بررسی و مقایسه فیتوشیمیایی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های مختلف سرشاخه‌های گلدار گیاه *Dracocephalum moldavica* L. در استان سیستان وبلوچستان

منیره مهرابی[۱]، نوراله حاضری*[۱]، جعفر ولیزاده[۲]، محرم ولی‌زاده[۳]

[۱]گروه شیمی، دانشکده علوم پایه ، دانشگاه سیستان و بلوچستان، زاهدان، ایران

[۲]گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه سیستان و بلوچستان، زاهدان، ایران

[۳]گروه گیاهان دارویی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه سیستان و بلوچستان، زاهدان، ایران

تاریخ دریافت: ۹۵/۹/٦ ؛ تاریخ پذیرش: ۹٦/۲/۳

چکیده

گیاه بادرشبو با نام علمی (*Dracocephalum moldavica* L.) گیاهی یکساله متعلق به تیره نعنا (Lamiaceae)است که در طب سنتی در درمان اختلالات گوارشی، کبدی و سردرد استفاده می‌شود. در این تحقیق سرشاخه‌های هوایی گلدار گیاه در اسفند ماه سال ۱۳۹۴ از گلخانه دانشگاه سیستان و بلوچستان جمع‌آوری شد و عصاره‌های مختلف متانولی، اتانولی و آبی با استفاده از روش خیساندن بدست آمد. میزان فنل، فلاونوئید و آنتوسیانین کل با استفاده از روش‌های اسپکتروفتومتری و عملکرد آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها توسط دو روش FRAP و DPPH مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد عصاره‌های مختلف متانولی، اتانولی و آبی به‌ترتیب دارای محتوای فنل کل (۸۲/۱، ۷۱/۸ و ۳۳/۶ میلی‌گرم معادل گالیک اسید در هر گرم وزن خشک) و فلاونوئید کل به‌ترتیب (۳۴/۰۲ ، ۲۸/۸ و ۱/۰۲ میلی‌گرم معادل کوئرستین در هر گرم وزن خشک) گزارش گردید. نتایج بررسی آنتی اکسیدانی در روش DPPH برای عصاره‌های مختلف به‌ترتیب (۱۱/۶۰، ۳۴/۹۳ و ۳۰۲/۸۴ میکروگرم در میلی‌لیتر) و در روش FRAP به‌ترتیب (۱۴/۲۳ $mMFe^{2+}$/mg sample، ۸/۲۰ و ۱/۰۱) گزارش شد. تحلیل داده‌ها نشان داد که عصاره متانولی گیاه نسبت به عصاره اتانولی وآبی از بیشترین مقدار محتوای فنل، فلاونوئید و آنتوسیانین کل و از بیشترین قدرت مهارکنندگی در روش DPPH(IC_{50}=۱۱/۶۰µg/ml) برخوردار بود و این یافته‌ها در تایید عملکرد آنتی‌اکسیدانی و سایر مصارف دارویی گیاه قابل بحث است.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان، آنتوسیانین، فنل، فلاونوئید، عصاره متانولی، *Dracocephalum moldavica* L.

*نویسنده مسئول: nhazeri@chem.usb.ac.ir

مقدمه

رادیکال‌های آزاد واکنش‌گرهای بسیار قوی هستند که تمایل زیادی به گرفتن الکترون دارند این رادیکال‌ها آسیب‌های اکسیداتیوی متعدد به اجزای مختلف سلولی مانند غشا سلولی، پروتئین و DNA می‌رسانند. بین رادیکال آزاد و پیشروی و تشدید بعضی بیماری‌ها ارتباط گسترده‌ای وجود دارد از جمله بیماری‌های قلبی و عروقی، سرطان، التهاب، کاهش سیستم ایمنی بدن، ورم مفاصل و اختلال در عملکرد مغز. یکی از مهمترین نقش‌های آنتی‌اکسیدان‌ها حفاظت از بدن انسان در برابر گونه‌های فعال اکسیژن است، مکانیسم فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها به صورت جلوگیری ازتشکیل گونه‌های فعال اکسیژن، از طریق مهار کردن عناصر دخیل در تولید رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن است (Rashedi et al., 2015). علی‌رغم وجود آنتی‌اکسیدان‌های مختلف در پلاسما، سیستم دفاعی بدن به تنهایی نمی‌تواند رادیکال‌های آزاد ایجاد شده در بدن را از بین ببرد، به همین دلیل بدن برای تامین آنتی‌اکسیدان به منابع خارجی نیاز دارد که این نیاز از طریق منابع غذایی تامین می‌شود. شواهد بسیار زیادی وجود دارد که سمی بودن و اثرات سوء تغذیه‌ای آنتی اکسیدان‌های ساختگی اضافه شده به مواد غذایی مانند بوتیل هیدروکسی آنیزول (BHA)،بوتیل هیدروکسی تولوئن(BHT)و بتا هیدروکسی کینون را تأیید می‌کند (Roby et al., 2013).نظربه این که گیاهان یکی از منابع مهم آنتی اکسیدان‌ها بوده و باعث حفاظت سلول‌هااز آسیب‌های اکسیداتیو می‌شوند، تحقیقات در این زمینه رو به افزایش می‌باشد (Kumaranand Karunakaran, 2006).آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی باعث افزایش قدرت آنتی‌اکسیدان‌های پلاسما و کاهش ابتلا به بیماری‌ها مانند سرطان، آلزایمر و سکته مغزی می‌شوند (Mathew and Abraham, 2006). روش‌های متعددی جهت سنجش پتانسیل آنتی اکسیدانی معرفی شده است که در این بین می‌توان به دو روش به دام‌اندازی رادیکال‌های دی فنیل پیکریل هیدرازیل (DPPH:1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) و روش بررسی قدرت احیاء کنندگی یونآهن FRAP[1] اشاره کرد(Koksal et al., 2011).از مزایای این دو روش، عدم وابستگی به قطبیت نمونه می‌باشد (Kartal et al., 2007). جنس *Dracocephalum* شامل ۱۸۶ گونه می‌باشد که ۸ گونه از آن در ایران می‌رویند. گونه بادرشبو (*Dracocephalum moldavica* L.) بومیآسیای مرکزی و اهلی شده در مرکز شرق اروپاست (Kamalizadeh et al., 2015). تمام اندام‌های گیاه حاوی اسانس است و مقدار آن در قسمت‌های مختلف متفاوت می‌باشد. گل و اندام‌های رویشی بادرشبو (برگ‌ها و ساقه‌ها) دارای بیشترین درصد اسانس می‌باشند. مطالعات نشان می‌دهند که از اسانس این گیاه تعداد ۶۶ ترکیب شناسایی و جداسازی شده است که به‌ترتیب ترکیبات: ژرانیل استات، ژرانیال، ژرانیول و نرال ترکیب‌های اصلی شناخته شده آن هستند. این ترکیب‌ها مونوترپن‌های اکسیژن‌داری هستند که ۹۰ درصد اجزاء اسانس را تشکیل می‌دهند (Maham et al., 2013). اسانس بادرشبو دارای خاصیت ضدباکتریایی، التیام دهنده زخم و جراحات می‌باشد، از عصاره بادرشبو برای رفع سردرد، سرماخوردگی، ضعف عمومی بدن، مسکن دردهای عصبی و اسپاسم‌های معدی و کلیوی، برای شستشوی دهان و در تسکین دندان درد استفاده می‌شود، همچنین می‌توان از آن به‌عنوان ضُماد در تسکین دردهای روماتیسمی بهره جست و همچنین خاصیت ضدتوموری این گیاه نیز گزارش شده است (Hussein et al., 2006). تحقیقات نشان

