* مورد بررسی و آنالیز قرار گرفت. از عصاره هگزانی این گیاه به ترتیب بیشترین درصد دکان، دودکان، کامفور، تترا دکان، ۳-متیل نونان و کمترین درصد اکتادکان، بتا-اودسمول، ۱و۸-سینئول ۵-متیل آندکان می‌توان اشاره کرد.

جدول ٤- نتایج آنالیز عصاره نمونه هگزانی، توسط دستگاه *GC-MS*

شماره (ترتیب خروج)	نام ترکیب	مقدار (درصد)	زمان بازداری (دقیقه)
۱	۴- اتیل اکتان	۱۳/۱	۴/۶۶
۲	۵- متیل نونان	۲/۴۰	۴/۷۴
۳	۳- متیل نونان	۲/۸۵	۴/۹۴
۴	سیکلو دکان	۲/۴۸	۵/۲۴
۵	اتیل سیکلو هگزان	۲/۶۰	۵/۲۷
۶	دکان	۵۵/۴۸	۵/۴۸
۷	۱و۸ – سینئول	۰/۴۵	۶/۰۹
۸	هگزا کلرو اتان	۰/۵۷	۶/۸۲
۹	کامفور	۸/۵۷	۸/۰۶
۱۰	۵- متیل آندکان	۰/۶۲	۸/۱۸
۱۱	۳-متیل آندکان	۰/۹۲	۸/۴۲
۱۲	۱- هگزیل – ۳-متیل سیکلو پنتان	۱/۲۶	۸/۸۷
۱۳	دودکان	۱۳/۵۱	۸/۸۹
۱۴	تترو دکان	۴/۴۲	۱۱/۷۴
۱۵	آلوآروماندرن	۰/۵۳	۱۲/۹۹
۱۶	هگزا دکان	۱/۳۷	۱۴/۲۲
۱۷	بتا- اودسمول	۰/۴۷	۱۴/۹۷
۱۸	اکتا دکان	۰/۳۷	۱۶/۴۴

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه کمیت و کیفیت متابولیت‌های ثانویهٔ گیاه اسطوخودوس تحت تأثیر عامل بوم شناختی ارتفاع ازسطح دریا که نویسنده آن محمدنژادگنجی بود، به بررسی جداسازی و شناسایی ترکیب‌های موجود در اسانس اسطوخدوس توسط دستگاه *GC-MS* در دو شهر استان مازندران پرداخته، که بیشترین درصد در بهشهر اندوبورنئول(۲۲/۳۶) ودر شهر بلده بیشترین درصد را بورنئول(۲۶/۷۸) تشکیل داد، اما در این پژوهش عصاره نمونه هگزانی، توسط دستگاه *GC-MS* مورد بررسی و آنالیز قرار گرفت که بیشترین درصد را دکان (۵۵/۴۸) تشکیل داد. پس می‌توان نتیجه گرفت که عوامل محیطی، ارتفاع از سطح دریا و نیز عوامل ژنتیکی می‌تواند بر تولید و مقادیر ترکیبات شیمیایی موجود در گیاهان دارویی مؤثر واقع شود و بسته به هدف از کشت و نوع ماده مؤثره، گیاهان دارویی در مناطق متفاوت بستگی دارد [۱۰].

منابع و مآخذ

1. khondzadeh, sh, Kashani, L, Fotouhi, A, Jarvandi, S, Mobasheri, M (2003).
2. Buchbauer, G, Jirovetz, L, Jager, W, (1991)Aromatherapy evidence for sedative effects of the essential oil of lavender after inhalation, Z naturforsch 46: 167-172.
3. Mehrabani, M. Modirian. E, Ebrahimabadi A.R (2007) Study of the Extract of Lavandula vera DC.
4. Kim, H.M, Cho, SH. (1999) Lavender oil inhibits immediate-type allergic reaction in mice and rats.

۵. کشاورزی، فاطمه (۱۳۸۰). رادیکال‌های آزاد و آنتی اکسیدان ها. تهران: ناشر آییژ.

6. Andreja ,H., Majda, H., Zeljko, K and Davorin, B.2000. Comparison of antioxidative and synergistic effects of rosemary extract with " - tocopherol, ascorbyl palmitate and citric acid in sunflower oil. Food Chemistry 2000. 71(2): 233-229.
7. Borneo, R., Leone, A.E., Aguirre ,A.,Ribotta, P and Cantero, J.J.2009. Antioxidant capacity o medicinal plants from the province of Cordoba (Argentina) and their in vitro testing in a model food system. Food Chemistry. 112(3): 670-66.
8. Paran, E., Novack ,V., Engelhard ,Y.N., Hazan- Halevy, I.2009. The effects of natural antioxidants from tomato extract in treated but uncontrolled hypertensive patients. Cardiovascular Drugs and Therapy. 23(2):145.
9. Lee, S.H., Tanaka T., Nonaka G. I. and Nishioka, I. 1990. Tannins and related compouns, XCV. Isolation and characterization of helicopinins and Helioscopins, foue news hydrozable tannis from Euphorbia helioscopia L. (1). Chem. Pharm. Bull.38(6), 1518-1523.
10. Mohammadnejad Ganji, S.M., Moradi, H., Ghanbari, A. and Akbarzadeh, M. ۲۰۱۷. Quantity and quality of secondary metabolites in lavender plant under the influence of ecological factors. – Nova Biologica Rep.