# آت اکولوژی، فنولوژی، اتنوفارماکولوژی، ارزیابی فنل و فلاونویید کل و عملکرد آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های مختلف سرشاخه‌های گلدار گیاه *Dittrichia graveolens* (L.) Greuter. در روش‌های مختلف استخراج (رویشگاه بندرگز)

**عایشه خرمالی[۱]، معصومه مازندرانی*[۲]**

[۱] کارشناس‌ارشد، گروه زیست‌شناسی، واحد گرگان، دانشگاه آزاد اسلامی، گرگان، ایران

[۲] استادیار، گروه زیست‌شناسی، واحد گرگان، دانشگاه آزاد اسلامی، گرگان، ایران

**تاریخ دریافت: ۹۳/۳/۱ تاریخ پذیرش: ۹۳/۶/۲۵**

**چکیده**

این تحقیق به منظوربررسی مهمترین نیازهای اکولوژیکی، فنولوژیکی و ارزیابی فنل، فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی، سرشاخه‌های گلدار گیاه معطر و دارویی عطر پاییزی (*Dittrichia graveolens* (L.) Greuter) در رویشگاه بندرگز استان گلستان طی بهار تا پاییز ۱۳۹۲ انجام گرفت به همین منظور سرشاخه‌های گلدار گیاه در مرداد ماه جمع‌آوری و همزمان مهمترین اطلاعات طب سنتی در مورد گیاه مورد مطالعه از مردم محلی اخذ و ثبت گردید. عصاره گیاه با استفاده از دو حلال متانول و اتانول ۸۰ درصد با استفاده ازدو روش ماسراسیون و التراسونیک، میزان فنل کل و فلاونوئید کل به روش اسپکتوفوتومتری و فعالیت آنتی اکسیدانی نیز با استفاده از روش DPPH اندازه‌گیری و نتایج در سطح P<۰/۰۵ ارزیابی شد. نتایج نشان داد گیاه خودروی عطر پاییزی به طول ٤٥ تا ۱۵۰سانتی‌متر بسیار سازگار به رویشگاه ساحلی بندرگز (١٤- متر) با اقلیم نیمه مرطوب، بارش سالانه ۵۷۷/۳ میلی‌متر، متوسط حرارت سالانه ۱۸/۷ درجه سانتی‌گراد و در خاک‌هایی با بافت سیلت-لومی، اسیدیته ۷/۷ و هدایت الکتریکی ۸/۵ درصد می‌روید رشد رویشی گیاه از نیمه اول فروردین آغاز و تا مردادماه ادامه دارد. ظهور گل‌ها از نیمه اول تیرماه، میوه‌ها از شهریور و سپس پراکنش دانه‌ها از مهر آغاز و خزان می‌کند. در طب سنتی از سرشاخه‌های معطر گیاه به همراه گیاهان درمنه و برازمبل به‌عنوان ضدعفونی کننده، مسکن، ضد التهاب و آنتی‌پاتوژن قوی استفاده می‌شود. نتایج نشان داد که عصاره متانولی گیاه مستخرج از روش اولتراسوند از بیشترین مواد موثره فنلی (۰/۰۹۲mg/g)، فلاونوئید کل (۰/۰٤٥ mg/g) و نیز از عملکرد بهینه آنتی‌اکسیدانی در مهار رادیکال‌های آزاد با میزان (IC50=٦٧μg/ml) برخوردار است.

***واژگان کلیدی***: آت اکولوژی، آنتی‌اکسیدانی، اتنوفارماکولوژی، بندرگز، فنل و فلاونوئید کل، عطر پاییزی

*نویسنده مسئول: mazandarani.m@gorganiau.ac.ir

**مقدمه**

استفاده از گیاهان دارویی خودرو در رویشگاه‌های طبیعی کـه علاوه بر ســـازگاری اکولوژیکی، قادرند با ســـنتز مواد موثره ثـانوی و فعال تحت اســـترس‌های محیطی در بحـث پیشـــگیری و درمان بیماری‌ها موثر واقع شـوند، در سال‌های اخیر جایگاه ویژه‌ای در علم پزشـــکی یافته اســـت. از آن جمله گیاه دارویی عطر پـایـیزی *Dittrichia graveolens* (L.) Greuter کـه تاکنون درباره فیتوشیمی و ترکیبات ثانویه آن در شمال ایران پژوهشی انجام نشده است. بنابراین نظر به اینکه گیاهان منبع آنتی اکسـیدان‌های طبیعی می‌باشـند و به واســـطه آن می‌توانند ســـلول‌ها را از اســـترس‌های اکسیداتیو محافظت نمایند، امروزه تحقیقات وسیعی بر روی عصـاره‌های گیاهی صـورت می‌گیرد تا اینکه به فرآورده‌های طبیعی با فعالیت آنتی‌اکسـیدانی بالا دست یابند (Djeridane et al., 2006). در تحقیقات مختلف فعالیت ضد التهابی، ضد تصلب شرائین، ضد توموری، ضـد سـرطانی و همچنین ضدباکتریایی و ضد قارچی گیاه عطر پاییزی به اثبات رسـیده اسـت (Cai et al., 2004).

