

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

منیره مهرابی^۱، نوراله حاضری^{۱*}، جعفر ولیزاده^۲، محرم ولی‌زاده^۳

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

^۲گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه سیستان و بلوچستان، زاهدان، ایران

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

تاریخ دریافت: ۹۵/۹/۶؛ تاریخ پذیرش: ۹۶/۲/۳

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 به ترتیب دارای محتوای فنل کل (۸۲/۱، ۷۱/۸ و ۳۳/۶ میلی‌گرم معادل گالیک اسید در هر گرم وزن خشک) و فلاونوئید کل به ترتیب (۳۴/۰۲، ۲۸/۸ و ۱/۰۲ میلی‌گرم معادل کوئرستین در هر گرم وزن خشک) گزارش گردید. نتایج بررسی آنتی‌اکسیدانی در روش DPPH برای عصاره‌های مختلف به ترتیب (۱۱/۶۰، ۳۴/۹۳ و ۳۰۲/۸۴ میکروگرم در میلی‌لیتر) و در روش FRAP به ترتیب (۱۴/۲۳ mMFe²⁺/mg sample، ۸/۲۰ و ۱/۰۱) گزارش شد. تحلیل داده‌ها نشان داد که عصاره متانولی گیاه نسبت به عصاره اتانولی و آبی از بیشترین مقدار محتوای فنل، فلاونوئید و آنتوسیانین کل و از بیشترین قدرت مهارکنندگی در روش DPPH (IC₅₀=۱۱/۶۰ μg/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.

(Mathew and Abraham, 2006). روش های متعددی جهت سنجش پتانسیل آنتی اکسیدانی معرفی شده است که در این بین می توان به دو روش به دام اندازی رادیکال های دی فنیل پیکریل هیدرازیل (-1,1-DPPH) و روش بررسی قدرت احیاء کنندگی یون آهن¹ FRAP اشاره کرد (Koksal et al., 2011). از مزایای این دو روش، عدم وابستگی به قطبیت نمونه می باشد (Kartal et al., 2007). جنس *Dracocephalum* شامل ۱۸۶ گونه می باشد که ۸ گونه از آن در ایران می روید. گونه بادرشبو (*Dracocephalum moldavica* L.) بومی آسیای مرکزی و اهلی شده در مرکز شرق اروپاست (Kamalizadeh et al., 2015). تمام اندام های گیاه حاوی اسانس است و مقدار آن در قسمت های مختلف متفاوت می باشد. گل و اندام های رویشی بادرشبو (برگ ها و ساقه ها) دارای بیشترین درصد اسانس می باشند. مطالعات نشان می دهند که از اسانس این گیاه تعداد ۶۶ ترکیب شناسایی و جداسازی شده است که به ترتیب ترکیبات: ژرانیل استات، ژرانیل، ژرانیل و نرال ترکیب های اصلی شناخته شده آن هستند. این ترکیب ها مونوترپن های اکسیژن داری هستند که ۹۰ درصد اجزاء اسانس را تشکیل می دهند (Maham et al., 2013). اسانس بادرشبو دارای خاصیت ضدباکتریایی، التیام دهنده زخم و جراحات می باشد، از عصاره بادرشبو برای رفع سردرد، سرماخوردگی، ضعف عمومی بدن، مسکن دردهای عصبی و اسپاسم های معدی و کلیوی، برای شستشوی دهان و در تسکین دندان درد استفاده می شود، همچنین می توان از آن به عنوان ضماد در تسکین دردهای روماتیسمی بهره جست و همچنین خاصیت ضدتوموری این گیاه نیز گزارش شده است (Hussein et al., 2006). تحقیقات نشان