1. Ferric reducing antioxidant power

می‌دهند که عصاره آبی بادرشبو به‌دلیل وجود ترکیبات فنلی مانند رزمارنیک اسید و کلروژنیک اسید دارای خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد ویروس، ضدآلرژی، ضدالتهاب و ضدسرطان می‌باشد (Kamalizadeh et al., 2015). در مورد خواص آرام بخش (Said et al., 2015)، ضد درد و زخم (Sultan et al., 2008) عصاره این گیاه گزارش‌های بسیاری وجود دارد. همچنین به‌دلیل خواص دارویی مشهور این گیاه از قبیل درمان اختلالات معده و کبد، کاهش ویسکوزیته خون و مهار تجمع پلاکت‌های خون در چین به‌عنوان دارو استفاده فراوانی دارد (Jiang et al., 2014). در بررسی انجام شده بر روی گیاه *Dracocephalum moldavica* هیدروکسی سینامیک اسید، کافئیک اسید، فرولیک اسید، لوتئولین و آپی ژنین به‌دست آمد (Dastmalchi et al., 2007). به‌دلیل وجود فلاونوئید لوتئولین موجود در گیاه *D.moldavica* از آن برای درمان برونشیت‌های مزمن استفاده می‌شود (Mehrabani et al., 2005). با توجه به اثرات سودمند این جنس از گیاهان، مطالعه حاضر به بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی، ارزیابی ترکیبات فنلی، فلاونوئیدو آنتوسیانین گیاه بادرشبو می‌پردازد.

مواد و روش‌ها

تهیه مواد شیمیایی: ۱،۱-دی‌فنیل-۲-پیکریل-هیدرازیل (DPPH)،استیک‌اسید، آسکوربیک‌اسید (ASA)، آهن (III) کلرید، آهن (II) کلرید، آهن سولفات، TPTZ (2,4,6-tripyridyl-s-triazine) آلومینیوم کلرید، سدیم‌کربنات، سدیم‌استات، معرف فولین، گالیک اسید، کوئرستین، متانول و اتانول از شرکت مرک آلمان تهیه شده است.

دستگاه‌ها: ازدستگاه اسپکتروفتومتری UV-Vis مدل UNCO UV- 2100 Spectrophtometer برای ثبت جذب‌ها استفاده شده است. اندازه‌گیری pH نیز با استفاده از دستگاه pH متر (pH lab ۸۲۷) انجام شد. همچنین برای اندازه‌گیری‌های وزنی از ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم مدل Kern، جهت جداسازی، از سانتریفیوژ Sigma مدل ۳۰k -۳ و برای حل کردن عصاره‌ها از اولتراسیونیک مدل DSA۱۰۰ استفاده شد.

جمع‌آوری گیاه: اندام‌های هوایی گیاه بادرشبودر مرحله گل‌دهی، در اسفند ماه سال ۱۳۹۴ از گلخانه دانشگاه سیستان و بلوچستان جمع‌آوری شد و به مدت یک هفته به دور از نور آفتاب و در سایه قرار گرفت تا رطوبت گیاه از بین رفته و کاملاً خشک شوند.