اسـتان گلسـتان در شـمال ایران، با تنوع اقلیمی و جغرافیایی خاص، بسـتری مناسـب را برای رشد انواع گونـه‌هـای دارویی بومی و خودرو از جملـه گیاه عطر پـایـیـزی (*Dittrichia graveolens* (L.) Greuter)، فراهم آورده اسـت که اغلب به صـورت گونه مهاجم در حاشیه جاده‌ها، مزارع متروکه و سواحل شور پایین دسـت اسـتان گلستان رویش دارد و در فرهنگ سنتی مردم از این گیاه به صـــورت ترکیبی یا منفرد به‌عنوان مسکن، ضد التهاب و ضدعفونی‌کننده استفاده می‌شود، اما برنامه‌ریزی صـحیح در جهت برداشـت و شـناخت ترکیبات موثره و یا امکان فراوری ترکیبات دارویی آن انجام نشـده اسـت. لذا با توجه به شـیوع بیماری‌های التهابی و عفونی اسـتان، پیداسـت که گیاهان زیادی از جمله عطر پاییزی که در این رابطه دارای سابقه دیرینه در درمـان بیمـاری شـــایع دارند بســـیار مورد توجه پژوهشـگران سـازمان جهانی بهداشـت قرار می‌گیرند (WHO, 2003; Mahboubi, 2012).

عطر پاییزی با نام علمی *Dittrichia graveolens* (L.) Greuter از تیره Asteraceae (آفتابگردان) گیاهی معطر یکساله و بومی منطقه مدیترانه است که به‌صورت علف هرز مهاجم در مزارع و مراتع ساحلی تا ارتفاع ۶۰۰ متری از سطح دریا پراکنده است و در ایران در استان‌های مازندران: ساری، فریدون کنار، گیلان: لاهیجان، بندرانزلی، گلستان: پارک ملی گلستان، تنگ گل، خوزستان، اهواز، فارس، داراب پراکنش یافته است (قهرمان، ۱۳۶۲؛ مظفریان، ۱۳۹۱). تحقیقات نشان داده که مواد معطر اسانس و ترکیبات فنلی عصاره گیاه دارای اثر ضدالتهابی، مسکن و ضدعفونی‌کننده است و این اثرات را به‌دلیل کثرت متابولیت‌های ثانویه آن از قبیل ترپن‌ها، مشتقات تیمولی و فنلی آن نسبت داده‌اند (Giamperi et al., 2009). از جمله مقادیر بالا ی ماده موثره ۱و۸-سینئول (۵۵-۵۵ درصد) و دیگر ترکیبات مونوترپنی در اسانس این گیاه نشان داده که نقش موثری به‌عنوان ضد التهاب در درمان بیماری‌های تنفسی، ضدقارچی و ضدباکتریایی در مدل حیوانی دارد (Blanc et al., 2004).

لذا با توجه به اهمیت این موضـوع و سابقه دیرینه گیاه عطر پاییزی در درمان بیماری‌های شـــایع منطقه، این تحقیق با هدف ات اکولوژی، فنولوژی، فیتوشیمی، اتنوفـارمـاکولوژی و ارزیـابی فعالیت آنتی‌اکســـیدانی سرشاخه‌های گلدار عطر پاییزی در رویشگاه بندرگز و تهیه طیف فلورستیک منطقه انجام گرفت.

**مواد و روش‌ها**

**معرفی منطقه مورد مطالعه:** با استفاده از منابع موجود و نیز بررســـی گزارش‌های طرح‌های شـــناخت مناطق

اکولوژیکی، یکی از رویشگاه‌های طبیعی عطر پاییزی در منطقه ساحل بندرگز تعیین، با انجام عملیات صحرایی و تطبیق آن رویشگاه با نقشه‌های مقدماتی، رویشگاه شناسایی و طی سال ١٣٩٢ مطالعه آغاز گردید. در این تحقیق عملیات صحرایی در محدوده ساحلی ١٤- متری که در فاصله ٤٢ کیلومتری استان گلستان واقع شده است که با طول جغرافیایی ٣٦°٤٦′٩٢٤″ و عرض جغرافیایی ٥٣°٥٧′٤٩١″ قرار دارد که از شمال به خلیج گرگان و شبه جزیره میانکاله در دریای خزر، از شرق به شهرستان کردکوی، از جنوب به شهرستان دامغان از استان سمنان و از غرب به شهرستان بهشهر از استان مازندران محدود می‌شود.

**فنولوژی، نیازهای اکولوژیکی و اتنوفارماکولوژی گیاه:** بررسی به‌منظور شناسایی و ثبت سیکل زندگی عطر پاییزی (*Dittrichia graveolens* (L.) Greuter.) در رویشگاه مورد مطالعه، در طول عملیات صحرایی در فاصله ماه‌های فروردین تا آبان ماه ١٣٩٢ انجام گرفت و در ضمن بررسی نیازهای اکولوژیکی جهت بررسی فنولوژی گیاه، تعداد ٥ تا ١٠ پایه گیاه، به‌طور تصادفی انتخاب که از نظر ریختی و رویشی شرایط نسبتاً یکسانی داشتند انتخاب و علامت گذاری گردید و تقریباً هر ماه به‌طور متناوب مورد بازدید و تاریخ وقوع پدیده‌های حیاتی گیاه تا مرحله خشک شدن آن در طبیعت ثبت گردید و همزمان با حضور در روستای بندرگز با مصاحبه چهره به چهره تلاش شد که اطلاعات سنتی در مورد اندام‌های مصرفی و عملکرد دارویی عطر پاییزی را به همراه سایر گونه‌های دارویی اخذ و ثبت گردد.

