Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences
Vol. 20, No. 1, Mar-Apr 2012
Pages: 28-38

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
دوره ۲۰ ، شماره ۱، فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۱
صفحه: ۳۸-۲۸

Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 2:01 IRST on Monday January 18th 2021

بررسی قابلیت اسانس و فراکشن‌های مختلف عصاره متانولی آویشن شیرازی، مریم گلی، رزماری، خالواش و دارچین در مهار رادیکال‌های آزاد

ناصرحسینی[۱]، علی اکبر ملکی راد*[۲]، سعید چنگیزی آشتیانی[۳]، منا ناظمی[۴]

۱- مربی گروه گیاهان دارویی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه اراک
۲- استادیار گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران
۳- استادیار گروه فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی اراک، ایران
۴- کارشناس ارشد علوم گیاهی، دانشگاه آزاد واحد بروجرد

تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۱۰/۱۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۷/۲۸

چکیده

مقدمه: اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهان دارویی به عنوان مواد طبیعی محافظت کننده مواد غذایی و داروهای افزاینده سلامتی مطرح هستند. اکثر این ترکیبات با داشتن خاصیت آنتی‌اکسیدانی از استرس اکسیداتیو جلوگیری می‌کنند. هدف از این مطالعه مقایسه ظرفیت آنتی اکسیدانی اسانس و فراکشن‌های مختلف عصاره متانولی گیاهان دارچین، خالواش، مریم گلی، آویشن شیرازی و رزماری بود.

روش بررسی: این مطالعه از نوع کارآزمایی آزمایشگاهی می‌باشد. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی اسانس و فراکشن‌های مختلف عصاره متانولی این گیاهان از طریق اندازه‌گیری توانایی مهار کنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) مورد ارزیابی قرار گرفت.

نتایج: نتایج نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین اسانس و فراکشن‌های مورد مطالعه از نظر فعالیت آنتی اکسیدانی وجود داشت. فراکشن‌های اتیل استاتی نسبت به سایر فراکشن‌های مورد بررسی و حتی BHT (Butyl Hydroxyl Toluene) به عنوان آنتی‌اکسیدان سنتزی(IC50 برابر۲۳۹/۵ µg/ml) دارای خاصیت آنتی اکسیدانی بالاتری بودند و بیشترین فعالیت مربوط به خالواش (۴۷/۲ µg/ml) بود. در میان سایر فراکشن‌ها نیز بیشترین فعالیت در فراکشن‌های ان-هگزانی رزماری با IC50 (۹۶۹ µg/ml) دی‌کلرومتانی رزماری(۲۰۵/۴۶ µg/ml) و فراکشن‌های آبی دارچین(۱۱۷/۶ µg/ml) و مریم گلی(۳۲۱/۳ µg/ml) مشاهده شد. براساس نتایج این مطالعه فراکشن اتیل استاتی در گیاهان مورد بررسی بیشترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی را دارد و فراکشن آبی در رتبه بعدی قرار می‌گیرد.

نتیجه‌گیری: به طور کلی با توجه به فعالیت آنتی اکسیدانی قابل ملاحظه موارد ذکر شده این فراکشن‌ها می‌توانند به عنوان آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی در صنعت مورد استفاده قرار گیرند.

واژه‌های کلیدی: فعالیت آنتی اکسیدانی، عصاره متانولی، آویشن‌شیرازی، مریم گلی، رزماری، خالواش و دارچین

* (نویسنده مسئول)؛ تلفن: ۲۸۵۴۲۲۵- ۰۲۵۱، پست الکترونیکی: malekirad@tabrizu.ac.ir

Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 2:01 IRST on Monday January 18th 2021

مقدمه

رادیکال‌های آزاد با دارا بودن الکترون‌های تک بسیار واکنش پذیرند و آسیب‌های فراوانی را به مولکول‌های زیستی مانند پروتئین‌ها، لیپیدها، نوکلئیک اسیدها و کربوهیدرات‌ها وارد می‌کنند(۱). خوشبختانه در بدن به منظور مقابله با آسیب ناشی از رادیکال‌های آزاد سیستمی به نام سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی وجود دارد که شامل دو نوع سیستم آنزیمی و غیر آنزیمی است(۲). آنزیم‌هایی چون سوپر اکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز اجزای تشکیل دهنده سیستم دفاعی آنزیمی به عنوان مهمترین سیستم آنتی‌اکسیدانی سلولی هستند. در مقابل، ترکیباتی چون ویتامین E(α-توکوفرول)، کارتنوئیدها، اسید آسکوربیک، بیلی‌روبین، بتا-کاروتن، اسید اوریک، گلوتاتیون و برخی هورمون‌ها مانند استروژن و آنژیوتانسین سیستم دفاعی غیر آنزیمی را تشکیل می‌دهند و با جلوگیری از تشکیل رادیکال‌های آزاد، ترمیم صدمات وارده، افزایش دفع مولکول‌های صدمه دیده و به حداقل رساندن جهش‌های سلولی، آسیب ناشی از فعالیت رادیکال‌های آزاد را به حداقل می‌رسانند(۱،۴،۳). در نتیجه برهم خوردن تعادل میان تولید و حذف رادیکال‌های آزاد در اثر دخالت عواملی چون آلاینده‌های محیطی، تنش‌های اکسیداتیو بوجود می‌آیند که عوامل شناخته شده در ایجاد بیش از یکصد بیماری در انسان هستند. مصرف برخی آنتی اکسیدان‌های سنتتیک از جمله بوتیل هیدروکسی تولوئن (BHT) در پاره‌ای از ابهام قرار دارد چرا که وجود چنین ترکیباتی در مواد غذایی ممکن است باعث ایجاد برخی بیماری‌ها مانند سرطان گردد. بنابراین، به ویژه با توجه به اینکه در طی سال‌های اخیر که استفاده از مواد غذایی کنسرو شده به دلیل تغییرات در سبک زندگی فزونی یافته است، یافتن مواد طبیعی با خاصیت آنتی اکسیدانی بالا از اهمیت زیادی برخوردار است. در این راستا، اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی به عنوان عوامل بسیار مناسب محافظت کننده مواد غذایی مطرح هستند(۵). این ترکیبات علاوه بر اینکه غالبا نسبتا ایمن بوده و مورد پذیرش مصرف کننده‌ها هستند همچنین از فعالیت‌های مفید دیگری نیز برخوردارند که موجب افزایش اهمیت آن‌ها می‌گردد(۷،۶).