عصاره‌گیری: پس از خشک شدن برگ و ساقه‌های گیاه، نمونه جمع آوری شده به آزمایشگاه مرکز پژوهشی گیاهان دارویی و زینتی دانشگاه سیستان و بلوچستان منتقل و توسط آسیاب برقی آزمایشگاهی کاملاً به‌صورت پودر درآمدند. عصاره‌گیری به روش ماسراسیون (خیساندن) صورت گرفت (Zohouri et al., 2014). بدین‌منظور، مقدار سه سری از نمونه‌ها شامل ۵ گرم از هرنمونه به دقت توزین و هر یک از آن‌ها را درونارلنمایرهایی که حاوی ۵۰ میلی‌لیتر از حلال‌های مختلف شامل آب دوبار یون زدایی‌شده، متانول و اتانول بود قرار داده شد و به‌مدت ۲۴ ساعت جهت هم‌زدن روی همزن مغناطیسی قرارگرفت. پس از آن توسط کاغذ واتمن شماره ۴۲ عمل فیلتراسیون انجام گرفت و جهت حذف کامل حلال‌ها، نمونه‌ها در زیر هود لامینار به‌مدت ۳ روز قرار گرفت. عصاره‌های بدست آمده جهت آنالیزهای بعدی در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

ارزیابی عملکرد آنتی اکسیدانی

اندازه‌گیری قدرت آنتی اکسیدانی به روش دی فنیل پیکریل هیدرازیل (DPPH): یکی از مهمترین

روش‌ها برای ارزیابی قدرت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های گیاهی، روش دی فنیل پیکریل هیدرازیل می‌باشد. در این روش، DPPH که یک رادیکال پایدار است با آنتی‌اکسیدان واکنش می‌دهد و پس از گرفتن یک اتم هیدروژن، خنثی شده و رنگ آن از ارغوانی به سمت زرد، تغییر رنگ می‌دهد (Thaipong et al., 2006). ابتدا محلول متانولی از عصاره‌های گیاهی در غلظت‌های مختلف تهیه و سپس حجم‌های مشخصی از عصاره‌ها را به ۱ میلی‌لیتر از محلول متانولی DPPH با غلظت ۰/۱ میلی‌مولار افزوده و با متانول به حجم ۲ میلی‌لیتر رسانیده شد، پس از ۳۰ دقیقه قرار دادن در مکان تاریک، جذب محلول‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت شد درصد مهار رادیکال‌ها با استفاده از فرمول زیر ارزیابی شد:

فرمول (۱):

$$\%IP = [(Acontrol - Asample)] \div Acontrol \times 100$$

%IP: درصد بازداری آنتی‌اکسیدان‌ها در برابر رادیکال آزاد

$A_{control}$: جذب شاهد (حاوی ۱ میلی‌لیتر از متانول در ۱ میلی‌لیتر از محلول DPPH با غلظت ۰/۱ میلی‌مولار می‌باشد).

A_{sample}: جذب نمونه

جهت محاسبه IC_{50} (غلظتی از آنتی اکسیدان است که در آن قدرت بازداری عصاره‌ها ۵۰ درصد می‌باشد)، نمودار بازدارندگی هر عصاره بر حسب غلظت رسم شد. در این تست از بوتیل هیدروکسی تولوئن (BHT) و آسکوربیک آسید به‌عنوان کنترل مثبت استفاده گردید

اندازه‌گیری قدرت آنتی‌اکسیدانی به روشفرپ (FRAP): این روش بر پایه اندازه‌گیری توانایی ترکیبات در احیای یون Fe^{+3} به یون Fe^{+2} می‌باشد و از نظر اسپکتروفوتومتری با تعیین کمپلکس رنگی شده ترکیباتبا ۲، ۴، ۶ - تری پیریدیل-s- تری آذین (TPTZ)[$Fe(III)(TPTZ)_2Cl$]، اندازه‌گیریمی شود (Shahwar et al., 2012). ابتدا محلول است و که شامل بافراستات (NaOH ۱ مولار و $C_2H_4O_2$ ۱ مولار) با pH=۳/۶، محلول TPTZmM۱۰ در ۴۰mMHCl و محلول $FeCl_3.6H2O$ mM۲۰ تهیه سپس از مخلوط کردن ۲۵۰ میلی‌لیتر بافر استات، ۲/۵ میلی‌لیتر محلول TPTZ و ۲/۵ میلی‌لیتر محلول $FeCl_3.6H2O$ محلول تازه‌ی فرپ آماده شد. پس از آن حجم‌های مختلف از عصاره‌ها با محلول تازه فرپ به حجم ۲ میلی‌لیتر رسانیده شد. پس از قرار دادن نمونه‌های آماده شده در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و به‌مدت ۱۰ دقیقه، جذب آن‌ها در طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد. از $FeSO_4.7H_2O$ به‌عنوان استاندارد استفاده و از آسکوربیک اسید به‌عنوان کنترل مثبت استفاده شد.

اندازه‌گیری فنل کل: برای سنجش فنل کل از معرف فولین- سیوکالتیو استفاده شد (Sadeghi et al., 2015). جهت استخراج فنل کل میزان ۰/۰۵ گرم از هر یک از عصاره‌ها را به ۰/۷ میلی‌لیتر متانول و ۰/۳ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه کرده و به‌مدت ۲۴ ساعت توسط شیکر به هم زده شد، پس از آن به منظور حذف کامل ذرات ریز و معلق به‌مدت ۳۰ دقیقه به وسیله سانتریفیوژ با دور ۲۰۰۰۰rpmسانتریفیوژ شد. سپس مقدار ۵ میکرولیتر از هریک از عصاره‌هابرداشته شد و مقادیر ۲ میلی‌لیتر Na_2CO_3و ۲/۵ میلی‌لیتر فولین ۱۰ درصد به آن‌ها اضافه شد و حجم نهایی آن‌ها با آب مقطر به حجم ۵ میلی‌لیتر رسانده شد. پس از قرار دادن نمونه‌ها به‌مدت۳۰ دقیقه در تاریکی، جذب نمونه‌ها در ۷۶۵ نانومتر خوانده شد. برای رسم منحنی کالیبراسیون فنل‌کل از محلول استاندارد گالیک اسید استفاده شد.