**نمونه برداری:** سرشاخه‌های گلدار گیاه در شهریور ماه ١٣٩٢ از رویشگاه بندرگز جمع‌آوری، خشک و به منظور عملیات عصاره‌گیری در آزمایشگاه آماده گردید. همزمان با برداشت گیاه، نمونه‌برداری خاک رویشگاه برای انجام آزمایشات بافت خاک، اسیدیته، هدایت‌الکتریکی، مواد آلی و کربنات کلسیم و رطوبت اشباع نمونه‌های خاک انجام شد.

## عصاره گیری

**استخراج عصاره به روش ساده:** عصاره سرشاخه‌های گیاه عطر پاییزی با استفاده از دو حلال متانول و اتانول (٨٠ درصد) استفاده شد. به منظور تهیه عصاره ابتدا نمونه‌ها در دمای طبیعی خشک، سپس با آسیاب برقی به خوبی پودر و از الک شماره ١٨ گذرانده شد. نمونه-های الک شده توزین شده و مقدار یک گرم از هر نمونه به ارلن ٥٠ میلی‌لیتری انتقال یافته و با ١٠ سی‌سی حلال متانول ٨٠ درصد و اتانول ٨٠ درصد مخلوط شد. پس از ٢٤ ساعت روی شیکر عصاره متانولی و اتانولی حاوی نمونه با استفاده از کاغذ صافی صاف شد سپس عصاره خالص برای اندازه‌گیری فنل، فلاونوئید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه مورد استفاده قرار گرفت. آزمایش در سه تکرار انجام گرفت. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS تجزیه و تحلیل آماری شدند. مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون LSD انجام شد.

**استخراج عصاره به روش التراسوند:** به‌منظور تهیه عصاره، ابتدا نمونه سرشاخه‌های در دمای طبیعی (دمای اتاق) خشک شد، سپس با آسیاب برقی به خوبی پودر و از الک شماره ١٨ گذرانده شد. نمونه‌های الک شده توزین شده و مقدار یک گرم از هر نمونه به ارلن ٥٠ میلی‌لیتری انتقال یافته و با ١٠ سی‌سی حلال‌های مختلف (متانول ٨٠ درصد و اتانول ٨٠ درصد) مخلوط شد و به‌مدت ٢٠ دقیقه در دستگاه التراسوند با دمای ٢٠ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و سپس عصاره‌های حاوی نمونه، ٢٤ ساعت روی شیکر قرار گرفتند و بعد از اتمام ٢٤ ساعت با استفاده از کاغذ صافی صاف شد سپس عصاره خالص برای اندازه‌گیری فنل، فلاونوئید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه مورد استفاده قرار گرفت.

**اندازه‌گیری میزان فنل کل** (McDonald et al. 2001): میزان فنل با استفاده از روش فولین سیکالتیو اندازه‌گیری شد. ابتدا ۲۰ میکرولیتر از عصاره برداشته شد و با ۱/۱٦ میلی‌لیتر آب مقطر و ۱۰۰ میکرولیتر فولین سیوکالتیو اضافه شد و بعد از ۸–۱ دقیقه استراحت، ۳۰۰ میکرولیتر کربنات‌سدیم یک مولار (۱۰/٦ گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر) به محلول افزوده شد و به مدت ۳۰ دقیقه در حمام بخار ٤۰ درجه سانتی‌گراد در تاریکی قرار گرفت. در شاهد متانول خالص جایگزین عصاره متانولی گردید. سپس در طول موج ۷٦۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید. برای رسم منحنی کالیبراسیون از غلظت‌های متفاوت گالیک اسید (۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۲۵۰، ۳۵۰ میلی‌گرم بر لیتر) استفاده گردید. در معادله خطی حاصل به‌جای Y، عدد قرائت شده در مقابل بلانک را قرار داده شد و به این ترتیب X به‌دست آمد. این مقدار برای یک گرم در لیتر محاسبه شد و فنل کل بر حسب میلی‌گرم گالیک اسید در یک گرم برگ خشک بدست آمد.

**اندازه‌گیری محتوای فلاونوئید کل** (Chang et al., 2002): از روش رنگ سنجی کلرید آلومینیوم برای تعیین مقدار فلاونوئیدها استفاده شد. هر کدام از عصاره‌های متانولی گیاهی (۰/۵ ml از $1:10\ g.\ ml^{-1}$) به‌صورت جداگانه با ۱/۵ میلی‌لیتر متانول، ۰/۱ میلی‌لیتر کلرید آلومینیوم (۱۰٪ متانولی)، ۰/۱ میلی‌لیتر استات پتاسیم (1M) و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر ترکیب شدند. سپس محلول‌ها در دمای اتاق به‌مدت ۳۰ دقیقه قرار داده شدند. جذب هر ترکیب واکنشی در ٤۱۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. منحنی استاندارد با محلول‌های کوئرستین (Quercetin, Sigma Chemical Co.) متانولی در غلظت‌های $\mu g.\ ml^{-1}$ ۱۰۰۰–۲۵۰ تهیه شد و منحنی با نرم‌افزار Excel رسم گردید، سپس معادله خط y=bx+a بدست آمد. جذب‌های خوانده شده از نمونه‌ها به جای y قرار داده شد و x یا همان غلظت بدست آمد.

**اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH (Sun et al., 2007)**: برای این منظور از رادیکال آزاد DPPH (2,2-Diphenyl- Picryl- Hydrazyl) استفاده شد. ابتدا عصاره‌های گیاهی در غلظت‌های متفاوت $5\times10^{-2}$ mg/100 الی $5\times10^{-6}$ در متانل خالص تهیه شد. سپس مخلوطی به نسبت ۱:۱ از محلول (8 mg/100) DPPH و عصاره‌های گیاهی با غلظت‌های متفاوت تهیه شد. جذب نمونه‌ها بعد از ۳۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه در ۵۱۷ نانومتر اندازه‌گیری شد. درصد مهار رادیکال آزاد DPPH نمونه‌ها با استفاده از رابطه زیر به‌دست آمد.

$$R\% = AD - AS/AD \times 100$$

R%= درصد مهار

AD: جذب DPPH در ۵۱۷ نانومتر

AS: جذب نمونه‌ها در ۵۱۷ نانومتر

برای مقایسه فعالیت عصاره‌ها از پارامتر $IC_{50}$ استفاده شد ($IC_{50}$ غلظتی از عصاره است که ۵۰ درصد رادیکال‌های آزاد را مهار می‌کند).

## نتایج

نتایج نشان داد، رویشگاه بندرگز در فاصله ٤۲ کیلومتری گرگان دارای اقلیم نیمه مرطوب (١٤– متر) با میزان بارندگی سالیانه ۵۵۷/۳ میلی‌لیتر و درجه حرارت سالیانه ۱۸/۷ درجه سانتی‌گراد، بافت خاک سندی–لوم که از شمال به خلیج گرگان و شبه جزیره میانکاله در دریای خزر، از شرق به کردکوی، از جنوب به دامغان و از غرب به بهشهر از استان مازندران محدود می‌شود و در طول جغرافیایی″ ۹۲٤ ′ ٤٦ ° ۳٦ و عرض جغرافیایی ″ ٤۹۱ ′ ۵۷ ° ۵۳ قرار دارد.

رشد رویشی گیاه از نیمه اول فروردین آغاز، فاز گلدهی از نیمه اول تیر ماه و تا نیمه دوم مردادماه ادامه

دارد. میوه‌ها از نیمه اول شـهریور تشـکیل می‌گردند و تـا اواخر آبان ماه پراکنش میوه‌ها ادامه دارد.

اتنوفارماکولوژیکی گیاه مورد مطالعه نشان داد که مردم محلی از جوشانده سرشاخه‌های معطر عطر پاییزی با گیاه برازمبل (*Provskia abrotanoides* L.)، درمنه (*Artemisia sieberi*) و موره (*Artemisia annua*) به‌عنوان مسکن و ضد التهاب در درمان دردهای روماتیسمی و از له شده سرشاخه‌های گلدار عطر پاییزی و برگ‌های پونه (*Mentha longifolia* L.) به عنوان ضد قارچ و ضد پاتوژن و در نهایت از عصاره عطر پاییزی و عصاره علف چای (*Hypericum perforatum* L.) با عسل در درمان سوختگی‌های چرکین استفاده می‌کنند.

نتایج آزمایش‌های فیزیکوشیمیایی خاک نیز حاکی از آن است که بافت خاک رویشگاه از نوع سیلتی-لوم، از نظر اسیدیته جزء خاک‌های قلیایی شور (Ec=٨,٥)، کربن آلی بالا (٢٤,٢)، فسفر ١٣ ppm، پتاسیم ٢٤٠ ppm و اسیدیته ٧,٧ است که از نظر زراعی فاقد محدودیت می‌باشد و مقدار قابل توجهی آب مورد نیاز گیاه را در خود نگه می‌دارد.

**جدول ١:** مهمترین شاخص‌های فیزیکوشیمیایی خاک رویشگاه گیاه عطر پاییزی *Dittrichia graveolens* (L.) Greuter (بندرگز).

| مشخصات / منطقه | بارندگی سالیانه | درجه حرارت سالیانه | هدایت الکتریکی | اسیدیته کل٪ | درصدمواد خنثی‌شونده ٪ | کربن آلی ٪ | ازت کل ٪ | فسفر قابل‌جذب ppm | پتاسیم قابل‌جذب ppm | بافت خاک |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| بندرگز | ٣/٥٥٧ | ٧/١٨ | ٨/٥ | ٧/٧ | ٤ | ٢٤/٢ | ٠/٢٥ | ١٣ | ٢٤٠ | (سیلت-لومی) |

بررسی نتایج تست‌های فیتوشیمیایی عصاره‌های گیاه عطر پاییزی در رویشگاه بندرگز پس از اندازه‌گیری پارامترهای مورد نظر و تجزیه و تحلیل آنها تیمارهای مختلف با یکدیگر مقایسه شدند که نتایج آن در جداول تجزیه واریانس (جدول ٢) آمده است.