آویشن شیرازی (Zataria multiflora)، مریم گلی(Salvia officinalis)، رزماری(Rosmarinus officinalis)، خالواش (Mentha pulegium) و دارچین(Cinnamomum zeylanicum) سال‌هاست که در نقاط مختلف جهان به عنوان گیاهان دارویی و ادویه‌ای مهم استفاده می‌شوند(۸). گیاه آویشن شیرازی به عنوان ادویه استفاده شده و بدلیل وجود ترکیبات فنلی تیمول و کارواکرول دارای اثر ضد باکتریایی می‌باشد(۹). امروزه اسانس مریم گلی یکی از مهمترین طعم دهنده‌های غذایی محسوب می‌شود و ترکیبات موجود در عصاره آن نیز اثر آنتی اکسیدانی دارند(۱۰،۱۱). ترکیب‌های رزماری در صنایع مختلف از اهمیت خاصی برخوردار می‌باشد به خصوص که به علت خواص متعدد آن از جمله عطر و بوی مناسب و خوبی که از آن متساعد می‌شود به عنوان آرامبخش، نگهدارنده رنگ و طعم غذا و آنتی‌اکسیدان قوی مصرف فراوان دارد(۱۲). مطالعات قبلی تیم ما نشان داده که دارچین و خالوش دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی در افراد سالم و محیط‌های شغلی می‌باشند و می‌توانند در پیش‌گیری از بیماری‌های مختلف موثر باشند(۱۳،۱۴). با توجه به کاربردهای فوق این گیاهان در صورت دارا بودن فعالیت مناسب آنتی اکسیدانی می‌توانند به عنوان عوامل محافظ مواد غذایی و نیز مواد پیشگیری کننده از بیماری‌های مختلف مورد استفاده قرار گیرند. مطالعاتی که تا کنون بر روی این گیاهان انجام شده بیشتر به بررسی توان آنتی‌اکسیدانی اسانس و یا عصاره متانولی و اتانولی پرداخته‌اند. از آنجا که استفاده از حداقل مقدار مواد افزودنی به عنوان نگهدارنده، طعم دهنده و یا آنتی‌کسیدان، جهت جلوگیری از تاثیر نامطلوب احتمالی ضروری است. لذا شناسایی موثرترین بخش دارای اثر مورد نظر از اهمیت بالایی برخوردار است. از این رو جدا سازی و بررسی توانایی مهار کنندگی رادیکال‌های آزاد توسط بخش‌های مختلف عصاره متانولی نیاز است. با توجه به عدم مطالعه جامع و همزمان در زمینه فعالیت آنتی‌اکسیدانی این گیاهان در این مطالعه توانایی مهار کنندگی رادیکال‌های

Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 2:01 IRST on Monday January 18th 2021

آزاد ۲ و ۲-دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل(DPPH) توسط اسانس و فراکشن‌های مختلف عصاره متانولی گیاهان مذکور مورد بررسی قرار گرفت.

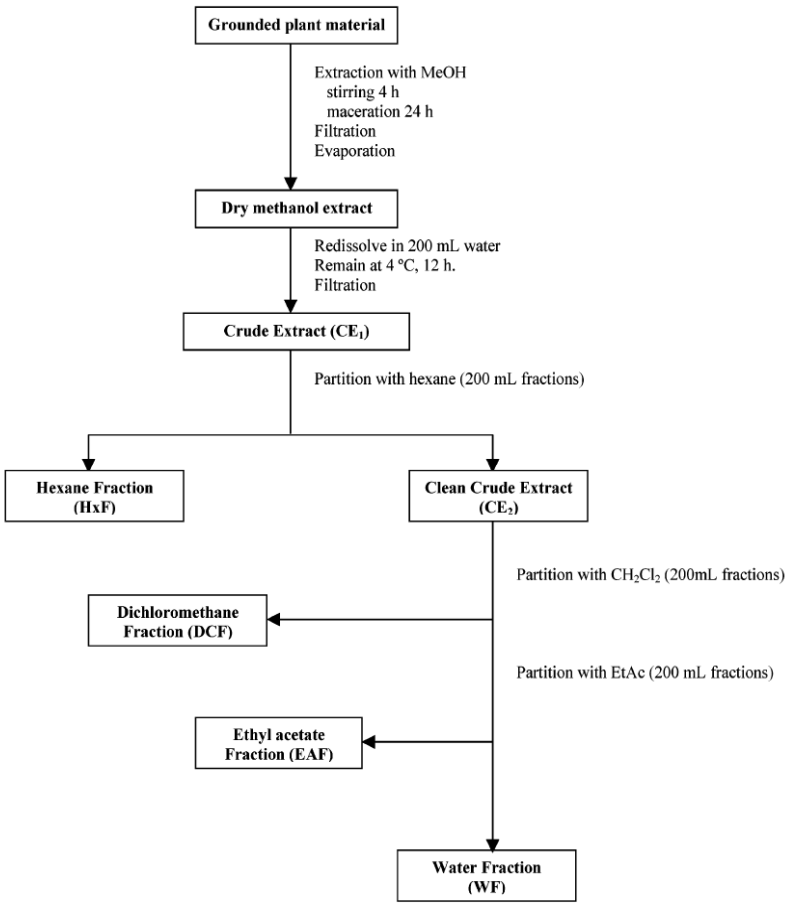
روش بررسی

موادگیاهی: نمونه‌های خشک دارچین، رزماری و آویشن شیرازی از بازار تهیه شدند، گیاه مریم گلی در اوائل تابستان از مزرعه گیاهان دارویی دانشگاه اراک برداشت شد و نمونه خالواش نیز در اوائل پاییز از اطراف رشت جمع آوری گردید. صحت گیاه شناختی گونه‌های مورد مطالعه در گروه گیاهان دارویی دانشکده کشاورزی دانشگاه اراک تایید شد.