اندازه‌گیری میزان فلاونوئید کل: برای اندازه‌گیری مقدار فلاونوئید کل از روش کالری متری آلومینیوم- کلراید استفاده شد (Chang et al., 2002).جهت استخراج فلاونوئید، ۰/۱ گرم از هر یک از عصاره‌ها در ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد حل شد، سپس ۰/۱ میلی‌لیتراز محلول حاصل به ۰/۱ میلی‌لیتر $AlCl_3$ ۱۰٪، ۰/۱ میلی‌لیتر سدیم استات ۱ مولار، ۱/۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۶ درصد و ۳/۲ میلی‌لیتر آب مقطر افزوده و پس از انجام ورتکس، جذب آن‌ها بعد از گذشت زمان ۳۰ دقیقه در طول موج ۴۱۵ نانومتر خوانده شد. برای رسم منحنی کالیبراسیون از کوئرستین به‌عنوان استاندارد استفاده شد.

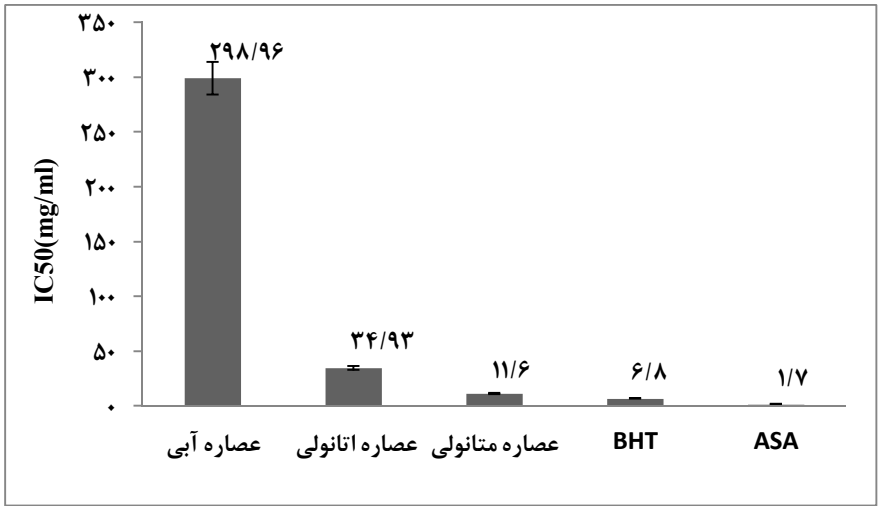
اندازه‌گیری مقدار آنتوسیانین کل: برای اندازه‌گیری مقدار آنتوسیانین کل، ۰/۰۱ گرم از پودر خشک گیاه به ۲ میلی‌لیتر متانول اسیدی (محلول اسیدکلریدریک ۱ درصد در متانول) اضافه و به‌مدت ۲ ساعت در تاریکی و در دمای اتاق نگه‌داری شد.پس از آن به منظور حذف ذرات معلق، ۱۵ دقیقه با دور rpm ۲۰۰۰۰ سانتریفیوژگردید و جذب محلول حاصل در دو طول موج ۵۳۰ و ۶۵۳ نانومتر قرائت شد. مقدار آنتوسیانین کل با استفاده از فرمول (۲) و معادل میکروگرم سیانیدین ۳- گلیکوزید با ضریب مولی $۲۶۹۰۰۱\ mol^{-1}cm^{-1}$ و جرم مولی ۴۴۹/۲g/mol محاسبه شد (Ozsoy et al., 2008).

$$A = A530 - (0.24 * A653) \quad (۲)$$

A: جذب محلول‌ها (اعدادانديس نشانگر طول موج‌هایی است که جذب در آنها اندازه‌گیری شده است)

نتایج

در نتایج بدست آمده از تست آنتی اکسیدان عصاره‌ها با استفاده از روش کاهش ظرفیت رادیکالی به کمکرادیکال DPPH، میزان IC_{50} برای عصاره متانولی ۱۱/۶۰ (میکروگرم بر میلی‌لیتر) و برای عصاره اتانولی و آبی به‌ترتیب ۳۸/۱۹ و ۳۰۲/۸۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر ارزیابی شد. مقدار IC_{50} برای ASA و BHT به‌عنوان کنترل مثبت، به‌ترتیب ۱/۷۶ و ۶/۸۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر اندازه‌گیری شد. شکل (۱) مقایسه مقادیر IC_{50} عصاره‌های مختلف گیاه را در مقابل ASA و BHT نشان می‌دهد. نتایج نشان می‌دهد که فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی از سایر عصاره‌ها بیشتر است، این مقدار تقریباً نزدیک به عملکرد آنتی اکسیدان سنتزی BHT می‌باشد و حداقل قدرت آنتی‌اکسیدانی بدست آمده برای عصاره آبی است.



