بررسی تجربی بهینه‌سازی روش استخراج عصاره ریشه والرین با حلال به منظور دستیابی به عصاره استاندارد دارویی

سارا عسگری، پریسا خدیوپارسی*+

تهران، دانشگاه تهران، پردیس دانشکده‌های فنی، دانشکده مهندسی شیمی، صندوق پستی ۴۵۶۳ - ۱۱۱۵۵

شمسعلی رضازاده

تهران، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی

مرتضی پیرعلی همدانی

تهران، دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده داروسازی، گروه شیمی دارویی

چکیده: گیاه سنبل الطیب (والرین)، دارای بیش از ۱۵۰ ماده شیمیایی است که بسیاری از آنها از نظر فیزیولوژیکی فعال می‌باشند. در این پژوهش، والرینیک اسید به عنوان ماده شاخص گونه والرین آفیسینالیس درنظر گرفته شده است. میزان درصد آن در عصاره خشک استخراج شده و همچنین درصد وزن عصاره خشک شده، به عنوان دو شاخص مقایسه برای تعیین شرایط بهینه استخراج با حلال درنظر گرفته شد. در آزمایش‌های انجام شده با ثابت نگه‌داشتن سه متغیر و ایجاد تغییرات در متغیر مورد بررسی، شرایط بهینه استخراج برای متغیرهای اندازه ذره گیاه، نوع حلال، دما و زمان استخراج تعیین شد. استخراج از پودر گیاه دارای اندازه ذره مش ۶۰، با حلال اتانول ۷۰٪ حجمی، در دمای جوش و به مدت چهار ساعت به عنوان روش بهینه انتخاب شد. با این روش، میزان درصد والرینیک اسید در عصاره خشک استخراج شده به مقدار ۰٫۳ درصد وزنی (مقدار مطلوب در دارونامه یا فارماکوپه) به‌دست آمد.

واژه‌های کلیدی: استخراج جامد با حلال، سنبل‌الطیب، والرین آفیسینالیس، والرینیک اسید.

KEY WORDS: *Solid-liquid extraction, Valerian, Valeriana officinalis, Valerenic acid.*

مقدمه

با گسترش سریع داروهای ترکیبی و سنتتیک در سال‌های اخیر، استفاده از گیاهان دارویی تا حد زیادی منسوخ شده بود، ولی به علت ظاهر شدن عوارض ناخواسته و جانبی این ترکیبات و ناسازگاری آنها با طبیعت انسان، بار دیگر توجه دانشمندان و پژوهشگران به گیاه درمانی و مواد مؤثر موجود در گیاهان دارویی معطوف شد.

موقعیت خاص جغرافیایی ایران و امکان رشد گونه‌های گوناگون گیاهان در این سرزمین، سبب شده است که از دیرباز استفاده و کاربرد گیاهان دارویی و سنتی در درمان بیماری‌ها معمول شود. ایران از لحاظ آب و هوا و موقعیت جغرافیایی در زمینه رشد گیاهان دارویی، یکی از بهترین مناطق جهان به حساب می‌آید.

*عهده دار مکاتبات

+E-mail: kparsi@ut.ac.ir

Archive of SID

www.SID.ir

و در گذشته نیز منبع تولید و مصرف گیاهان دارویی بوده است. لازمه شناخت ویژگی‌های دارویی و سمی گیاهان، بررسی دقیق ترکیب‌های شیمیایی موجود در آنها است. درگذشته، به علت نبود روش‌های پیشرفته امروزی، شناخت این ترکیبات مشکل بود. طی سال‌های گذشته به علت توجه ویژه‌ای که در ایران و سایر نقاط جهان به داروهای گیاهی و مواد طبیعی شده است، فعالیت‌های زیادی برای استخراج، خالص‌سازی و تعیین ساختمان مولکولی ترکیبات به‌دست آمده از گیاهان صورت گرفته است.

به جرأت می‌توان ادعا نمود که بخش قابل ملاحظه‌ای از نیاز دارویی کشور از روش تولید داروهای گیاهی نو و استاندارد شده قابل تأمین است. پژوهش‌ها نشان داده است که با گیاه سنبل‌الطیب می‌توان اثر مشابه دیازپام را به عنوان آرام بخش و خواب آور به دست آورد. بر طبق این مطالعات، استفاده از این داروی گیاهی اثرات مفیدتر و به مراتب بی‌ضررتر را از همتای شیمیایی خود دارد [۵ ـ ۱].