مواد شیمیایی: به منظور انجام مطالعه، متانول، ان-هگزان، دی کلرومتان، اتیل استات و BHT از شرکت مرک (آلمان)، DPPH از شرکت سیگما (آمریکا) و آب مقطر دو بار تقطیر از شرکت پویا (اراک) خریداری گردید. همچنین از کاغذ صافی Whatman شماره ۳۰ استفاده شد.

۱-۳- دستگاه‌ها: دستگاه‌های مورد استفاده در آزمایش شامل کلونجر(فارماکوپه بریتانیا)، اسپکتروفتومتر Unic-4802، (آمریکا)، دستگاه تقطیر در خلاء Heidolph (آلمان) و شیکر بود.

تهیه اسانس: از هر یک از نمونه های گیاهی مقدار ۵۰ گرم توزین و با استفاده از آسیاب برقی پودر گردید. پودر حاصل از هر گیاه به طور جداگانه در داخل یک بالن یک لیتری ریخته شد و مقدار ۵۰۰cc آب مقطر به آن اضافه گردید. اسانس‌گیری به مدت ۳ ساعت با دستگاه کلونجر انجام شد و اسانس‌های حاصل پس از برداشت و آبگیری در ظروف تیره جهت انجام آزمایش نگهداری شدند.



شکل ۱: جداسازی فراکشن‌های مختلف عصاره متانولی گیاهان مورد مطالعه(۱۵).

Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 2:01 IRST on Monday January 18th 2021

تهیه عصاره: عصاره متانولی گیاهان مورد مطالعه به روش خیساندن(maceration) بدست آمد. بدین منظور، مقدار ۵۰ گرم پودر هر گیاه در داخل ارلن ۵۰۰ میلی‌لیتری ریخته شد و مقدار ۲۰۰cc متانول خالص به آن اضافه گردید. نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت بر روی شیکر با دور ۱۳۰ قرار گرفتند و پس از آن با عبور مخلوط از کاغذ صافی شماره ۳۰ عصاره متانولی اولیه حاصل گردید. این عمل با افزودن ۱۵۰ cc متانول به مواد باقیمانده تکرار شد. در نهایت، عصاره حاصل با استفاده از دستگاه تقطیر در خلاء در دمای ۵۰ درجه تغلیظ شد. عصاره تغلیظ شده به ارلن منتقل و ۲۰۰cc آب مقطر به آن اضافه گردید. در نهایت، به منظور رسوب موم و مواد رزینی محلول آبی به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳ درجه سانتی گراد قرار گرفت و با عبور از کاغذ صافی صاف شد. جدا سازی فراکشن‌های مورد نظر بر اساس روش ارائه شده در شکل ۱ صورت گرفت

فراکشن‌های حاصله مجددا با استفاده از دستگاه تقطیر در خلاء تغلیظ و با انتقال به انکوباتور با دمای ۵۰ درجه به مدت ۴۸ ساعت خشک شدند.

بررسی آزمایشگاهی فعالیت آنتی اکسیدانی

این مطالعه از نوع کار آزمایی آزمایشگاهی می‌باشد. بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس و فراکشن‌های مختلف عصاره متانولی گیاهان مورد مطالعه با اندازه‌گیری توانایی مهار کنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH که با انتقال اتم H به این ماده و در نتیجه کاهش ظرفیت رادیکالی (Radical Scavenging Capacity: RSC) صورت می‌گیرد، انجام شد (۱۶). بدین منظور، از هر عصاره با استفاده از متانول غلظت‌های مختلف تهیه شد و ۱/۵ میلی‌لیتر از آن‌ها با ۳ میلی‌لیتر از محلول متانولی DPPH (۲۰μg/ml) در سه تکرار وارد واکنش گردید. در نهایت، میزان جذب نمونه‌ها و نمونه کنترل (محلول متانولی DPPH ۲۰μg/ml) بعد از ۲۰ دقیقه در طول موج ۵۱۷ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر قرائت شد. به منظور محاسبه درصد RSC هر نمونه از فرمول زیر استفاده گردید:

$$RSC(\%) = 100 \times \left(\frac{A_{control} - A_{sample}}{A_{control}} \right)$$

Acontrol : میزان جذب محلول کنترل

Asample : میزان جذب هر نمونه (۱۷)

IC50 که از آنالیز همبستگی خط‌ی مقادیر RSC در غلظت‌های مختلف هر نمونه به دست آمد، نشان‌دهنده غلظتی از ترکیب بر حسب میکرو گرم بر میلی لیتر است که موجب ۵۰٪ بازدارندگی در ظرفیت رادیکالی می‌شود. این شاخص با قدرت آنتی اکسیدانی نمونه‌ها نسبت عکس دارد. نتایج بدست آمده با بوتیل هیدروکسی تولوئن به عنوان کنترل مثبت مقایسه گردید.

آنالیز آماری

در پایان مطالعه، داده‌های حاصل با آنالیز واریانس یک طرفه مورد تجزیه قرار گرفتند و میانگین‌ها نیز با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح معنی‌داری ۵ درصد با یکدیگر مقایسه شدند. بدین منظور از نرم افزار آماری MSTAT-C استفاده شد.