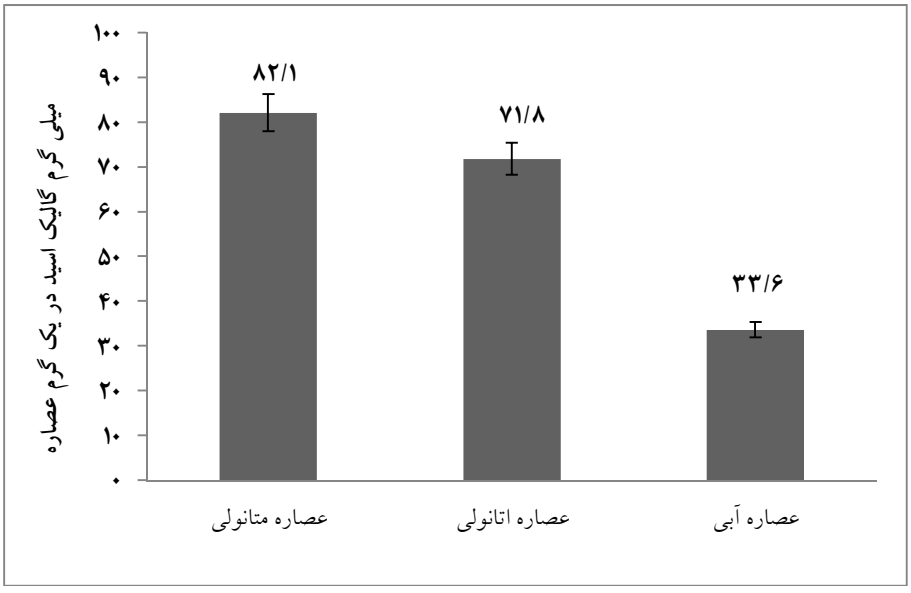
شکل ۱: مقایسه قدرت آنتی‌کسیدانی عصاره‌های مختلف در مقایسه با استانداردهای آسکوربیک اسید و BHT در روش DPPH

در بررسی قدرت آنتی اکسیدانی به روش FRAP، با توجه به معادله خط حاصل از منحنی کالیبراسیون استاندارد $FeSO_4.7H_2O$ برای محاسبه غلظت یون Fe^{+2}که به‌صورت $y=3.8171x-0.0964$ $(R^2=0.988)$ است، نتایج قدرت احیا کنندگی عصاره‌های مختلف برحسب معادل میلی‌مول یون فروس تولید شده برمیلی‌گرم وزن عصاره در جدول (۱) بیان شده است.نتایج نشان می‌دهد که عصاره متانولی با مقدار ۱۴/۲۳ $mMFe^{2+}$/mg sample دارای بیشترین مقدار قدرت احیاءکنندگی در مقابل عصاره‌های اتانولی و آبی به‌ترتیب ($mMFe^{2+}$/mg ۸/۲۰sample و ۱/۰۱ $mMFe^{2+}$/mg sample) است.

جدول ۱: نتایج قدرت احیاءکنندگی عصاره‌های مختلف گیاه در مقایسه با اسکوربیک اسید در روش FRAP

نمونه‌ها	قدرت احیاءکنندگی ($mMFe^{2+}$/mg sample)
اسکوربیک اسید	۴۲/۱۰
عصاره متانولی	۱۴/۲۳
عصاره اتانولی	۸/۲۰
عصاره آبی	۱/۰۱

با مشخص شدن معادله خط حاصل از استاندار گالیک اسید برای محاسبه محتوای فنل کل $(R^2=0.9986)y=22.573x+0.0044$، مقادیر فنل کل عصاره‌های مختلف اندازه‌گیری شد. میزان کمی بدست آمده برای عصاره متانولی، اتانولی و آبی به‌ترتیب ۸۲/۱۰، ۷۱/۸۷ و ۳۳/۶۵ میلی‌گرم گالیک اسید بر ۱ گرم عصاره خشکارزیابی شد. مقایسه میزانفنل کل عصاره‌های مختلف در شکل(۲) نشان داده شده است. با توجه به شکل (۲)، عصاره متانولی با دارا بودن مقدار ۸۲/۱۰ میلی گرم گالیک اسید دارای بیشترین مقدار فنول کل را در مقابل سایر عصاره‌ها (اتانولی ۷۱/۸۷ میلی‌گرم و آبی ۳۳/۶۵ میلی‌گرم گالیک اسید در هر گرم عصاره خشک) است.



شکل ۲: مقایسه مقادیر فنول کل درعصاره‌های مختلف در گیاه بادرشبو

پس از بدست آمدنمعادله خط منحنی استاندارد کوئرستین جهت محاسبه محتوای فلاونوئید ($y=8.775x+0.024$ $R^2=0.993$)، محتوای فلاونوئید عصاره‌های مختلف اندازه‌گیری شد. میزان کمی بدست آمده برای عصاره متانولی، اتانولی و آبی به‌ترتیب ۳۴/۰۲، ۲۸/۸۰ و ۱/۰۲میلی‌گرم کوئرستین بر ۱ گرم عصاره خشک تعیین شد. مقایسه مقدار فلاونوئید عصاره‌های مختلف در شکل (۳) نشان داده شده است. نتایج نشان می‌دهد که مقدار فلاونوئید عصاره متانولی بیشتر از سایر عصاره‌ها است. همچنین با ارزیابی میزان آنتوسیانین موجود در گیاه (۱۱۳/۵۵µg/g)، این‌گونه استنباط شد که گیاه بادرشبو دارای مقدار زیاد ترکیبات آنتوسیانینی می‌باشد که یکی از دلایل بالا بودن خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن را شامل می‌شود.