گیاه سنبل‌الطیب در داروسازی

از عصاره ریشه گیاه سنبل الطیب، قرن‌ها است که برای مصارف پزشکی استفاده می‌شود، اما ترکیب‌های مؤثر آن هنوز به‌طور کامل شناسایی نشده است. والرین[۱] دارای بیش از ۱۵۰ ماده شیمیایی است که بسیاری از آنها از نظر فیزیولوژیکی فعال می‌باشد. درحدود سی درصد از مردم دنیا از بی‌خوابی رنج می‌برند. داروهای بنزو دیازپین در دراز مدت موجب وابستگی و کم شدن اثر آن می‌شود. والرین سبب تعدیل در آزادسازی و انتقال ماده گاما آمینو بوتیریک اسید (GABA) به عنوان ناقل عصبی می‌شود. از آنجا که هیچ ترکیب خالص به تنهایی به عنوان مسؤل ایجاد اثرات درمانی این گیاه شناخته نشده است، بیشتر گیاه‌شناسان بر این باورند که مجموعه‌ای از مواد، عامل ایجاد این اثرها می‌باشد. میزان مواد مؤثر در گیاه با توجه به نوع گونه و عوامل دیگر متفاوت است. البته بیشتر به دلیل والئوپوتریات‌ها و سسکوترپنوئیدها از جمله والرینیک اسید، والرنولیک اسید، استیل والرینیک اسید و والرانول است.

این گونه بیان شده است که گونه والرین آفیسینالیس[۲]، تنها گونه والرین است، که دارای والرینیک اسید[۳] قابل استخراج در ریشه می‌باشد. در فارماکوپه آمریکا، والرینیک اسید به عنوان آزمون شناسایی برای والرین آفیسینالیس به کار می‌رود. همچنین کمیسیون E آلمان که مرجع تأیید فرآورده‌های گیاهی است، والرینیک اسید را به عنوان ماده مؤثر شاخص استاندارد گیاه والرین معرفی کرده است. مطابق با استاندارد مشخص فارماکوپه، عصاره خشک گیاه والرین، باید دارای حداقل ۰/۳ درصد وزنی والرینیک اسید باشد. همچنین، در استخراج در مقیاس صنعتی، مقدار وزن عصاره خشک شده بر بازده فرایند بسیار اثرگذار است. کاربرد والرینیک اسید، محدود بودن دامنه غلظت این ماده در گیاه، اندک بودن کارآیی روش‌های استخراج برای این ماده و همچنین حضور ترکیب‌های ناخواسته که همراه با آن از بافت گیاه خارج می‌شود، سبب می‌شوند که مقدار والرینیک اسید در عصاره خشک به اندازه دلخواه در فارماکوپه نرسد. بنابراین لازم است که روش‌های تغییر داده شده برای عصاره‌گیری به کار گرفته شوند که میزان استخراج والرینیک اسید را از بافت گیاه به بیشترین مقدار و استخراج مواد اضافی را به کمترین میزان برسانند [۱۱ ـ ۴].

بخش تجربی

هدف از انجام این آزمایش‌ها، تعیین شرایط بهینه برای استخراج عصاره دارویی از ریشهٔ گیاه والرین آفیسینالیس است. میزان درصد والرینیک اسید استخراج شده در عصاره خشک شده و همچنین مقدار وزن عصاره خشک شده، به عنوان دو شاخص کیفی و کمی، تعیین کننده شرایط بهینه برای استخراج می‌باشند [۳].

ماده

ریشه‌های گیاه والرین آفیسینالیس جمع‌آوری شده از پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی پس از تمیز کردن و خشک کردن در سایه، آسیا شد و با الک از نظر اندازه ذره (مش) دسته‌بندی شد.

شرح آزمایش

متغیرهای مستقل مورد بررسی در آزمایش‌های انجام شده عبارتند از:

۱ـ اندازه ذره گیاه
۲ـ نوع حلال
۳ـ دمای استخراج
۴ـ زمان استخراج

(۱) Valerian
(۲) Valleriana officinalis
(۳) Valerenic acid

Archive of SID
www.SID.ir

شایان گفتن است، از آنجایی که این متغیرها مستقل از هم می‌باشند، در هر آزمایش با ثابت نگه‌داشتن سه متغیر و ایجاد تغییرات در متغیر مورد بررسی، شرایط بهینه استخراج برای این متغیرها تعیین شد. روش‌های استخراج مورد استفاده در این آزمایش‌ها شامل روش‌های خیساندن[۱]، خیساندن با گرما[۲] و جوشاندن می‌باشد [۱۲ ، ۲].