نتایج

براساس نتایج حاصله از تجزیه واریانس، در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری میان فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس و فراکشن‌های مختلف عصاره متانولی در بین گیاهان مورد مطالعه مشاهده شد و معنی‌دار بودن این تفاوت با به کارگیری حرف مختلف در جدول ۱ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که اسانس گونه‌های مورد مطالعه در مقایسه با BHT به عنوان یک آنتی‌اکسیدان رایج با(IC50=(۲۳۹/۵μg/ml طور قابل توجهی از فعالیت آنتی اکسیدانی ضعیف‌تری برخوردار بودند(جدول ۱). به هر حال، در بین این نمونه‌ها بالاترین توان مهار کنندگی رادیکال‌های آزاد مربوط به اسانس آویشن شیرازی با IC50=(۶۷۷μg/ml) بود. به طور مشابه، فراکشن‌های ان-هگزانی نسبت به BHT از اثر آنتی اکسیدانی کمتری برخوردار بودند اما بیشترین میزان فعالیت به ترتیب مربوط به گیاهان رزماری با IC50 برابر با (۹۶۹ μg/ml)، آویشن (۱۸۶۲μg/ml) و مریم گلی (۲۶۳۲ μg/ml) بود. در

Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 2:01 IRST on Monday January 18th 2021

مقابل، در فراکشن دی کلرومتانی گیاه رزماری (IC50=(۲۰۵/۵μg/ml فعالیت آنتی اکسیدانی بیشتری نسبت به ترکیب آنتی اکسیدان استاندارد مشاهده شد. از سوی دیگر، تمامی فراکشن‌های اتیل استاتی مورد مطالعه با IC50 برابر ۴۷/۲ تا ۸۱/۹ میکرو گرم بر میلی لیتر در مقایسه با BHT فعالیت رادیکال زدایی بالاتری به نمایش گذاشتند به طوری که بیشترین اثر آنتی اکسیدانی مربوط به خالواش با (IC50=(۴۷/۲۲μg/ml بود. در میان فراکشن‌های آبی نیز بیشترین خاصیت خنثی کنندگی رادیکال به ترتیب مربوط به دارچین با IC50 برابر با(۱۱۷)، BHT (۲۳۹)، مریم گلی(۳۲۱) و رزماری (۷۲۵) میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. بدین ترتیب، در گیاه آویشن بیشترین اثر آنتی‌اکسیدانی به ترتیب مربوط به فراکشن اتیل استاتی، دی‌کلرومتانی، اسانس، فراکشن آبی و فراکشن ان-هگزانی بود. در گیاه مریم گلی بیشترین اثر آنتی اکسیدانی به ترتیب مربوط به فراکشن اتیل استاتی، آبی، دی کلرومتانی، اسانس و ان- هگزان بود. در گیاه رزماری بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی به ترتیب مربوط به فراکشن اتیل استاتی، آبی، دی‌کلرومتانی، ان-هگزانی و اسانس بود، در گیاه خالواش بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی را فراکشن‌های اتیل استاتی، آبی و دی‌کلرومتانی نشان دادند. در گیاه دارچین فراکشن آبی و اسانس دارای بیشترین مقدار اثر آنتی اکسیدانی بودند (جدول۱).

جدول ۱: توانایی مهار کنندگی رادیکال‌های آزاد اسانس و فراکشن‌های مختلف مورد مطالعه بر اساس میزان IC50μg/ml.

نوع گیاه	اسانس	ان-هگزان	دی کلرومتان	اتیل استات	آبی
آویشن شیرازی	c ۶۷۷±۱۰۴	b۱۸۶۲/۱۳±۱۰۰	c۳۴۴±۴۴/۴۶	b۷۳/۹±۱/۱۸	b۷۶۴/۴۸±۲۵/۵۴
مریم گلی	a۲۱۰۹۰±۲۱۸۱	a۲۶۳۲±۳۰۶	b۹۰۷±۱۹	b۷۸±۲/۷	c۳۲۱/۳±۱۳/۶۳
رزماری	c۳۴۹۸±۱۴۰۲	c۹۶۹±۱۷/۶۹	c۲۰۵/۴۶±۱۰	b۸۱/۹۴±۵/۳	b۷۲۵±۲۸
خالواش	-----	------	a۳۶۳۴ ±۲۴۴	c۴۷/۲۲±۳/۸	a۱۱۱۰±۵۳
دارچین	b۷۷۹۵±۱۲۸۱	------	-------	-----	e۱۱۷/۵۵±۷/۶۲
BHT	c۲۳۹/۵±۱۹/۸۸	d۲۳۹/۵±۱۹/۸۸	c۲۳۹/۵±۱۹/۸۸	a۲۳۹/۵±۱۹/۸۸	d۲۳۹/۵±۱۹/۸۸

در هر ستون اختلاف میانگین‌های دارای حرف مشابه، در سطح ۵ درصد معنی دار نمی‌باشند.

علامت ± نشان دهنده انحراف معیار است.

سلول‌های خط‌چین فاقد فراکشن مورد نظر بودند.

بحث

نتایج مطالعه ما نشان داد که فراکشن اتیل استاتی در تمام گیاهان مورد مطالعه دارای اثر آنتی‌اکسیدانی بیشتری نسبت به سایر فراکشن‌ها بوده که این به خاطر قطبی بود غالب ترکیبات آنتی اکسیدانی می‌باشد. علاوه بر این بالاتر بودن خاصیت آنتی‌اکسیدانی فراکشن آبی نسبت به دی‌کلرومتانی در برخی گیاهان مانند خالواش و مریم گلی نیز می‌تواند دلیلی بر وجود آنتی اکسیدان‌هایی با قطبیت بالا در این گیاهان باشد. از طرف دیگر غالب ترکیبات اسانسی و قابل حل در هگزان اثر آنتی‌اکسیدانی بالایی ندارند مگر در مواردی که این ترکیبات فنلی باشند و این دلیل پایین بودن خاصیت آنتی اکسیدانی اسانس‌ها و فراکشتن‌های ان-هگزانی در گیاهان مورد مطالعه است چرا که در برخی مطالعات وجود یک رابطه خطی میان فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌های گیاهی و میزان ترکیبات فنلی آنها به اثبات رسیده است(۱۸).