شکل ۳: مقایسه مقدار فلاونوئید کل در عصاره‌های مختلف گیاه بادرشبو

بحث

امروزه یکی از بهترین منابع آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی، ترکیبات فنلی گیاهان می‌باشند، آنتی‌اکسیدان‌های پلی‌فنلی یک گروه ویژه از متابولیت‌های ثانویه را تشکیل می‌دهند که نقش مهمی در حفاظت بافت‌ها در مقابل اثرات اکسید کنندگی رادیکال‌های آزاد اکسیژن و سایر گونه‌های فعال ایفا می‌کنند (Mazandarani et al., 2011).رادیکال‌های آزادکه در روند پراکسیداسیون لیپیدها درگیر هستند، نقش عمده و متعددی دربیماری‌هایمختلف دارند، یک مولکول آنتی‌اکسیدان با جلوگیری از واکنش‌های اکسیداسیون نقش مهمی در مهار رادیکال‌های آزاد دارد. مصرف پلی‌فنلها، مانند فلاونوئیدهای غنی از آنتی‌اکسیدانمی‌تواند فوائد موثر و بالقوه‌ای بر سلامت انسان داشته باشد (Muller et al., 2011). دستمالچی و همکاران (Dastmalchi et al., 2007) در مطالعه‌ای که بر روی خواص آنتی‌اکسیدانی گیاه *D.moldvica* به روش DPPH انجام دادند، نشان دادند که عصاره آبی این گیاهبا داشتن IC_{50}=۴۴۵/۹µg/ml دارای خواص آنتی‌اکسیدانی می‌باشد.در پژوهش حاضر با توجه به قابلیت احیاءکنندگی، عصاره متانولی در روش FRAP دارای بالاترین میزان احیاکنندگی است. به گونه‌ای که می‌توان این‌گونه نتیجه گرفت که این عصاره با کمک اهداء الکترون می‌تواند موجب ختم واکنش‌های زنجیره‌ای رادیکال‌ها آزاد شود. مطالعات پیشین در مورد خواص آنتی اکسیدانی گیاه بادرشبو به روشFRAP نشان داد که عصاره آبی این گیاه موجب احیای یون Fe^{2+} و کلات شدن آن می‌شود. همچنین

عصاره این گیاه دارای قابلیت تجزیه رادیکال‌های سنتزی و بیولوژیکی مانند یون سوپراکسید می‌باشد و از فسفولیپیدها و کربوهیدارت‌ها در مقابل تجزیه‌شدن به وسیله‌ی رادیکال‌های هیدروکسیل حد واسط محافظت می‌کند (Babalar et al., 2014). در این مطالعهبالاترینمحتوای فنل کل (۱۰mgGAE/g ۸۲/)، فلاونوئید کل (۳۴/۰۲mgQUE/g) مربوط به عصاره متانولی بوده است. همانگونه که مشاهده می‌شود هرچه محتوای فنلی و فلاونوئیدکل در عصاره‌ها افزایش یابد خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن عصاره نیز افزایش می‌یابد. افزایش ترکیبات فنلی به‌طور مستقیم میزان توانایی عصاره‌های مختلف را در مهار رادیکال‌های آزاد افزایش می‌دهد، در غلظت‌های بالاتر ترکیبات فنلی، به‌دلیل افزایش تعداد گروه‌های هیدروکسیل حلقه‌های آروماتیک ترکیبات فنلی در محیط واکنش احتمال دادن هیدروژن به رادیکال‌های آزاد و به دنبال آن قدرت مهار کنندگی عصاره افزایش می‌یابد (Bahramikiaand Yazdanparast, 2008). اسیدهای فنلی جدا شده از گیاه بادرشبو به عنوان آنتی‌کسیدان‌های مهم می‌باشند، از جمله این اسیدهای فنلی می‌توان بهترکیبات قطبی نظیر فلاونوئیدها، اسیدهای فرولیک، کافئیک‌اسید، لوتئولین، ۱-۷ گلیکوزید ورزمارینک اسید که یک آنتی‌اکسیدان فعال و قوی است، اشاره کرد (Yang et al., 2014). ترکیبات فنلی به‌صورت موثری به‌عنوان دهنده هیدروژن عمل نموده لذا به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان موثر عمل می‌کنند (Golluce et al., 2007). آنتوسیانین‌ها نیز دسته مهمی از ترکیبات فنلی می‌باشند، که به علت دارا بودن گروه‌های الکترون‌دهنده در ساختمان خود می‌توانند نقش آنتی‌اکسیدان را در برابر عوامل اکسیداتیو نظیر اشعه ماورا بنفش، رادیکال‌ها آزاد و تنش‌های حرارتی– محیطی ایفا کنند (Pascual et al., 2010). در مطالعه حاضر نیز مقدار قابل توجه آنتوسیانین (۱۱۳/۵۵µg/g) بدست آمده تائیدی بر بالا بودن خاصیت آنتی‌اکسیدانی گیاه *D.moldvica* می‌باشد. در بررسی دیگری که محققین خاصیت آنتی‌اکسیدانی گونه دیگری از این جنس *D.integrifolium* را به روش DPPH انجام دادند مشخص شد که عصاره این گیاه خاصیت آنتی‌اکسیدانی خوبی داشته ولی از BHT کمتر بوده است (Zhong et al., 2011). یافته‌های این تحقیق نیز نشان داد که گیاه بادرشبو به‌دلیل توانایی سنتز ترکیبات فنلی، فلاونوئیدیو آنتوسیانینی دارای خواص آنتی اکسیدانی بالایی می‌باشد. در مطالعه حاضر خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره‌ها از BHT کمتر بود ولی عصاره متانولی بادرشبو با داشتن IC_{50} نزدیک به BHT و با خاصیت آنتی اکسیدانی خوبی که داشته است، می‌تواند جایگزین مناسبی برای آنتی‌اکسیدان سنتزی مانند BHT باشد.