در هر آزمایش، تغییرهای یک متغیر با ثابت نگه‌داشتن سه متغیر دیگر بررسی شد. در همه آزمایش‌ها استخراج عصاره از ۵ گرم پودر گیاه والرین آفیسینالیس با کمک ۱۰۰ میلی‌لیتر حلال، انجام شد. روش کار به این صورت است که برای هر آزمایش، ۵ گرم از پودر گیاه در یک بالون ریخته و ۱۰۰ میلی‌لیتر حلال همراه با چند عدد سنگ جوش به آن اضافه شد. بهتر است که حجم بالون به اندازه‌ای باشد که بیش از نصف حجم آن پر نشود.

در آغاز، آزمایش برای ذره‌های با اندازه مش ۱۰، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ برای حلال اتانول ۷۰٪ حجمی انجام شد. برای گرم کردن مخلوط از یک گرم‌کن و برای بازیافت حلال از یک سامانه برگشتی ساده یا رفلاکس (مبرد متصل به جریان آب سرد) استفاده شد. نمای ساده‌ای از این سامانه در شکل ۱ نشان داده شده است.

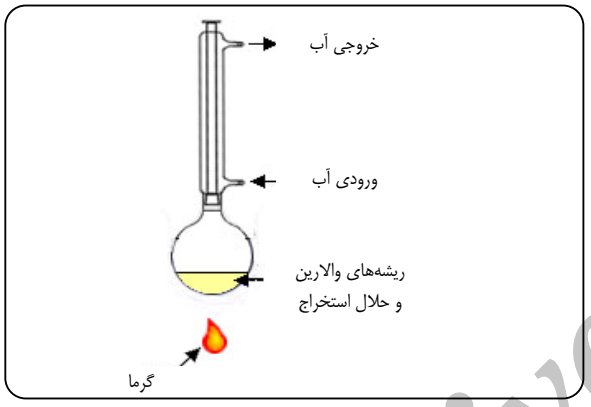
برای دقت بیشتر و نتیجه‌گیری بهتر هر آزمایش سه بار انجام شد. در آزمایش‌های انجام شده در بار اول استخراج از پودر گیاهی که دارای ۰٫۹۳۳ درصد والرینیک‌اسید و در بارهای دوم و سوم از پودر گیاهی که دارای ۰٫۱۰۴۸۵ درصد والینیک اسید بود، استفاده شد. در همه آزمایش‌ها تجزیه نمونه‌ها توسط دستگاه HPLC انجام شد [۱۴، ۱۳]. علت این انتخاب، عملکرد بالا، دقت زیاد و سازگاری آسان این روش در انجام اندازه‌گیری‌های کمی است. ویژگی‌های دستگاه HPLC مورد استفاده در این طرح، در جدول ۱ ارایه شده است. محاسبه‌ها مبتنی بر مساحت پیک انجام شده است. محلول استاندارد مورد استفاده، والرینیک اسید با غلظت ۰٫۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر است.

برای بررسی تأثیر اندازه ذره گیاه بر کیفیت و کمیت عصاره، استخراج با روش جوشاندن از پودر گیاه با چهار اندازه ذره مش ۱۰، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ با حلال اتانول با خلوص ۷۰٪ حجمی، در دمای جوش مخلوط حلال و پودر و به مدت زمان ۲٫۵ ساعت انجام شد. چهار عصاره استخراج شده در هر تکرار توسط دستگاه HPLC تجزیه و میزان درصد والرینیک اسید در آنها مشخص شد.

پس از آن عصاره‌های استخراج شده توسط دستگاه خشک‌کن، در دمای ۵۰ درجه سانتیگراد، خشک شدند. وزن عصاره‌های خشک شده

جدول ۱ـ ویژگی‌های دستگاه HPLC مورد استفاده برای تجزیه نمونه‌ها.