سینامالدئید جزء اصلی اسانس پوست دارچین است. با توجه به تاثیر شرایط محیطی بر کیفیت و کمیت ترکیبات موجود در اسانس گیاهان مختلف، به نظر می‌رسد که خاصیت کم آنتی‌اکسیدانی اسانس دارچین(IC50=۷۷۹۵μ g/ml) مورد مطالعه به دلیل مقادیر کم ترکیبات آنتی اکسیدان قوی مانند اوژنول و بالا بودن میزان سینامالدئید و ترکیبات سزکوئی‌ترپنی

Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 2:01 IRST on Monday January 18th 2021

در آن است. اسانس سایر گیاهان در مقایسه با BHT (IC50=۲۳۹/۵μg/ml) اثر آنتی اکسیدانی قابل توجهی ندارند. ترکیبات ترپینن-۴-ال و برونیل استات Bornyl (acetate) موجود در اسانس رزماری فاقد اثر آنتی اکسیدانی قابل توجه می باشند (۱۹). در مطالعه‌ای که توسط Lin و همکاران(۲۰۰۹) انجام شد اثر آنتی اکسیدانی اسانس رزماری ناچیز گزارش شده است(۲۰) که با نتایج مطالعه حاضر (IC50=۳۴۹۸μg/ml) مطابقت دارد. وجود بورنئول(Borneol) در اسانس مریم گلی می‌تواند توجیه کننده اثر آنتی اکسیدانی ناچیز(IC50=(۲۱۰۹۰μg/ml آن باشد(۲۱). در این بین بالا بودن نسبی اثر آنتی اکسیدانی اسانس آویشن شیرازی (IC50=۶۷۷μg/ml) بدلیل وجود ترکیبات فنلی تیمول و کارواکرول در اسانس آن است. همچنین به دلیل آنکه که تیمول ماده اصلی اسانس آویشن شیرازی است و این ماده در طی مدت زمان کوتاهی با ترکیبات اکسیدان واکنش می‌دهد، لذا در مدت زمان ۲۰ دقیقه اسانس گیاه اثر آنتی اکسیدانی خوبی را نشان می‌دهد(۹،۲۲،۲۳). Ruberto همچنین گزارش کرد که ترکیبات فنلی نظیر تیمول(Thymol) و کارواکرول(Carvacrol) بیشترین نقش را در ایجاد خاصیت آنتی اکسیدانی اسانس‌ها دارا بودند و پس از آن‌ها مونوترپن‌های هیدروکربنه نظیر γ-terpinene و terpinolene در مرتبه بعدی قرار گرفتند (۲۲). اجزای فنلی اسانس میخک هندی و دارچین مانند اوژنول(Eugenole) و اوژنول استات دارای توان آنتی‌اکسیدانی بالایی می‌باشند(۲۴) و الکل‌های آلیلی(allylic alcohols) اثر نسبتا خوبی نشان می‌دهند اما سزکوئی ترپن‌های هیدرو کربنه و ترکیبات غیرترپنوئیدی فعالیت آنتی اکسیدانی چندانی ندارند(۲۵،۲۶). همچنین، مونوترپن‌های اکسیژنه مانند بورنئول(Borneol) و ترپینن-۴-ال (Terpinen-4-ol) از خاصیت آنتی‌اکسیدانی برخوردار نیستند(۲۱). ترکیبات ترپنوئیدی دارای فعالیت آنتی اکسیدانی می‌باشند(۲۷،۲۸).

با توجه به اینکه ترکیبات موجود در فاز ان-هگزان اکثرا شامل مواد روغنی و اسانس می‌باشند و این مواد آنتی‌اکسیدان‌های ضعیفی محسوب می‌شوند فعالیت ناچیز آنتی‌اکسیدانی این فراکشن نیز قابل توجیه است.

اثر آنتی‌اکسیدانی بالا (IC50=۴۷/۲۲μg/ml) که در فراکشن اتیل استاتی خالواش مشاهده شد می‌تواند نشان دهنده وجود ترکیبات خاصی در این فراکشن قطبی با اثر آنتی‌اکسیدانی بسیار بالا باشد چرا که این فراکشن در سایر گیاهان نیز اثر آنتی اکسیدانی بالاتر از BHT و سایر فراکشن‌ها را نشان داد. در یک مطالعه، میزان IC50 عصاره قطبی آبی خالواش ۵/۵μg/ml، گزارش شده است. در حالی که این میزان برای عصاره متانولی این گیاه ۵۷/۴μg/ml در برابر ۱۹/۸μg/ml برای BHT است که با قدرت بالای آنتی اکسیدانی فراکشن‌های قطبی نمونه مورد مطالعه تطبیق دارد زیرا در عصاره متانولی سایر ترکیبات غیر قطبی با اثر آنتی اکسیدانی کم نیز حضور دارند.(۲۹،۳۰).

فراکشن آبی دو گیاه مریم گلی(IC50=۳۲۱/۳μg/ml) و خالواش(IC50=۱۱۱۰μg/ml) دارای اثر آنتی‌اکسیدانی بالاتری نسبت به فراکشن دی‌کلرومتانی هستند و در سایر موارد اثر آنتی‌اکسیدانی این فراکشن نسبت به فراکشن دی‌کلرومتانی بیشتر است. که این موضوع نیز مؤید قطبیت بالای ترکیبات آنتی‌اکسیدانی این دو گیاه است. بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در فراکشن آبی مربوط به دارچین با (IC50=۱۱۷/۵۵μg/ml) می‌باشد که این دال بر وجود ترکیبات آنتی‌اکسیدانی کاملا قطبی در این گیاه است. در مطالعاتی که بر روی عصاره های متانولی پوست دارچین انجام شده، وجود مقدار زیاد ترکیبات فنلی در این عصاره ها تایید گردیده که می‌توانند مسئول فعالیت بالای آنتی‌اکسیدانی آن باشند(۳۳-۳۱).

بر اساس مطالعات انجام شده توسط Durling و همکاران در سال ۲۰۰۷ گزارش شد که عصاره اتانولی مریم گلی واجد ۱۰/۶ درصد کارنوسیک اسید(Carnosic acid) و ۶/۹ درصد رزمارینیک اسید(Rosmarinic acid) و ترکیبات فلاونوئیدی مانند روتین و آپی‌ژنین است که با فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه در ارتباط می‌باشند. علاوه بر ترکیبات فنلی فوق، مریم گلی همچنین دارای یک ترکیب آنتی اکسیدانی انحصاری به نام

Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 2:01 IRST on Monday January 18th 2021

متیل کارنوسات (Methyl carnosate) است که در رزماری یافت نمی‌شود(۱۰،۳۴) و مجموع عوامل فوق منجر به توان آنتی‌اکسیدانی بالای فراکشن‌های قطبی آبی (IC50=۳۲۱/۳μg/ml) و اتیل استاتی (IC50=۷۸μg/ml) عصاره مریم گلی است(۱۰).