**جدول ٢:** تجزیه واریانس برخی از متابولیت‌های ثانویه تحت تاثیر تیمارهای نوع حلال و روش استخراج بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فلاونوئید کل و فنل کل

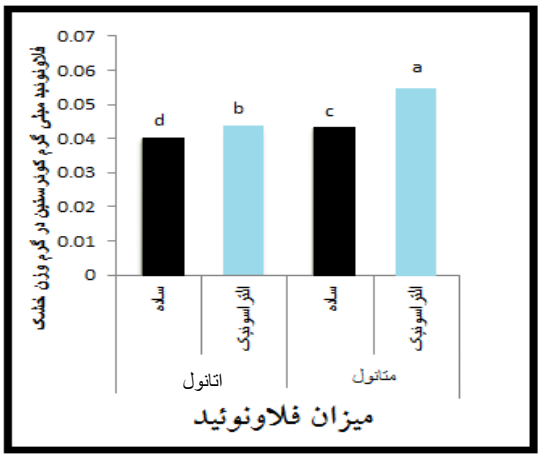
| منابع تغییرات | درجه آزادی (DF) | فنل کل | فلاونوئید | $IC_{50}$ |
|---|---|---|---|---|
| اکوتیپ | ١ | ٠/٠٠٠٧٥** | ٠/٠٠٠٦١** | ٠/٠٤٨** |
| حلال | ١ | ٠/٠٠٢٠** | ٠/٠٠٤٢** | ٠/١٠١** |
| روش استخراج | ١ | ٠/٠٠٢٨* | ٠/٠٠٥٣* | ٠/١٢٩* |
| اکوتیپ×روش استخراج | ١ | ٠/٠٠٠٣١* | ٠/٠٠٠٠٠٤١* | ٠/٠٠٠٠٠٥** |
| حلال× روش استخراج | ١ | ٠/٠٠٠٤* | ٠/٠٠٠٠٢٢** | ٠/٠٠٠٠٦* |
| اکوتیپ×حلال×روش استخراج | ١ | ٠/٠٠٠٠٠٣* | ٠/٠٠٠٠١٥* | ٠/٠٠٠٠٤** |
| خطا | ١٤ | ٠/٠٠٠٤٢ | ٠/٠٠٠٠٠١٧ | ٠/٠٠٠٨ |

با توجه به جدول تجزیه واریانس ابتدا به بررسی تک جانبه تیمار بر اثر گذاری تیمارهای اکوتیپ، حلال و روش استخراج به‌صورت مجزا بر میزان فنل کل و فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌پردازیم و سپس اثر متقابل هر کدام از تیمارها را بر میزان ماد موثره شرح خواهیم داد.

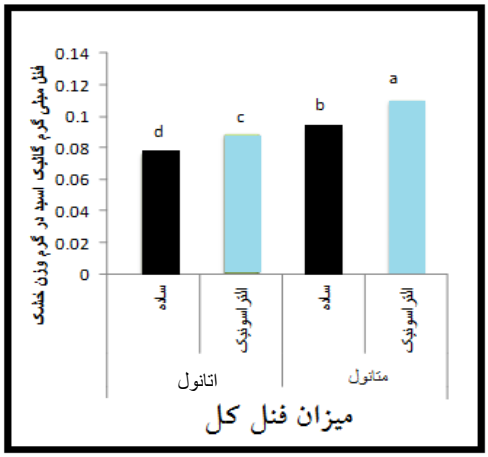
**جدول ۳:** محتوی فنل‌کل (TP) و فلاونویید کل (TF) وارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه عطر پاییزی *D. graveolens* در رویشگاه طبیعی بندرگز با استفاده از دو حلال (متانول و اتانول) و دو روش استخراج (ماسراسیون و التراسونیک).

| Plant Parts | محتوی فلاونوئید کل (mgQUE g -1) | | | | محتوی فنل کل (mgGUE g -1) | | | | ارزیابی میزان فعالیت آنتی اکسیدانی (mg mL-1) | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | متانول | | اتانول | | متانول | | اتانول | | متانول | | اتانول | |
| | التراسونیک | ماسراسیون | التراسونیک | ماسراسیون | التراسونیک | ماسراسیون | التراسونیک | ماسراسیون | التراسونیک | ماسراسیون | التراسونیک | ماسراسیون |
| سرشاخه‌های گلدار گیاه | ۰/۰۵٤ | ۰/۰٤۳ | ۰/۰٤۳ | ۰/۰٤ | ۰/۰۹۳ | ۰/۰۱۱ | ۰/۰۸۹ | ۰/۰۷۷ | ٥٤ | ٦۸ | ٦٦ | ۸۱ |

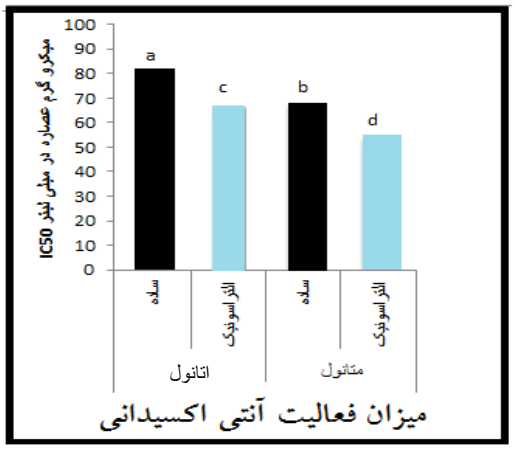
نتایج حاصل از جدول ۳ و نمودارهای ۱، ۲ و ۳ در مقایسه میانگین میزان فنل و فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عطر پاییزی تحت تاثیر دو حلال (اتانول و متانول) دو روش استخراج (ماسراسیون و التراسونیک) نشان می‌دهد که میزان متابولیت‌های ثانوی گیاه عطر پاییزی و همچنین عملکرد آنتی‌اکسیدانی گیاه در عصاره متانولی مستخرج از روش اولتراسونیک بیشتر است.