رادیکال های آزاد واکنش گرهای بسیار قوی هستند که تمایل زیادی به گرفتن الکترون دارند این رادیکال ها آسیب های اکسیداتیوی متعدد به اجزای مختلف سلولی مانند غشا سلولی، پروتئین و DNA می رسانند. بین رادیکال آزاد و پیشروی و تشدید بعضی بیماری ها ارتباط گسترده ای وجود دارد از جمله بیماری های قلبی و عروقی، سرطان، التهاب، کاهش سیستم ایمنی بدن، ورم مفاصل و اختلال در عملکرد مغز. یکی از مهمترین نقش های آنتی اکسیدان ها حفاظت از بدن انسان در برابر گونه های فعال اکسیژن است، مکانیسم فعالیت آنتی اکسیدان ها به صورت جلوگیری از تشکیل گونه های فعال اکسیژن، از طریق مهار کردن عناصر دخیل در تولید رادیکال های آزاد و گونه های فعال اکسیژن است (Rashedi et al., 2015). علی رغم وجود آنتی اکسیدان های مختلف در پلاسما، سیستم دفاعی بدن به تنهایی نمی تواند رادیکال های آزاد ایجاد شده در بدن را از بین ببرد، به همین دلیل بدن برای تامین آنتی اکسیدان به منابع خارجی نیاز دارد که این نیاز از طریق منابع غذایی تامین می شود. شواهد بسیار زیادی وجود دارد که سمی بودن و اثرات سوء تغذیه ای آنتی اکسیدان های ساختگی اضافه شده به مواد غذایی مانند بوتیل هیدروکسی آنیزول (BHA)، بوتیل هیدروکسی تولوئن (BHT) و بتا هیدروکسی کینون را تأیید می کند (Roby et al., 2013). نظریه این که گیاهان یکی از منابع مهم آنتی اکسیدان ها بوده و باعث حفاظت سلول ها از آسیب های اکسیداتیو می شوند، تحقیقات در این زمینه رو به افزایش می باشد (Kumaranand Karunakaran, 2006). آنتی اکسیدان های طبیعی باعث افزایش قدرت آنتی اکسیدان های پلاسما و کاهش ابتلا به بیماری ها مانند سرطان، آلزایمر و سکته مغزی می شوند

1. Ferric reducing antioxidant power

استفاده از دستگاه pH متر (pH lab ۸۲۷) انجام شد. همچنین برای اندازه‌گیری‌های وزنی از ترازوی دیجیتال 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 جمع‌آوری شده به آزمایشگاه مرکز پژوهشی گیاهان دارویی و زیتنی 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). بدین منظور، مقدار سه سری از نمونه‌ها شامل ۵ گرم از هر نمونه به دقت توزین و هر یک از آن‌ها را درونارنماهایی که حاوی ۵۰ میلی‌لیتر از حلال‌های مختلف شامل آب دوبار یون زدایی شده، متانول و اتانول بود قرار داده شد و به مدت ۲۴ ساعت جهت هم‌زدن روی همزن مغناطیسی قرار گرفت. پس از آن توسط کاغذ واتمن شماره ۴۲ عمل فیلتراسیون انجام گرفت و جهت حذف کامل حلال‌ها، نمونه‌ها در زیر هود لامینار به مدت ۳ روز قرار گرفت. عصاره‌های بدست آمده جهت آنالیزهای بعدی در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

ارزیابی عملکرد آنتی‌اکسیدانی

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

می‌دهند که عصاره آبی بادرشبو به دلیل وجود ترکیبات فنلی مانند رزماریک اسید و کلروژنیک اسید دارای خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد ویروس، ضد آلرژی، ضد التهاب و ضد سرطان 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 به دلیل 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، لوتولین و آپی ژنین به‌دست آمد (Dastmalchi et al., 2007). به دلیل وجود فلاونوئید لوتولین 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 آنتی‌اکسیدانی، ارزیابی ترکیبات فنلی، فلاونوئید و آنتوسیانین گیاه بادرشبو می‌پردازد.

مواد و روش‌ها

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

دستگاه‌ها: از دستگاه اسپکتروفتومتری UV-Vis مدل UNCO UV-2100 Spectrophotometer برای ثبت جذب‌ها استفاده شده است. اندازه‌گیری pH نیز با

شده ترکیبات ۲، ۴، ۶ - تری پیریدیل -s- تری آدین (TPTZ)₂[Fe(III)(TPTZ)₂Cl]، اندازه‌گیری می‌شود (Shahwar et al., 2012). ابتدا محلول است و که شامل بافر استات (NaOH) ۱ مولار و C₂H₄O₂ ۱ (مولار) با pH=۳/۶، محلول ۱۰ TPTZmM در ۴۰ mM HCl و محلول ۲۰ mM FeCl₃.6H₂O تهیه سپس از مخلوط کردن ۲۵۰ میلی‌لیتر بافر استات، ۲/۵ میلی‌لیتر محلول TPTZ و ۲/۵ میلی‌لیتر محلول FeCl₃.6H₂O 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 به مدت ۱۰ دقیقه، جذب آن‌ها در طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد. از FeSO₄.7H₂O 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 به مدت ۲۴ ساعت توسط شیکر به هم زده شد، پس از آن به منظور حذف ذرات ریز و معلق به مدت ۳۰ دقیقه به وسیله سانتریفیوژ با دور ۲۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شد. سپس مقدار ۵ میکرولیتر از هر یک از عصاره‌ها برداشته شد و مقادیر ۲ میلی‌لیتر Na₂CO₃ و 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 به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی، جذب نمونه‌ها در ۷۶۵ نانومتر خوانده شد. برای رسم منحنی کالیبراسیون فنل کل از محلول استاندارد گالیک اسید استفاده شد.