Model	KNAUER (version: chromgate) Pump: K-۱۰۰۱ Solvent organizer: K-۱۵۰۰ UV detector: K-۲۵۰۱
Column	ODS, C۱۸ (۳۰ cm), L۱ (spherical, d= ۵ µm)
Temperature	۳۰ °C
Method	LPG
Flow rate	۱٫۵ mL/min N
Mobile phase	Methanol: ۷۷% Water-ortho phosphoric acid: ۲۳% (۱:۲۰۰)

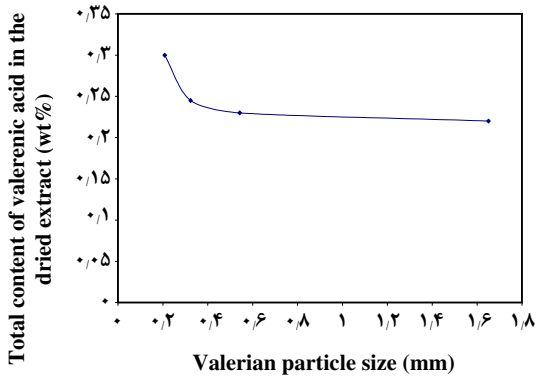


شکل ۱ـ نمای ساده‌ای از سامانه برگشتی (رفلاکس) به‌کار رفته برای استخراج عصاره.

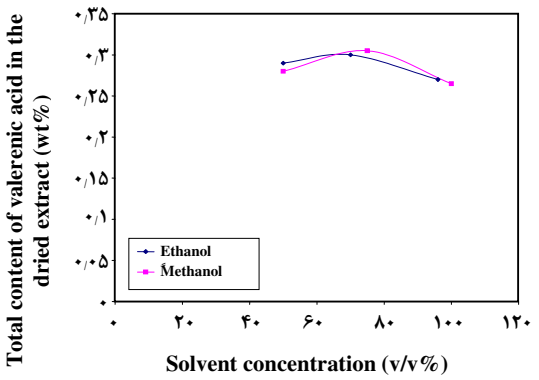
با استفاده از یک ترازو با دقت ۰٫۰۰۰۱g اندازه‌گیری شد. برای بررسی تأثیر نوع و غلظت حلال بر کیفیت و کمیت عصاره، استخراج از پودر گیاه با اندازه ذره مش ۶۰ ، با جوشاندن در دمای جوش مخلوط پودر و حلال، در مدت زمان ۲٫۵ ساعت و با استفاده از دو نوع حلال با درصدهای حجمی گوناگون انجام شده است: اتانول با خلوص ۹۶٪، ۷۰٪ و ۵۰٪ حجمی، متانول با خلوص ۱۰۰٪، ۷۵٪ و ۵۰٪، مخلوطی از ۷۰٪ اتانول با خلوص ۹۶٪ به علاوه ۱۰٪ متانول خالص و ۲۰٪ آب مقطر. برای بررسی تأثیر دمای استخراج بر کیفیت و کمیت عصاره، استخراج در دمای جوش با روش جوشاندن، برای دمای ۴۰ و نیز ۵۰ درجه سانتیگراد با روش خیساندن با گرما و در دمای محیط با روش خیساندن انجام شد.

(۱) Maceration
(۲) Digestion

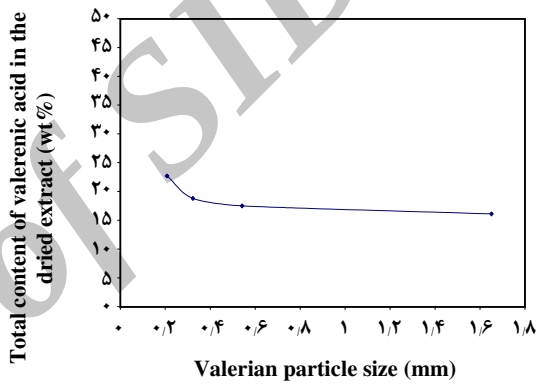
Archive of SID
www.SID.ir



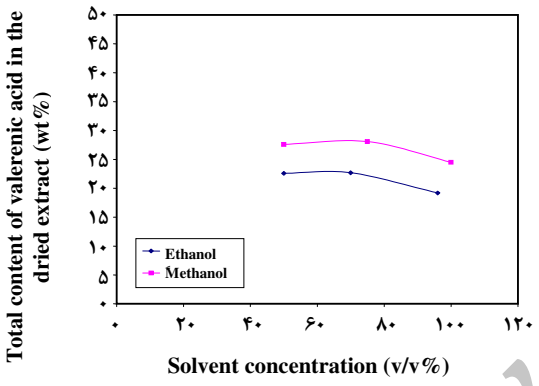
شکل ۲ـ اثر تغییر در اندازه ذره پودر گیاه بر درصد والرینیک اسید در عصاره خشک شده (اتانول ۷۰٪).