**شکل ۱:** مقایسه محتوی فلاونویید کل (TF) گیاه عطر پاییزی *D. graveolens* در عصاره‌های مختلف (متانولی و اتانولی) و در روش‌های مختلف استخراج عصاره (ماسراسیون و التراسونیک) در رویشگاه طبیعی بندرگز.




**شکل ۲:** مقایسه محتوی فنل کل (TP) گیاه عطر پاییزی *D. Graveolens* در عصاره‌های مختلف (متانولی و اتانولی) و در روش‌های مختلف استخراج عصاره (ماسراسیون و التراسونیک) در رویشگاه طبیعی بندرگز.




**شکل ۳:** مقایسه عملکرد آنتی اکسیدانی گیاه عطر پاییزی *D. graveolens* در عصاره‌های مختلف (متانولی و اتانولی) و در روش‌های مختلف استخراج عصاره (ماسراسیون و التراسونیک) در رویشگاه طبیعی بندرگز.

**بحث**

نتایج بررسی‌های اکولوژیکی و عملیات صحرایی در این تحقیق نشان می‌دهد که رویشگاه ساحلی بندرگز با اقلیم نیمه مرطوب، اسیدیته خنثی، شوری ۸/۵ دسی‌زیمنس و بافت خاک سیلتی- لومی از پتانسیل بسیار مناسب برای رشد گیاه مورد مطالعه برخوردار است و از آنجایی که در زراعت و باغبانی تنها زنده ماندن گیاهان مورد توجه نیست بلکه رشد مناسب و عملکرد مطلوب آن نیز مورد توجه است، بایستی با دقت و حساسیت بیشتری شوری خاک را مورد مطالعه قرارداد، اما با توجه به نوع گیاه عطر پاییزی و تعلق آن به تیره آفتابگردان، می‌توان نتیجه گرفت که این گیاه خود را با طیف گسترده‌ای از انواع شرایط خاک سازگار کرده است.

همانطور که از نتایج مندرج در جداول ۲ و ۳ مشخص شده، تیمار حلال در سطح ۱ درصد اثر معنی‌داری بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدان، فلاونوئید کل و فنل کل داشتند و تیمار روش استخراج در سطح ۵ درصد اثر معنی‌داری بر میزان فنل کل، فلاونوئید کل و آنتی‌اکسیدانی داشت، به این صورت که به‌ترتیب، میزان ترکیبات فلاونوئیدی و فنل کل در عصاره متانولی قابل توجه بوده با این تفاوت که این اختلاف معنی‌دار است و علاوه بر این میزان عملکرد آنتی اکسیدانی آن نیز همسو با افزایش مواد موثره فنلی و فلاونوییدی افزایش یافته به‌طوری‌که با میانگین (IC50=67 µg/ml) از قدرت بیشتری در مهار رادیکال آزاد برخوردار بود. در نتیجه همسو با یافته‌های ضرغامی و همکاران (۲۰۱۱) می‌توان اینطور استنباط نمود که نوع حلال و روش استخراج عصاره نقش مهمی را در کمیت و کیفیت مواد موثره ثانوی گیاه و همچنین تغییرات عملکردهای بیولوژیک و همچنین عملکرد آنتی اکسیدانی گیاه بر عهده دارد (Zarghami et al., 2011) و اینکه بخش مهمی از ترکیبات ثانوی فلاونوییدی و فنلی در فاز گلدهی گیاهان سنتز شده و بالطبع باعث افزایش عملکرد آنتی‌اکسیدانی گیاه و متعاقب آن افزایش سازش‌پذیری گیاه نیز قابل بحث است (Mazandarani et al., 2009). همچنین بررسی شاخص‌های اکولوژیکی منطقه نشان می‌دهد که احتمالاً افزایش شوری در رویشگاه ساحلی و از جمله تغییر شاخصه‌های خاک از مهمترین مولفه‌های موثر در افزایش عملکرد فیتوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی گیاه در رویشگاه بندرگز می‌باشد. طبعاً به‌دلیل کثرت مواد موثره ثانوی فنلی و

فلاونوییدی، بیشترین میزان عملکرد آنتی‌اکسیدانی بدست آمد.

در حال حاضر مصرف آنتی اکسیدان‌های سنتزی علی‌رغم کارایی و پایداری بالا و نیز ارزانی نسبی، به‌دلیل خاصیت سرطان‌زایی و همچنین تمایل روز افزون مردم جهت پرهیز از مصرف یا به حداقل رساندن کاربرد افزودنی‌های سنتزی در موادغذایی رو به کاهش گزارده است (Elmastas و همکاران، ۲۰۰۶). از آنجایی که تولید بالای گونه‌های اکسیژن واکنش‌دهنده، موجب استرس اکسیداتیو و وقایع پاتولوژیکی نظیر سرطان، بیماری عروق قلب و آلزایمر می‌شوند، شناسائی راه‌های موثر حذف ROS به‌عنوان ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در غذاها، نقش حفاظتی بهینه‌ای در مقابل تغییرات اکسیداتیو غذاها و افزایش مدت ماندگاری آنها دارند (Jamshidi و همکاران، ۲۰۱۰). شواهد اپیدمیولوژی حاکی از آن است که بین مصرف غذایی حاوی فلاونوئیدهای آنتی‌اکسیدان و ریسک ابتلا به بیماری‌های قلبی عروقی ارتباط معکوس وجود دارد، گیاهان و مشخصاً گیاهان دارویی به‌طور سنتی در پیشگیری و درمان بیماری‌های گوناگون بکار می‌روند و این فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن گیاهان را می‌توان عمدتاً به حضور ترکیبات فنلی در آن نسبت داد (Cai et al., 2004).