در مطالعه حاضر اثر آنتی اکسیدانی فراکشن‌های قطبی آبی (IC50=۷۲۵μg/ml) و اتیل استاتی (IC50=۸۴/۹۴μg/ml) رزماری نیز بالا می‌باشند. که این موضوع مربوط به وجود ترکیبات قطبی چون رزمارینیک اسید و سایر اسیدهای فنلی است(۱۹). بر اساس مطالعات انجام شده فنل‌های اصلی عصاره رزماری که این فعالیت را نشان می‌دهند شامل کارنوزیک اسید(۳۰ درصد)، کارنوزول(۱۵/۶ درصد) و رزمارینیک اسید(۵ درصد) هستند(۲۱،۳۰) و مقدار فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره این گیاه با مقدار کارنوزیک‌اسید و رزمارینیک اسید ارتباط مستقیم دارد(۳۶). رزمارینیک اسید در طی مدت کوتاهی با DPPH واکنش داده و در مدت ۱۰ دقیقه به حالت پایدار می‌رسد در حالی که سرعت واکنش کارنوزیک اسید کمتر بوده و نیازمند حدود ۳۰ دقیقه زمان برای رسیدن به حالت پایدار است و این در حالی است که مدت زمان لازم برای BHT برای رسیدن به پایداری حدود ۱۰۰ دقیقه است. عصاره رزماری در ابتدا سریعا با DPPH واکنش می‌دهد ولی سپس واکنش با سرعت کمتری ادامه می‌یابد که نشاندهنده آن است که توانایی آنتی‌اکسیدانی عصاره رزماری به تعامل ترکیبات مختلف موجود در عصاره و زمان انجام واکنش بستگی دارد و برخی از این ترکیبات سریعتر از سایرین عمل می‌کنند(۳۶). در یک مطالعه توسط Schlesier و همکاران(۲۰۰۲) نشان داده شد که قدرت آنتی اکسیدانی ترکیبات مختلف به صورت زیر است که با مشاهدات ما سازگاری دارد(۳۷).

>galic acid>rosmarinic acid>carnosic acid>α-rosmary extract>BHT tocopherol

با توجه به موارد مذکور می‌توان گفت که اثر آنتی اکسیدانی بیشتر مریم گلی بدلیل وجود مقدار بالاتری رزمارینیک اسید و ترکیبات آنتی اکسیدانی انحصاری آن است. در مورد رزماری از آنجا که زمان واکنش عصاره‌ها با DPPH تنها ۲۰ دقیقه در نظر گرفته شد می‌توان گفت که اگر این زمان ۳۰ دقیقه و یا بیشتر در نظر گرفته می‌شد، مقدار بیشتری کارنوسیک اسید با DPPH وارد واکنش می‌گردید و در نتیجه فعالیت آنتی اکسیدانی آن نیز افزایش می‌یافت.

بالا بودن اثر آنتی اکسیدانی IC50=۷۳/۹ μg/ml در فراکشن اتیل استاتی آویشن شیرازی موید وجود ترکیبات بالای فنلی در این فاز است که مطالعات انجام گرفته توسط سایر افراد نیز مؤید این موضوع می‌باشد. بر اساس مطالعه انجام شده توسط Sharififar و همکاران(۲۰۰۷) فراکشن قطبی عصاره آویشن شیرازی دارای اثر آنتی اکسیدانی بالایی می باشد به طوری که IC50=۱۶/۲ μg/ml برای عصاره در مقابل IC50=۱۸/۲ μg/ml برای BHT محاسبه گردیده است(۹). این موضوع با یافته‌های ما که فراکشن آبی دارای IC50=۷۶۴/۴۸μg/ml و فراکشن اتیل استاتی دارای IC50=۷۳/۹μg/ml نیز مطابقت دارد. فعالیت آنتی اکسیدانی بالای فراکشن های قطبی به دلیل حضور مقادیر زیادی از اسیدهای فنلی و فلاونوئیدها در آن است در حالی که فاز غیر قطبی به دلیل عدم وجود چنین ترکیباتی از فعالیت کمتری نیز برخوردار است. از سوی دیگر، حضور ترکیبات آنتی اکسیدان مختلف در فاز قطبی باعث اثر هم افزایی فعالیت این ترکیبات می‌گردد(۳۸).

نتیجه‌گیری

از آنجا که ترکیبات آنتی اکسیدانی اکثرا جزء ترکیبات فنلی هستند که در فاز قطبی حل می‌گردند در فراکشن قطبی اتیل استاتی این اثر قابل توجه است. اسانس و فراکشن کاملا غیر قطبی ان-هگزان فاقد اثر آنتی‌اکسیدانی قابل ملاحظه‌ای هستند. در مقابل اثر آنتی اکسیدانی بالای فراکشن اتیل استاتی و در مواردی دی‌کلرومتانی می‌تواند بدلیل اثر هم افزایی برخی ترکیبات نیمه قطبی نیز باشد که در فاز دی کلرومتانی نیز وجود دارند(علت اثر آنتی اکسیدانی بالاتر این فاز نسبت به فاز ان- هگزانی و آبی برخی از گیاهان) و می‌توانند به فاز اتیل استاتی منتقل شوند و با ترکیبات قطبی این فاز اثر هم‌افزایی نشان دهند. در صورتی که این ترکیبات در فاز آبی که کاملا

قطبی می‌باشد، وارد نمی‌شوند. با توجه به اینکه فراکشن اتیل استاتی خالواش اثر آنتی اکسیدانی بسیار بالایی دارد و بر اساس جستجو در منابع تا کنون نیز ترکیبات آنتی اکسیدانی آن کاملا تفکیک و مشخص نشده‌اند. لذا به نظر می‌رسد انجام تحقیقاتی جامع در زمینه جداسازی ترکیبات آنتی اکسیدانی این گیاه مثمر ثمر باشد تا این ترکیبات به عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی در صنایع غذایی مورد استفاده قرار گیرند.