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج بدست‌آمده از این پژوهش نشان داد که گیاه بادرشبو دارای مقادیر بالایی از انواع ترکیبات طبیعی آنتی‌اکسیدان از جمله پلی فنل‌ها، فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها می‌باشد، ترکیبات فنلی به‌دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی از جمله ترکیبات مهم گیاه محسوب می‌شوند. همچنین عصاره متانولی گیاه با توانایی احیاء کنندگییونآهن (III) به یون آهن (II)، با اهداء الکترون فعالیت ضدپراکسید شدن چربی را از خود نشان می‌دهد و به سبب این خاصیت آنتی اکسیدانی می‌تواند جایگزین مناسبی برای آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی باشد. برای استفاده عملی از خواص آنتی‌اکسیدانی این قبیل گیاهان در زمینه‌های مختلف باید تحقیقات بیشتری در زمینه ارزیابی قدرت آنتی‌اکسیدانی در مدل‌های غذایی انجام شود.

تشکر و قدردانی

پژوهشگران برخود لازم می‌دانند مراتب تقدیر و تشکر خود را نسبت به حمایت‌های مالی دانشگاه سیستان و بلوچستان در راستای انجام این پژوهش اعلام نمایند.

References

1. Babalar, M., Mohtashami, S., Ebrahimzadeh Musavi, S.M. and Mirjalili, M.H. 2014. The effect of different packaging methods on quantitative and qualitative characteristics of Dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L.). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 30(1): 142-156
2. Bahramikia, S., and Yazdanparast, R. 2008. Antioxidant and free radical scavering activities of different fractions of *Anethumg raveolence* leaves using in vitro models .Pharmacology online, 2: 233- 219.
3. Chang, C., Yang, M., Wen, H., and Chern, J. 2002.Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. Journal of Food and Drug Analaysis, 10: 178-182.
4. Dastmalchi, K., Dorman, HJD., Kosar, M.,and Hiltunen, R. 2007. Chemical composition and in vitro antioxidant evaluation of a water-soluble Moldavian balm (*Dracocephalum moldavica* L.) extract. Food Science and Technology, 40: 239-248.
5. Golluce, M., Sahin, F. and Sokmen, M. 2007. Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from (*Mentha longifolia* L.) *Longifolia*. Food Chemistry, 103:1449-1456.
6. Hussein, MS., EI-Sherbeny, S.E., Khalil, MY., Naguib, NY., and Aly, SM. 2006. Growth characters and chemical constituents of *Dracocephalum moldavica* L. plants in relation to compost fertilizer and planting distance. Journal of Scientica Horticulture, 108: 322- 331.
7. Jiang, J., Yuan, X., Wang, T., Chen, H., Zhao, H., Yan, X., Wang, Z., Sun, X., and Qiusheng, Z.2014. Antioxidative and Cardio protective Effects of Total Flavonoids Extracted from *Dracocephalum moldavica* L. Against Acute Ischemia /Reperfusion-Induced Myocardial Injury in Isolated Rat Heart. Journal of Cardiovascular Toxicology, 14: 74-82
8. Kartal, N., Sokmen, M., Tepe, B., Daferera, D., Polissiou, M., and Sokmen, A. 2007. Investigation of the antioxidant properties of *Ferulaorientalis* L. using a suitable extraction procedure. Food Chemistry, 100(2): 584-589.
9. Kamalizadeh, M., Bihamta, MR., Peyghambari, S.A., and Hadian, J. 2015. The effect of different levels of titanium dioxide nanoparticle on production of two major phenolic compounds in dragonhead herb (*Dracocephalum moldavica* L.). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 31(3): 428-435.
10. Kumaran, A., and Karunakaran, R.J. 2006. Antioxidant and free radical scavenging activity of an aqueous extract of *Coleus aromaticus*. Food Chemistry, 97:109-114.
11. Koksal, E., Bursal, E., Dikici, E., Tozoglu, F., and Gulcin, L. 2011. Antioxidant activity of *Melissa officinalis* leaves. Journal of Medicinal Plants Research, 5(2): 217-222.
12. Maham, M., Akbari, H., and Delazar, A. 2013. Chemical composition and antinociceptive effect of the essential oil of *Dracocephalum moldavica* L. Pharmaceutical sciences, 18(4): 187-192.
13. Mathew, S., and Abraham, TE. 2006. In vitro antioxidant activity and scavenging effects of *Cinnamomumverum* leaf extract assayed by different methodologies. Food and Chemical Toxicology, 44:198-206.
14. Mazandarani, M., Makri, S., Bajian, G. 2011. Evaluation of phytochemical and antioxidant activity in different parts of *Heracleum gorganicumrech* in Golestan province, north of Iran. Iranian Journal Plant Physiology, 2(2): 381-388.
15. Mehrabani, M., Roholahi, S., and Foruomadi, A. 2005. Phytochemical studies of *Dracocephalum polychaetum* Bornm. Journal of Midicine Plants, 4 (16):36-42.
16. Müller,L., Frohlich, K., and Bohm, V. 2011. Omparative antioxidant activities of carotenoids measured by ferric reducing antioxidant power (FRAP), ABTS bleaching assay (aTEAC), DPPH assay and peroxyl radical scavenging assay. Food Chemistry, 129:139–148.
17. Ozsoy, N., Can, A., Yanardag, R., and Akev, N.2008. Antioxidant activity of *Smilaxexcelsa* L. leaf extracts. Food Chemistry, 110: 571–583.
18. Pascual -Teresa, S., Moreno, DA., and Viguera, C. 2010. Flavanols and anthocyanins in cardiovascular health: a