شکل ٤ـ اثر تغییر در غلظت حلال بر درصد والرینیک اسید در عصاره خشک شده (اندازه مش ٦٠).



شکل ۳ـ اثر تغییر در اندازه ذره پودر گیاه بر درصد وزن عصاره خشک شده (اتانول ۷۰٪).



شکل ٥ـ اثر تغییر در غلظت حلال بر درصد وزن عصاره خشک شده (اندازه مش ٦٠).

روش و مرحله‌های آزمایش استخراج در دمای جوش مانند روش ارایه شده در بخش‌های قبلی می‌باشد. در آزمایش‌های بررسی تأثیر زمان استخراج بر کیفیت و کمیت عصاره، استخراج با روش جوشاندن از پودر گیاه با اندازه ذره مش ۶۰، با کمک حلال اتانول ۷۰٪ در دمای جوش و در زمان‌های یک، دو، چهار و هشت ساعت انجام شد. روش و مراحل آزمایش مانند روش‌های قبلی می‌باشد. چهار عصاره استخراج شده در سه تکرار مانند روش‌های قبل تجزیه و توزین شدند.

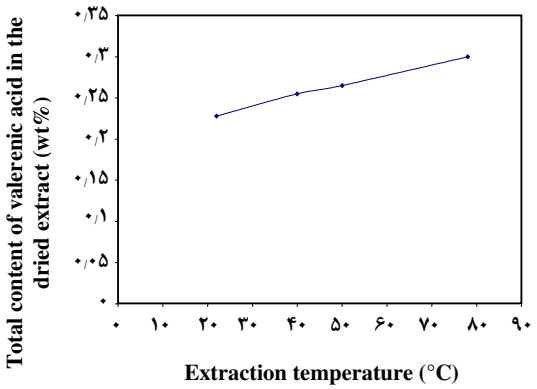
نتیجه‌ها و بحث

در شکل‌های ۲و ۳، سیر نزولی منحنی‌ها نشان می‌دهد که هرچه اندازه ذره پودر گیاه ریزتر باشد، درصد والرینیک اسید در عصاره خشک شده و همچنین درصد وزن عصاره خشک شده بیشتر می‌باشد. بنابراین مقدار بهینه مربوط به پودر گیاه با اندازه ذره مش ۶۰ (برابر ۰/۲ میلی‌متر) است. پیش‌بینی می‌شود که ذره‌های ریزتر از مش ۶۰ ، حالت چسبندگی ایجاد نمایند که به اختلال در چرخش حلال و فیلتراسیون منجر می‌شود.

در شکل‌های ۴ و ۵ به ترتیب میزان والرینیک اسید استخراج شده در عصاره خشک و میزان کل عصاره خشک بر درصدهای گوناگون هریک از حلال‌ها آورده شده است.

با توجه به شکل ۴ در حلال‌های اتانولی، اتانول ۷۰٪ و در میان حلال‌های متانولی، متانول ۷۵٪ دارای بالاترین درصد استخراج والرینیک اسید می‌باشند. البته شیب کم منحنی در شکل ۴، بیانگر این است که میزان درصد استخراج والرینیک اسید

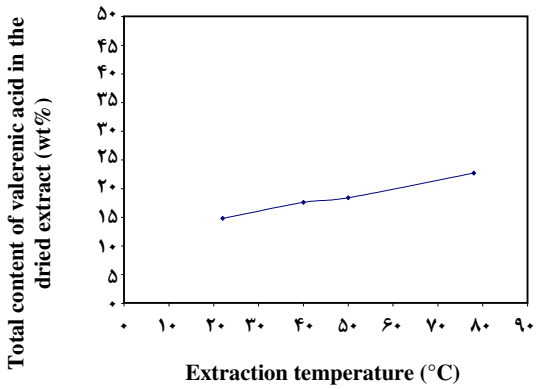
Archive of SID
www.SID.ir



شکل ٦ـ اثر تغییر در دمای استخراج بر درصد والرینیک اسید در عصاره خشک شده (اتانول ۷۰٪ و اندازه مش ٦۰).