سپاسگزاری

این مقاله بر گرفته از طرح تحقیقاتی انجام شده در دانشگاه اراک با عنوان بررسی اثر آنتی اکسیدانی ۶ گیاه است. لذا برخود لازم می‌دانیم که از کلیه مسئولین دانشگاه اراک که ما را در انجام طرح تحقیقاتی یاری نمودند تشکر نماییم.

References:

1- Martínez-Cayuela M. ***Oxygen free radicals and human disease.*** Biochemie 1995; 77(3): 147-61.

2- Halliwell B. ***Antioxidant characterization methodology and mechanism.*** Biochem Pharmacol 1995; 49(10): 1341-8.

3- Sies H, Stanl W. ***Vitamin E and C, beta- carotene and other carotenoids as antioxidant.*** American J Clin Nut 1994; 62(8 suppl): 1315S-21S.

4- Halliwell B, Gutteridge JM. ***Role of free-radicals and catalitic metal ions in human disease: an overview.*** Methods Enzymol 1990; 186: 1-85.

5 – Baratta, MT, Dorman HJD, Deans SG, Figueiredo AC, Barroso JG, Ruberto G. ***Antimicrobial and antioxidant properties of some commercials.*** Flavour Frag J 1998; 13(4): 235-44.

6- Sawamura M. ***Aroma and functional properties of Japanese yuzu (Citrus junos Tanaka) essential oil.*** Aroma Res 2000; 1(1): 14-19.

7- Halliwell B. ***Free radicals antioxidant and human disease curiosity causer or consequence***. Loncer 1994; 344(10): 721-4.

8- Souri E, Amin G, Dehmobed-Sharifabadi A, Nazifi A, Farsam H. ***Antioxidative activity of sixty plants from Iran.*** Iranian J Phar Res 2004; 3(1): 55-9.

9- Sharififar F, Moshafi MH, Mansouri SH, Khodashenas M, Khoshnoodi M. ***In vitro evaluation of antibacterial and antioxidant activities of the essential oil and methaol extract of endemic Zataria multiflora. Boiss.*** Food Control 2007; 18: 800-5.

10- Durling NE, Catchpole OJ, Grey JB, Webby RF, Mitchell KA, Foo LY, et al. ***Extraction of phenolics and essential oil from dried sage(Salvia officinalis) using ethanol–water mixtures.*** Food Chem 2007; 101(4): 1417-24.

11- Yinrong L, Yeap F. ***Antioxidant activities of polyphenols from sage (Salvia officinalis).*** Food Chem 2001; 75(2): 197-202.

Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 2:01 IRST on Monday January 18th 2021

12- al Sereiti MR, Abu Amer KM, Sen P. ***Pharmacology of rosemary (Rosmarinus officinalis Linn.) and its therapeutic potentials.*** Indian J Exp Bio 1999; 37(2): 124-30.

13- Ranjbar A, Ghasmeinezhad S, Zamani H, Malekirad AA, Baiaty A, Mohammadirad A, et al. ***Antioxidant stress potential of cinnamum zeylonicum in humans : a comparative cross sectional clinical study.*** Therapy 2006; 3(1): 113-17.

14- Malekirad AA, Mohajerani HR, Rahzani K, Fani A, Pirasteh S, Mohammadirad A, et al. ***Improvement of oxidative biomarkers in human plasma following consumption of menthe pulegium decoction; a before and after clinical trial.*** Pharmacol Online 2008; 2: 754-68.

15- Parejo I, Viladomat F, Bastida J, Rosas-Romerro A, Flerlage N, Burillo J, et al. ***Comparison between the radical scavenging activity and antioxidant activity of six distilled and nondistilled mediterranean herbs and aromatic plants.*** J Agric Food Chem 2002; 50(23): 6882-90.

16- Tominaga H, Kobayashi Y, Goto T, Kasemura K, Nomura M. ***DPPH radical scavenging effect of several phenyl propanoid compounds and their glycoside derivatives.***Yakucaku Zasshi 2005; 125(4): 371-5.

*17-*Sharififar F, Narguess Y, Valiolah M. ***Bioactyvity of major components from the seeds of Bunium persicum.*** Pak J Pharm Sci 2010; 23(3): 300-4.

18- Luximun-Ramma A, Bahorun T, Soobrattee MA, Aruomai OI**.** ***Antioxidant activities of phenolic, proanthocyanidin, and flavonoid components in extracts of Cassia fistula.*** J Agric Food Chem 2002; 50(18): 5042-7.

19- Erkan N, Ayranci G, Ayranci E. ***Antioxidant activities of rosemary (Rosmarinus Officinalis L.) extract, blackseed (Nigella sativa L.) essential oil, carnosic acid, rosmarinic acid and sesamol.*** Food Chem 2008; 110(1): 76-82.

20- Lin CW, Yu CW, Wu SC, Yih KH. ***DPPH free-radical scavenging activity, total phenolic contents and chemical composition analysis of forty-two kinds of essential oils.*** J Food Drug Anal 2009; 17(5): 386-95.

21- Cuvelier ME, Berset C, Richard H. ***Antioxidant constituents in sage (Salvia officinalis).*** J Agri Food Chem 1994; 42: 665-9.

22- Ruberto G, Baratta MT. ***Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems.*** Food Chem 1999; 69(2): 167-74.

23- Yanishlieva NV, Marinova EM, Gordon MH, Raneva VG. ***Antioxidant activity and mechanism of action of thymol and carvacrol in two lipid systems.*** Food Chem 1999; 64(1): 59-66.

24- Bondet V, Brand-Williams W, Berset C. ***Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH free radical method.*** Lebensm- Wiss. –Technol 1997; 30(6): 609-15.

25- Ricci D, Fraternale D, Giamperi L, Bucchini A, Epifano F, Burini G, et al. ***Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activity of the essential oil of Teucrium marum (Lamiaceae).*** J Ethnopharmacology

Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 2:01 IRST on Monday January 18th 2021

Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 2:01 IRST on Monday January 18th 2021

2005; 98(1-2): 195-200.