بسیاری از تحقیقات نشان داده که عصاره و اسانس گونه‌های مختلف عطرپاییزی به‌دلیل کثرت مواد موثره فنلی و فلاونوییدی دارای فعالیت‌های متفاوت ضد باکتریایی و ضد قارچی است و قدرت مهارکنندگی قوی روی محدوده وسیعی از باکتری و قارچ در انسان، غذا و پاتوژن‌های گیاهی دارد. مطالعه‌ای به منظور بررسی فعالیت آنتی‌باکتریالی *Inula graveolens* و *Sartolina corsica* علیه باکتری استافیلوکوکوس ارئوس انجام شد و اثرات آنها در سطح سلولی بررسی شد. و نتایج نشان داد که غشای سیتوپلاسمی و دیواره سلولی با فعالیت سمی اسانس *I.graveolens* و *S.corsica* درگیر شده‌اند (Guinoiseau et al., 2010). امروزه با توجه به اثرات مضر نگهدارنده‌های شیمیایی و سنتتیک، اغلب مردم خواهان استفاده از نگهدارندهای طبیعی مشتق شده از منابع طبیعی (گیاهان) از جمله گونه‌های معطر و اسانس‌داری هستند که در طب سنتی اغلب کشورها و ایران دارای سابقه دیرینه مصرف، به‌عنوان یک منبع غذایی در درمان بیماری قلبی، کاهش قند خون، اختلالات کبدی، زخم معده، برونشیت، رماتیسم، میگرن، عفونت‌های ادراری، بواسیر، سرماخوردگی، زخم‌های عفونی باشد (Mahboubi, 2012).

در تایید نتایج بدست آمده از این تحقیق، Unal و همکاران (۲۰۰۸) در بررسی اثر ضدمیکروبی عصاره‌های کلروفرمی، اتانولی، اتانولی و آبی ۲۵ گیاه نشان دادند که نوع حلال و روش عصاره‌گیری تاثیر بسزایی در استخراج مواد موثره ثانوی گونه‌های دارویی دارد و به‌طورکلی، بین قدرت آنتی‌اکسیدان و محتوای فنل کل همبستگی برقرار بود (Unal et al., 2008).

بیشتر تحقیقات نشان داده که مواد معطر اسانس و ترکیبات فنلی گیاه عطر پاییزی دارای اثر ضدالتهابی، مسکن و ضدعفونی کننده است و این اثرات را به‌دلیل کثرت متابولیت‌های ثانویه از قبیل ترپن لاکتون، مونوترپن‌ها و دی‌ترپن‌ها و مشتقات تیمول و دی ترپن‌ها هنگامی که به‌عنوان اسانس تولید می‌شود بیشتر است (Giamperi et al., 2009). مقادیر بالای ماده موثره (۵۵-۵۰ درصد) 1,8 Cineol و دیگر ترکیبات مونو ترپنی در اسانس این گیاه نشان می‌دهد که نقش موثری به‌عنوان ضد التهاب در درمان بیماری‌های تنفسی دارد (Blanc et al., 2004). با توجه به تحقیقات بیان شده گیاه عطر پاییزی منبع غنی از اسانس، ترکیبات فنلی و آنتی‌اکسیدانی است که

مشـــخص می‌کند این گیاه می‌تواند برای برای درمان بیماری‌ها در داروسـازی ارزش بـــالقوه بالایی داشته بـــاشـد. اسـانس‌های تولید شـده در این گیاه در آروماتراپی سـنتی تحریک کننده نبوده اسـت و ترپن لاکتون یک ترکیب از ترکیبات موجود در بسـیاری از روغن‌های (اسـانس‌ها) ضـروری اسـت، در نتیجه روغن‌های ضروری حاوی تـرپن لاکتون می‌باشند که عمدتاً مسئولیت ضد قارچی و ضد باکتریـــایی دارند (Stojanović-Radić et al., 2010). میزان ترپن لاکتون در اسـانس گیاه فراوان اسـت، بیماران مبتلا به لوسمی مزمن در برابر داروهای سـیتو توکسـیک از این گیاه واکنـــش‌هـای مثبتی نشـان دادند. آلانتولاکتون (Alantolactone) و سـسـکـوئـی تـرپـن لاکتون (sesquiterpene lactone) آلرژی‌زا هسـتند که جزء ترکیبات عمده موجود در اسانس گیاه*Inula helenium* است. در تحقیقی که در لبنان انجام گرفت نشان دادند که عصـاره اتانلی سـر شـاخه‌های هوایی گیاه عطر پاییزی دارای خاصـیت سـیتوتوکسـیک و علیه تکثیر سلول‌های سرطان سینه بوده و مانع تکثیر توده سلولی MCF7 (عامل مهمی در ایجاد سرطان سینه) می‌شود و بیشـترین خاصیت ضدسرطانی در بین ۷٦ گیاه دارویی در فلور لبنان از این گیاه گزارش شـده اسـت، که این خاصیت به درصد بالاتر ترکیبات فنلی و فلاونوئیدهای آن گیـاه نسـبت داده‌اند (Abu-Dahab and Afifti, 2007). در فعالیت مهار رادیکال آزاد در عصـاره عطر پاییزی مشـخص کرد که این گونه‌های مختلف گیاه به عنوان منبع بالقوه آنتی‌اکسـیدان اسـت و مهمترین اثر بیولوژیکی آن‌ها شـامل خاصـیت آنتی اکسـیدانی، ضد التهاب، مقوی، آنتی پاتوژن، ضـد قارچ و ضد ویروس است و گزارش شده که فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنلی عمدتاً مربوط به ویژگی احیاءکنندگی اسـت که به‌عنوان احیاءکننده با غیرفعال کردن رادیکال‌هـای آزاد یا ممانعت از تجزیه هیدروپراکسـیدها به رادیکال آزاد می‌شـونـد (Huda Faujan و همکاران، ۲۰۰۹) این یافته‌ها با اسـتفاده از آزمایشـات مختلف درگیاه عطر پاییزی در دو رویشـگاه بندرگز بررسـی شـد ومبنای علمی را به پژوهش ما داد.