در غلظت‌های بین ۵۰ تا ۱۰۰٪ حلال‌های اتانولی و متانولی تفاوت چندانی ندارد. مطابق با شکل ۵ ، از نظر درصد وزن عصاره خشک شده، نتیجه‌ها تفاوت زیادی با هم ندارند و همه نتیجه‌ها نسبت به پودر اولیه در دامنه ۳۰ـ۲۰ ٪ قرار دارند. در اینجا نیز با کمی اختلاف، اتانول ۷۰٪ و متانول ۷۵٪ دارای بیشترین درصد وزنی می‌باشند. درصد استخراج والرینیک اسید با کمک حلال‌های متانولی اندکی بیش از حلال‌های اتانولی است، ولی با توجه به ناچیز بودن این اختلاف و سمی بودن متانول، پیشنهاد می‌شود که از حلال اتانول ۷۰٪ استفاده شود. تحقیقات پژوهشگران دیگر نیز بیان‌کننده این مطلب است که با استخراج توسط حلال الکلی با خلوص ۵۰ تا ۱۰۰٪ نتیجه‌های خوبی به دست می‌آید [۳، ۲].

در عملیات استخراج با کمک حلال، افزایش دما دو اثر متقابل دارد. از طرفی افزایش دما باعث افزایش حلالیت و همچنین افزایش ضریب نفوذ همه مواد می‌شود و از طرف دیگر ممکن است باعث تجزیه ترکیبات مؤثر شود. همان‌طور که در شکل ۶ ، دیده می‌شود، با افزایش دما درصد والرینیک اسید در عصاره خشک شده افزایش می‌یابد که نشان دهنده پایداری نسبی والرینیک اسید در برابر دما است. همچنین مطابق با شکل ۷ درصد وزن عصاره خشک شده نیز در دمای جوش دارای بیشترین مقدار است. با توجه به پایداری نسبی والرینیک اسید در مقابل افزایش دما و اینکه عملیات استخراج در دماهای بالاتر با افزایش میزان حلالیت و ضرایب نفوذ، بهتر انجام می‌گیرد، استخراج در دمای جوش مخلوط حلال با پودر گیاه پیشنهاد می‌شود. در مراجع دمای بین ۷۰ تا ۸۰ درجه سانتیگراد دمای مناسبی بیان شده است [۳ ، ۲].



شکل ۷ـ اثر تغییر در دمای استخراج بر درصد وزن عصاره خشک شده (اتانول ۷۰٪ و اندازه مش ٦۰).

ارزشمند است که به این نکته نیز اشاره شود که غلظت والرینیک اسید در هنگام نگهداری ریشه والرین در انبار، بسته به شرایط دمایی و رطوبت دستخوش تغییراتی می‌شود [۱۵].

همان‌طور که در شکل‌های ۸ و ۹ نشان داده شده است، با افزایش زمان استخراج درصد والرینیک اسید و همچنین درصد وزن عصاره خشک شده افزایش می‌یابد که نشان‌دهنده پایداری والرینیک اسید در دمای جوش در طول زمان است. با توجه به تفاوت ناچیزی که در درصد والرینیک اسید و همچنین وزن عصاره خشک شده در دو زمان چهار و هشت ساعت وجود دارد، به منظور صرفه‌جویی در میزان انرژی مصرفی، صرفه‌جویی در زمان فرایند و همچنین احتیاط بیشتر در تجزیه مواد مؤثر، زمان چهار ساعت به عنوان زمان بهینه استخراج انتخاب شده است. در جدول ۲، نتیجه‌ها به صورت درصد استخراج والرینیک اسید در عصاره نسبت به پودر اولیه ارایه شده است که میزان بازده استخراج را در شرایط گوناگون نشان می‌دهد. درصد استخراج والرینیک اسید از رابطه زیر محاسبه می‌شود.