26- Cavar S, Maksimovic M, Solic ME, Jerkovic-Mujkic A, Besta R. ***Chemical composition and antioxidant and antimicrobial activity of two Satureja essential oils.*** Food Chem 2008; 111: 648-53.

27- Joshi S, Chanotiya CS, Aganwal G, Prakash D, Pant AK, Mathela CS. ***Terpenoid compositions and antioxidant and antimicrobial properties of the rhizome essential oils of different Hedychium species.*** Chem Biodivers 2008; 5(2): 299-309.

28- Sugihara N, Arakawa T, Ohnishi M, Furuno K. ***Anti- and pro-oxidative effects of flavonoids on metal-induced lipid hydroperoxide-dependent lipid peroxidation in cultured hepatocytes loaded with alpha-linolenic acid.*** Free Radic Biol Med 1999; 27(11-12): 1313-23.

29- Kamkar A, Jebelli Javan A, Asadi F, Kamalinejad M. ***The antioxidative effect of Iranian Mentha pulegium extracts and essential oil in sunflower oil.*** Food Chem Toxic 2010; 48(7): 1796-800.

30- Gulluce M, Sahin F, Sokmen M, Ozer H, Daferera D, Sokmen A, et al. ***Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from Mentha longifolia L. ssp. Longifolia.*** Food Chem 2007; 103(4): 1449-56.

31- Priya Rani M, Venkatesan J, Binilraj SS, Sasidharan I, Padmakumri Amma KP. ***Antioxidant and cytotoxic potential of acetone and methanolic extracts of fresh and dry barks of Cinnamomum zeylanicum verum: In vitro study.*** J Cell Tissue Res 2010; 10(1): 2131-8.

32- Singh G, Maurya S, delampasona MP, Cesar AN, Catalan C. ***A comparison of chemical, antioxidant and antimicrobial studies of cinnamon leaf and bark volatile oils, oleoresins and their constituents.*** Food Chem Toxicol 2007; 45(9): 1650-61.

33- Mathew S, Abraham TE. ***Studies on the antioxidant activities of cinnamon (Cinnamomum verum) bark extracts, through various in vitro models.*** Food Chem 2006; 94(4): 520-8.

34- Sharififar F, Dehghan-nudeh GH, Mirtajaldini M. ***Major flavonoids with antioxidant activity from Teucrium polium L.*** Food Chem 2009; 112(4): 885-8.

35- Moreno S, Scheyer T, Romano CS, Vojnov AA. ***Antioxidant and antimicrobial activities of rosemary extracts linked to their polyphenol composition.*** Free Radical Res 2006; 40(2): 223-31.

36- Romano CS, Abadi K, Repetto V, Vojnov AA, Moreno S. ***Synergistic antioxidant and antibacterial activity of rosemary plus butylated derivatives.*** Food Chem 2009; 115(2): 456-61.

37- Schlesier K, Harwat M, Bohm V, Bitsch R. ***Assessment of antioxidant activity by using different in vitro methods.*** Free Radical Res 2002; 36(2): 177-87.

38- Duh PD. ***Antioxidant activity of water extract of four Harng Jyur(Chrysanthemum morifolum Ramat) varieties in soybean oil emulsion.*** Food Chem 1999; 66(4): 471-6.

Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 2:01 IRST on Monday January 18th 2021

Free Radicals Scavenging Activity of Essential Oils and Different Fractions of Methanol Extract of Zataria Multiflora, Salvia Officinalis, Rosmarinus Officinalis, Mentha Pulegium and Cinnamomum Zeylanicum

Hosseini N(PhD)[1], Malekirad A(PhD)[*2], Changizi Ashtiani S(PhD)[3], Nazemi M(MSc)[4]

[1]*Department of Medicinal Plants, Arak University, Arak, Iran*
[2]*Department of Biology, Payame Noor University, Tehran, Iran*
[3]*Department of Physiology, Arak University of Medical Science, Arak, Iran*
[4]*Department of Biology, Azad University, Borojerd, Iran*

Received: 1 Jan 2011 ***Accepted:*** 20 Oct 2011

Abstract

Introduction: Essential oils and extracts from medicinal plants are regarded as natural food preservatives and health promoting drugs. Considering their antioxidant activity, most of them can prevent oxidative stress. The present study was aimed to evaluate free radicals scavenging activity of essential oils and different fractions of methanol extracts from cinnamon, pennyroyal, black cumin, sage, rosemary and azkand.

Methods: Antioxidant property of essential oils and different fractions of these medicinal plants was studied by determining their DPPH(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) free radicals scavenging activity.

Results: There were significant differences among the free radical scavenging activity of studied essential oils and different fractions. Ethyl acetate fractions were identified as the most active fractions than other ones and even synthetic antioxidant (BHT, IC50 value of 239.5µg/ml) with the highest activity in Mentha pulegium (47.2 µg/ml µg/ml). Among others, n-hexane fraction of rosemary (969 µg/ml), dichloromethane fraction of rosemary (205.46 µg/ml) and zatar (344 µg/ml) and aqueous fractions of cinnamon (117.6 µg/ml) and sage (321.3 µg/ml) exhibited appreciable antioxidant activity.

Conclusion: Regarding considerable activity of studied extracts, they have the potential to be used as natural antioxidants in relevant industries.

Keywords: Antioxidant Activity; Methanol Extract; Free Radicals Scavenging; Zataria Multiflora; Salvia Officinalis; Rosmarinus Officinalis; Mentha Polegium; Cinnamomum Zylanicum

This paper should be cited as:

Hosseini N, Malekirad A, Changizi Ashtiani S, Nazemi M**. *Free radicals scavenging activity of essential oils and different fractions of methanol extract of zataria multiflora, salvia officinalis, rosmarinus officinalis, mentha pulegium and cinnamomum zeylanicum*.** J Shahid Sadoughi Univ Med Sci; 20(1): 28-38.

****Corresponding author: Tel: +98 251 2854225, Email: malekirad@tabrizu.ac.ir***