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):

$$\%IP = [(A_{control} - A_{sample})] \div A_{control} \times 100$$

%IP: درصد بازدارندگی 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 IC₅₀ (غلظتی از آنتی‌اکسیدان است که در آن قدرت بازدارندگی عصاره‌ها ۵۰ درصد می‌باشد)، نمودار بازدارندگی هر عصاره بر حسب غلظت رسم شد. در این تست از بوتیل هیدروکسی تولوئن (BHT) و آسکوربیک اسید به‌عنوان کنترل مثبت استفاده گردید

اندازه‌گیری قدرت آنتی‌اکسیدانی به روش فرپ (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

$269001 \text{ mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$ و جرم مولی $449/2 \text{ g/mol}$ محاسبه شد (Ozsoy et al., 2008).

فرمول (۲) $A = A530 - (0.24 * A653)$

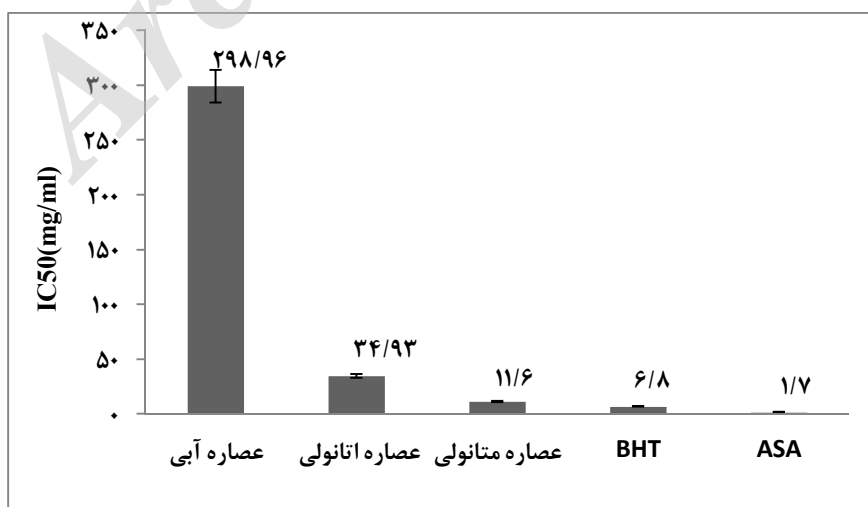
A: جذب محلول‌ها (اعداداندیس نشانگر طول موج‌هایی است که جذب در آنها اندازه‌گیری شده است)

نتایج

در نتایج بدست آمده از تست آنتی‌اکسیدان عصاره‌ها با استفاده از روش کاهش ظرفیت رادیکالی به کمک‌رادیکال DPPH، میزان IC_{50} برای عصاره متانولی $11/60$ (میکروگرم بر میلی‌لیتر) و برای عصاره اتانولی و آبی به ترتیب $38/19$ و $302/84$ میکروگرم بر میلی‌لیتر ارزیابی شد. مقدار IC_{50} برای ASA و BHT به‌عنوان کنترل مثبت، به ترتیب $1/76$ و $6/80$ 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 آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT می‌باشد و حداقل قدرت آنتی‌اکسیدانی بدست آمده برای عصاره آبی است.

اندازه‌گیری میزان فلاونوئید کل: برای اندازه‌گیری مقدار فلاونوئید کل از روش کالری متری آلومینیوم-کلراید استفاده شد (Chang et al., 2002). جهت استخراج فلاونوئید، $0/1$ گرم از هر یک از عصاره‌ها در 10 میلی‌لیتر اتانول 80 درصد حل شد، سپس $0/1$ میلی‌لیتر از محلول حاصل به $0/1$ میلی‌لیتر $AlCl_3 10\%$ ، $0/1$ میلی‌لیتر سدیم استات 1 مولار، $1/5$ میلی‌لیتر اتانول 96 درصد و $3/2$ میلی‌لیتر آب مقطر افزوده و پس از انجام ورتکس، جذب آن‌ها بعد از گذشت زمان 30 دقیقه در طول موج 415 نانومتر خوانده شد. برای رسم منحنی کالیبراسیون از کوئرستین به‌عنوان استاندارد استفاده شد.