۱۰۰ × [وزن اولیه گیاه / (حجم عصاره × غلظت والرینیک اسید در عصاره)]

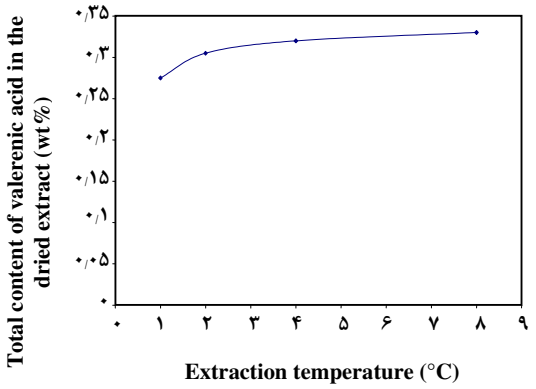
نتیجه‌گیری

در این پژوهش، با درنظر گرفتن والرینیک اسید به عنوان ماده شاخص گونه والرین آفیسینالیس، میزان درصد آن در عصاره خشک استخراج شده و همچنین درصد وزن عصاره خشک شده، به عنوان دو شاخص کیفی و کمی برای تعیین نمودن شرایط بهینه اندازه‌گیری شدند.

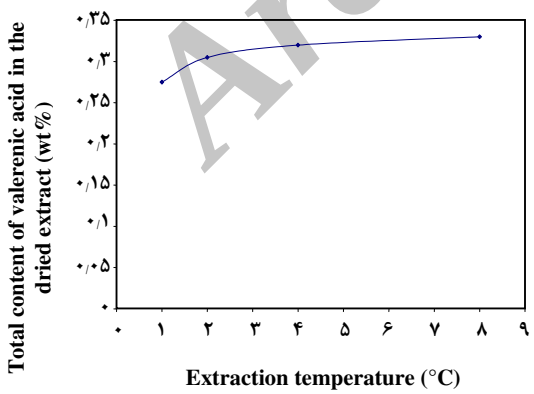
Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۲ـ درصد استخراج ماده مؤثر در عصاره نسبت به پودر اولیه.

متغیر	میزان متغیرها	درصد استخراج ماده موثر در عصاره نسبت به پودر اولیه (Run1)	درصد استخراج ماده مؤثر در عصاره نسبت به پودر اولیه (Run2)	درصد استخراج ماده مؤثر در عصاره نسبت به پودر اولیه (Run3)	میانگین درصد استخراج ماده مؤثر در عصاره نسبت به پودر اولیه در سه تکرار
اندازه ذره گیاه	مش۶۰	۶۱	۵۸/۱	۶۰	۵۹/۷
	مش۴۵	۵۰/۳	۴۸/۶	۴۶/۷	۴۸/۵
	مش۳۰	۴۸/۲	۴۵/۷	۴۴/۸	۴۶/۲
	مش۱۰	۴۶	۴۳/۸	۴۱/۹	۴۳/۹
نوع حلال	اتانول ۹۶٪	۵۹	۵۲/۵	۴۹/۵	۵۳/۵
	اتانول ۷۰٪	۶۱	۵۸/۱	۶۰	۵۹/۷
	اتانول ۵۰٪	۶۱/۹	۵۷/۲	۵۳/۶	۵۷/۵
	متانول ۱۰۰٪	۶۶/۴	۴۵/۷	۴۶/۷	۵۲/۹
	متانول ۷۵٪	۷۰/۷	۵۷/۲	۵۵/۳	۶۱
	متانول ۵۰٪	۶۷/۵	۵۰/۵	۴۹/۵	۵۵/۸
	۷۰٪اتانول ۹۶٪ + ۱۰٪متانول ۱۰۰٪ + ۲۰٪ آب مقطر	۵۸/۵	۴۷/۶	۴۹/۵	۵۱/۸
دمای استخراج	دمای جوش	۶۱	۵۸/۱	۶۰	۵۹/۷
	۵۰ درجه سانتیگراد	۵۴/۶	۵۳/۴	۵۱/۵	۵۳/۱
	۴۰ درجه سانتیگراد	۵۳/۵	۴۹/۶	۴۸/۶	۵۰/۵
	دمای محیط	۴۷/۱	۴۴/۸	۴۳/۸	۴۵/۲
زمان استخراج	یک ساعت	۵۵/۴	۵۱/۹	۵۴/۹	۵۴/۱
	دو ساعت	۶۸/۶	۵۸/۲	۵۶/۳	۶۱
	چهارساعت	۷۴/۵	۵۹/۳	۵۸/۳	۶۴/۱
	هشت ساعت	۷۵/۸	۶۱	۶۱/۷	۶۵/۳



شکل ۸ ـ اثر تغییر در زمان استخراج بر درصد والرینیک اسید در عصاره خشک شده (اتانول ۷۰٪ و اندازه مش ۶۰).



شکل ۹ـ اثر تغییر در زمان استخراج بر درصد وزن عصاره خشک شده (اتانول ۷۰٪ و اندازه مش ۶۰).