review of current evidence. International Journal of Moulecular Sciences, 11: 1679-1703.

19. Rashedi, H., Amiri, H., Gharezi, A. 2015. Assessment of phytochemical and antioxidant properties of the *Capparis spinosa* L. in Khuzestan province. Journal of Qazvin University Medicinal Studies, 18(6):11-17

20. Roby, MHH., Sarhana, MA., Selima, KAH., and Khalel, Kl. 2013. Evaluation of antioxidant activity, total phenols and phenolic compounds in thyme (*Thymus vulgaris* L.), sage (*Salvia officinalis* L.), and marjoram (*Origanummajorana* L.) extracts. Industrial Crops and Products, 43:827– 831.

21. Sadeghi, Z., Valizadeh, J., AzizianShermeh, O., and Akaberi, M. 2015. Antioxidant activity and total phenolic content of *Boerhaviaelegans* (choisy) grown in Baluchistan, Iran. Avicenna Journal of Phytomedicine, 5 (1): 1-9.

22. Said-Al Ahl, HAH., Sabra, AS., El Gendy, ANG., Aziz, EE., and Tkachenko, KG. 2015. Changes in content and chemical composition of *Dracocephalum moldavica* L. essential oil at different harvest dates. Journal of Medicinal Plants Studies, 3(2): 61-64

23. Sultan, A., Bahang, H., Aisa, HA., and Eshbakova, KA. 2008. Flavonoids from *Dracocephalummoldavica*. Chemistry of Natural Compounds, 44: 366-367.

24. Shahwar, D., AsamRaza, M., Bukhari, S., and Bukhari, G.2012. Ferric reducing antioxidant power of essential oils extracted from *Eucalyptus* and *Curcuma* species. Asian Pacific Journal of Trop Biomed, 2(3):1633-1636

25. Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L., and Byrne, DH. 2006. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from *guava* fruit extracts. Journal of Food CompositionAnalaysis, 19: 669–675.

26. Yang, LN., Xing, JG., He, CH., and Wu, T.2014. The phenolic compounds from *Dracocephalum moldavica* L. Biochemical Systematics and Ecology, 54:19–22.

27. Zhong, Y., Li, JC., Liu, YM., and Su, Jx. 2011. Study on Antioxidant Activity of *Dracocephalum integrifolium*. Food and Nutrition in Cina, 05.

28. Zohouri, A.,Tabatabaee Yazdi, F., Mortazavi, SA., and Shahidi, F. 2014. Comparision efficiency and extraction of color and natural compounds from red beet by maceration and ultrasonic extraction methods. Journal of Food Science & Technology, 52(13): 50-56.

The study and comparison of phytochemical and antioxidant activity of various extracts of *Dracocephalum moldavica* L.in Sistan and Baluchestan province

Mehrabi M.[1], Hazeri N.[1*], Valizadeh J.[2], Valizadeh M.[3]
[1]Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Sistan and Baluchestan, Zahedan, Iran
[2]Department of Biology, Faculty of Science, University of Sistan and Baluchestan, Zahedan, Iran
[3] Department of Medicinal Plants, Faculty of Agriculture, University of Sistan and Baluchestan, Zahedan, Iran

Received Time: 2016/11/26 Accepted Time: 2017/04/23

Abstract

Dracocephalum moldavica L. is an annual herb belongs to *Lamiaceae* family, which has been used to treat of gastrointestinal, liver disorders and headaches.In this study, flowering branches of plant were collected from the greenhouse of the university of Sistan and Baluchestan in March 2016. The methanol, ethanol, and aqueous extracts of plant were obtained by using maceration method. The amount of total phenolic, flavonoid and anthocyanin contents were evaluated by spectrophotometric methods and the antioxidant activity of the extracts were determined by FRAP and DPPH methods. The results were showed that the phenolic and flavonoid contents different of methanol, ethanol and aqueous extracts were (82.10, 71.8and33.65 mg GAE/g) and (34.02, 28.8and1.02mg QUE/g), respectively. In the evaluation of antioxidant activity by DPPH, the inhibitory power of methanol, ethanol and aqueous extracts were (11.60, 34.93 and 298.96 µg/ml) respectively, and (14.23, 8.20 and 1.01 mM Fe^{2+}/ mg) respectively, sample in FRAP assay. The methanol extract of plant had the greatest content of phenolic (82.10 mg GAE / g), flavonoids (34.02 mg QUE/g) and anthocyanin(113.55µg/g) and antioxidant activity compared to ethanol and aqueous extracts, especially it also had the greatest DPPH inhibitory power (IC_{50}= 11.60 µg/ml).

***Keywords*:** Antioxidant, Anthocyanin, Flavonoid, Phenolic, *Dracocephalum moldavica* L. *solvents*