اندازه‌گیری مقدار آنتوسیانین کل: برای اندازه‌گیری مقدار آنتوسیانین کل، $0/01$ گرم از پودر خشک گیاه به 2 میلی‌لیتر متانول اسیدی (محلول اسید کلریدریک 1 درصد در متانول) اضافه و به مدت 2 ساعت در تاریکی و در دمای اتاق نگهداری شد. پس از آن به منظور حذف ذرات معلق، 15 دقیقه با دور rpm 20000 سانتریفیوژ گردید و جذب محلول حاصل در دو طول موج 530 و 653 نانومتر قرائت شد. مقدار آنتوسیانین کل با استفاده از فرمول (۲) و معادل میکروگرم سیانیدین 3 - گلیکوزید با ضریب مولی



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

فروس تولید شده بر میلی گرم وزن عصاره در جدول (۱) بیان شده است. نتایج نشان می دهد که عصاره متانولی با مقدار $14/23 \text{ mMFe}^{2+}/\text{mg sample}$ دارای بیشترین مقدار قدرت احیاء کنندگی در مقابل عصاره های اتانولی و آبی به ترتیب ($\text{mMFe}^{2+}/\text{mg}$ عصاره های $8/20$ sample و $1/01 \text{ mMFe}^{2+}/\text{mg sample}$) است.

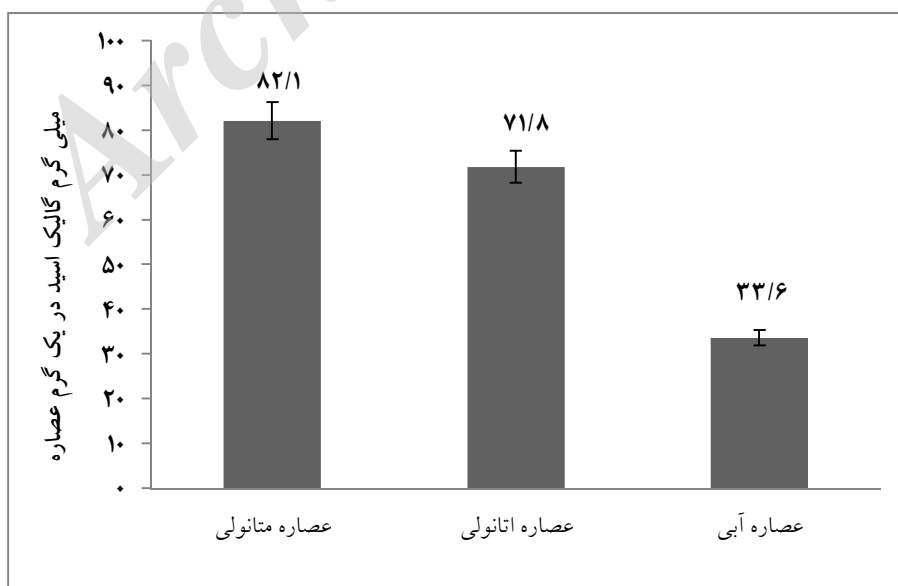
در بررسی قدرت آنتی اکسیدانی به روش FRAP، با توجه به معادله خط حاصل از منحنی کالیبراسیون استاندارد $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ برای محاسبه غلظت یون Fe^{+2} که به صورت $y=3.8171x-0.0964$ ($R^2=0.988$) است، نتایج قدرت احیا کنندگی عصاره های مختلف بر حسب معادل میلی مول یون

جدول ۱: نتایج قدرت احیاء کنندگی عصاره های مختلف گیاه در مقایسه با اسکورییک اسید در روش FRAP

قدرت احیاء کنندگی ($\text{mMFe}^{2+}/\text{mg sample}$)	نمونه ها
42/10	اسکورییک اسید
14/23	عصاره متانولی
8/20	عصاره اتانولی
1/01	عصاره آبی

میزان فنل کل عصاره های مختلف در شکل (۲) نشان داده شده است. با توجه به شکل (۲)، عصاره متانولی با دارا بودن مقدار $82/10$ میلی گرم گالیک اسید دارای بیشترین مقدار فنول کل را در مقابل سایر عصاره ها (اتانولی $71/87$ میلی گرم و آبی $33/65$ میلی گرم گالیک اسید در هر گرم عصاره خشک) است.