Archive of SID
www.SID.ir

در آزمایش‌ها با ثابت نگه‌داشتن سه متغیر و ایجاد تغییر در متغیر مورد بررسی، شرایط بهینه استخراج برای متغیرهای اندازه ذره گیاه، نوع حلال، دما و زمان استخراج تعیین شد.

در مجموع، روش استخراج به روش جوشاندن از ریشه پودر شده گیاه سنبل‌الطیب (والرین) با اندازه ذره مش ۶۰ ، با اتانول ۷۰٪ و در مدت زمان چهار ساعت به عنوان روش بهینه پیشنهاد می‌شود

تاریخ دریافت: ۱۳۸۸/۵/۲۴ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۳/۱۶

مراجع

[1] Shohet D., Wills B., Ron K., Effect of Postharvest Handling on Valerenic Acids Content of Fresh Valerian (Valeriana Officinalis) Root, *J.Sci.Food Agriculture*,**86**, p. 107 (2006).

[2] Andrews M., "Composition for Improving Sleeps Quality and Efficiency and Methods of Preparing and Using the Composition", United States Patent Application: 20030096865 (2003).

[3] Boyadzhiev L., Kancheva D., Gourdon C., Metcheva D., Extraction of Valerenic Acids from Valerian Rhizomes, *Pharmazie*, **59**, p. 727 (2004).

[۴] جهان آرا، فهیمه؛ حائری‌زاده ، بی‌بی مهشید؛ اطلاعات وکاربرد داروهای گیاهی رسمی ایران، تهران: شرکت داروگستر رازی، (۱۳۸۰).

[5] Huang B., Qin L., Chu Q., Zhang Q., Gao L., Zheng H., Comparison of Headspace SPME with Hydrodistillation and SFE for Analysis of the Volatile Components of the Roots of Valerian Officinalis Var.Latifolia, *Chromatographia*,**69**, p. 489 (2009).

[6] Fernandez-San-Martin M.I., Mado-Font R., Palacios-Soler L., Sancho-Gomez P., Calbo-Caldentey C., Flores-Mateo G., Effectiveness of Valerian on Insomnia: A Meta-Analysis of Randomized Placeb-Controlled Trials, *Sleep Medicine*, **11**, p. 505 (2010).

[7] Taibi M.D., Bourguignon C., Taylor A.G., A Feasibility Study of Valerian Extract for Sleep Disturbance in Person with Arthritis, *Nursing*, **10**, p. 409 (2009).

[8] Komarova E.L., Tsybul'ko N.S., Sheichenko V.I., Kholin A.Ya., Fonin V.S., Ivleva Zh.Yu., Popov D.M., Isolation and Identification of Valerenic Acid from Underground Parts of Common Valerian, *Pharmaceutical Chemistry J.*, **34**, p. 536 (2000).

[9] Ferriera F., Santos M., Valeriana Officinalis Roots with GABA Benzodiazepine and Barbiturate Receptors in Rat Brain Fitoterapia, *Pharmazie*, **50**, p. 41 (1995).

[10] Bos R., "Analytical and Phytochemical Studies on Valerian and Valerian Based Preparations", 2nd Ed.Chapters 1-5, Ridderkerk,London (1997).

[11] Leuschner A., Muler J., Rudman P., Characterization of the Control Nervous Depressant Activity of a Commercially Available Valerian Root Extract, *Drug Res.*, **80**, p. 638 (1993).

[۱۲] صمصام شریعت، هادی، عصاره گیری واستخراج مواد مؤثر گیاهان دارویی و روش‌های شناسایی و ارزشیابی آنها، اصفهان: انتشارات مانی، (۱۳۷۱).

Archive of SID
www.SID.ir

[13] Bicchi C., Binello A., Rubiolo P, Packed Column SFC/UV Versus HPLC/UV Analysis of Valerenic Acids and Valepotriates in Extracts of Valeriana Officinalis L., *Phytochemical Analysis*, **102**, p. 179 (2000).

[14] "British Pharmacopeia", Volume 2, London: HMSO, p.154 (1993).

[15] Wills R.B.H., Shohet D., Changes in Valerenic Acids Content of Valerian root (Valeriana Officinalis L.S.L.) During Long-Term Storage, *Food Chemistry*, **115**, p. 250 (2009).

Archive of SID

www.SID.ir