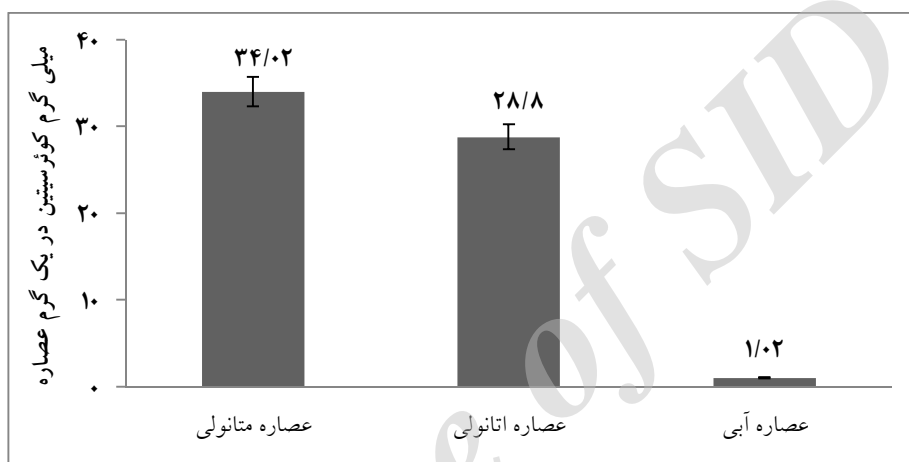
با مشخص شدن معادله خط حاصل از استاندارد گالیک اسید برای محاسبه محتوای فنل کل عصاره های مختلف اندازه گیری شد. میزان کمی بدست آمده برای عصاره متانولی، اتانولی و آبی به ترتیب $82/10$ ، $71/87$ و $33/65$ میلی گرم گالیک اسید بر ۱ گرم عصاره خشک ارزیابی شد. مقایسه



شکل ۲: مقایسه مقادیر فنول کل در عصاره های مختلف در گیاه بادرشبو

شده است. نتایج نشان می‌دهد که مقدار فلاونوئید عصاره متانولی بیشتر از سایر عصاره‌ها است. همچنین با ارزیابی میزان آنتوسیانین موجود در گیاه ($113/55 \mu\text{g/g}$)، این گونه استنباط شد که گیاه بادرشبو دارای مقدار زیاد ترکیبات آنتوسیانینی می‌باشد که یکی از دلایل بالا بودن خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن را شامل می‌شود.

پس از بدست آمدن معادله خط منحنی استاندارد کوئرستین جهت محاسبه محتوای فلاونوئید عصاره‌های مختلف اندازه‌گیری شد. میزان کمی بدست آمده برای عصاره متانولی، اتانولی و آبی به ترتیب $34/02$ ، $28/8$ و $1/02$ میلی‌گرم کوئرستین بر ۱ گرم عصاره خشک تعیین شد. مقایسه مقدار فلاونوئید عصاره‌های مختلف در شکل (۳) نشان داده



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

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 گیاه با داشتن $IC_{50} = 445/9 \mu\text{g/ml}$ دارای خواص آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. در پژوهش حاضر با توجه به قابلیت احیاءکنندگی، عصاره متانولی در روش FRAP دارای بالاترین میزان احیاءکنندگی است. به گونه‌ای که می‌توان این گونه نتیجه گرفت که این عصاره با کمک اهداء الکترون می‌تواند موجب ختم واکنش‌های زنجیره‌ای رادیکال‌ها آزاد شود. مطالعات پیشین در مورد خواص آنتی‌اکسیدانی گیاه بادرشبو به روش FRAP نشان داد که عصاره آبی این گیاه موجب احیای یون Fe^{2+} و کلات شدن آن می‌شود. همچنین

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 اکسیدکنندگی رادیکال‌های آزاد اکسیژن و سایر گونه‌های فعال ایفا می‌کنند (Mazandarani et al., 2011). رادیکال‌های آزاد که در روند پراکسیداسیون لیپیدها درگیر هستند، نقش عمده و متعددی در بیماری‌های مختلف دارند، یک مولکول آنتی‌اکسیدان با جلوگیری از واکنش‌های اکسیداسیون نقش مهمی در مهار رادیکال‌های آزاد دارد. مصرف پلی‌فنلها، مانند فلاونوئیدهای غنی از آنتی‌اکسیدانی‌تواند فواید موثر و بالقوه‌ای بر سلامت

حاضر نیز مقدار قابل توجه آنتوسیانین ($113/55 \mu\text{g/g}$) 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 به دلیل توانایی سنتز ترکیبات فنلی، فلاونوئیدو آنتوسیانینی دارای خواص آنتی‌اکسیدانی بالایی می‌باشد. در مطالعه حاضر خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها از BHT کمتر بود ولی عصاره متانولی بادرشبو با داشتن IC_{50} نزدیک به BHT و با خاصیت آنتی‌اکسیدانی 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 پلی‌فنل‌ها، فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها می‌باشد، ترکیبات فنلی به دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی از جمله ترکیبات مهم گیاه محسوب می‌شوند. همچنین عصاره متانولی گیاه با توانایی احیاء کندگیون آهن (III) به یون آهن (II)، با اهداء الکترون فعالیت ضدپراکسید شدن چربی را از خود نشان می‌دهد و به سبب این خاصیت آنتی‌اکسیدانی 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.

عصاره این گیاه دارای قابلیت تجزیه رادیکال‌های سنتزی و بیولوژیکی مانند یون سوپراکسید می‌باشد و از فسفولیپیدها و کربوهیدرات‌ها در مقابل تجزیه شدن به وسیله‌ی رادیکال‌های هیدروکسیل حد واسط محافظت می‌کند (Babalar et al., 2014). در این مطالعه بالاترین محتوای فنل کل ($82/10 \text{ mgGAE/g}$)، فلاونوئید کل ($34/02 \text{ mgQUE/g}$) 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 به طور مستقیم میزان توانایی عصاره‌های مختلف را در مهار رادیکال‌های آزاد افزایش می‌دهد، در غلظت‌های بالاتر ترکیبات فنلی، به دلیل 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 به صورت موثری به عنوان دهنده هیدروژن عمل نموده لذا به عنوان 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

تشکر و قدردانی

پژوهشگران بر خود لازم می‌دانند مراتب تقدیر و تشکر خود را نسبت به حمایت‌های مالی دانشگاه

سیستان و بلوچستان در راستای انجام این پژوهش اعلام نمایند.

References

- 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
- Bahramikia, S., and Yazdanparast, R. 2008. Antioxidant and free radical scavenging activities of different fractions of *Anethum raveolence* leaves using in vitro models .Pharmacology online, 2: 233- 219.
- 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 Analysis, 10: 178-182.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Mathew, S., and Abraham, TE. 2006. In vitro antioxidant activity and scavenging effects of *Cinnamomum verum* leaf extract assayed by different methodologies. Food and Chemical Toxicology, 44:198-206.
- Mazandarani, M., Makri, S., Bajian, G. 2011. Evaluation of phytochemical and antioxidant activity in different parts of *Heracleum gorganicum* rech in Golestan province, north of Iran. Iranian Journal Plant Physiology, 2(2): 381-388.
- Mehrabani, M., Roholahi, S., and Foruomadi, A. 2005. Phytochemical studies of *Dracocephalum polychaetum* Bornm. Journal of Medicine Plants, 4 (16):36-42.
- Müller, L., Fröhlich, K., and Böhm, V. 2011. Comparative 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.
- Ozsoy, N., Can, A., Yanardag, R., and Akev, N. 2008. Antioxidant activity of *Smilax excelsa* L. leaf extracts. Food Chemistry, 110: 571-583.
- Pascual -Teresa, S., Moreno, DA., and Viguera, C. 2010. Flavanols and anthocyanins in cardiovascular health: a

- review of current evidence. International Journal of Molecular 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, KI. 2013. Evaluation of antioxidant activity, total phenols and phenolic compounds in thyme (*Thymus vulgaris* L.), sage (*Salvia officinalis* L.), and marjoram (*Origanum majorana* L.) extracts. Industrial Crops and Products, 43:827-831.
 21. Sadeghi, Z., Valizadeh, J., Azizian Shermeh, O., and Akaberi, M. 2015. Antioxidant activity and total phenolic content of *Boerhavia elegans* (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 *Dracocephalum moldavica*. 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 Composition Analysis, 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. Comparison 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.

Archive

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

¹Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Sistan and Baluchestan, Zahedan, Iran

²Department of Biology, Faculty of Science, University of Sistan and Baluchestan, Zahedan, Iran

³Department 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, 71.8 and 33.65 mg GAE/g) and (34.02, 28.8 and 1.02 mg 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 $\mu\text{g/ml}$) 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 (113.55 $\mu\text{g/g}$) and antioxidant activity compared to ethanol and aqueous extracts, especially it also had the greatest DPPH inhibitory power ($\text{IC}_{50} = 11.60 \mu\text{g/ml}$).

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