## نتیجه‌گیری نهایی

با مقایسـه یافته‌های این تحقیق و دیگران مشخص شـد که نوع حلال، روش‌های اسـتخراج، شـرایط و اسـترس‌های اکولوژیکی از مهمترین عوامل تغییر در کمیـت و کیفیـت مواد موثره دارویی گیـاه و عملکرد آنتی‌اکسـیدانی و دارویی آن دارد و از جمله همسـو با یافته‌های دیگران و نتایج این تحقیق، می‌توان این طور اسـتنبـاط نمود کـه بخش مهمی از ترکیبـات فنلی و فلاونوییدهای گیاه در فاز گلدهی و تحت استرس‌های محیطی سـنتز شده و مقدارشان در عصاره گیاه افزوده شده و سازش‌پذیری بیشتری به گیاه در مقابل تغییرات محیطی به گیاه می‌بخشـد و متعاقب آن از پتانسـیل بهتری در مهار رادیکال‌های آزاد برخوردار می‌شود که این یافته‌هـا در تایید مصارف دارویی گیاه در منطقه به‌عنوان ضـدعفونی کننده، ضـدالتهاب و آنتی‌پاتوژن قوی قابل بحث است.

لـذا بـا توجه به اهمیت نقش تنش‌های محیطی در سـنتز ترکیبات ثانوی و عملکرد دارویی آنها، ضرورت انجام تحقیقات مشـابه و تکمیلی در مورد این گیاه و در سـایر رویشـگاه‌ها و زمان‌های مختلف رشد گیاه را بیش از پیش ضـروری می‌سـازد، بنابراین در طرح‌های آتی اسـتخراج، شـناسـایی و مقایسـه کیفیت مهمترین مواد موثره ثانوی اندام‌ها و همچنین بررسـی و مقایسه اثرات ضـدالتهاب، ضدعفونی کنندگی و ضداسپاسمی آن در رویشـگـاه‌هـای مختلف به روش‌های مختلف عصـاره‌گیری و با اسـتفاده از حلال‌های مختلف، در مدل‌های حیوانی و بالینی پیشنهاد می‌گردد.

## منابع


۱. مظفریان، ۱۳۹۱. رده‌بندی گیاهی، جلد دوم. انتشارات امیر کبیر، تهران، چاپ دوم. ص ۴۳۳-۴۲۱.

۲. قهرمان، ۱۳۶۲. فلور رنگی ایران. موسسه جنگل‌ها و مراتع، شماره ۲۵۵.

3. Abu-Dahab, R., and Afifti, A. 2007. Antiproliferative activity of selected medicinal plants of Jordan against a breast adenocarcinoma cell line (MCF7). Scientia Pharmaceutica., 75:121-136.
4. Blanc, P., Bradesi, M.J., Gonçalves, L. Salgueiro, and Casanova, J. 2004. Essential oil of *Dittrichia viscosa* ssp. *viscosa*: analysis by 13C-NMR and antimicrobial activity, Flavour Frag. J. 21:324-332.
5. Chang C., Yang M., Wen, H., and Chern, J. 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. J. Food Drug Analaysis, 10: 178-182.
6. Cai, Y., Luo, Q., Sun, M. and Corke, H. 2004. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer.. Life Sciences, 74: 2157-2184.
7. Elmastas, M., Türkekul, Đ., Öztürk, L., Gülçin, Đ., Isıldak, Ö., and Aboul-Enein, H.Y. 2006. The antioxidant activity of two wild edible mushrooms (*Morchella vulgaris* and *Morchella esculanta*). Comb. Chem. High Throughput Screening 6: 443-448.
8. Mahboubi, M., Bokaee, S., Dehdashti, H., and Feizabadi, M.M. 2012. Antimicrobial activity of *Mentha piperitae*, *Zhumeria majdae*, *Ziziphora tenuior* oils on ESBLs producing isolates of *Klebsiella pneumoniae*, Biharean Biologist. 6(1):5–9.
9. Mazandarani, Zarghami Moghadam, Zolfaghari, M.R., and Ghaemi, E. 2012a. Effect of solvent type on TP and TF content and antioxidant activity in *Onosma dichroanthum* Boiss. in Golestan province, North of Iran. Journal of Medicinal plant research, 6(28): 4481-4488.
10. McDonald, S., Prenzler, P.D., Autolovich, M., and Robards, K. 2001. Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. Food Chemistry, 73:73-84.
11. Guinoiseau, E., et al. 2010. Cellular effects induced by *Inula graveolens* and *Santolina Corsica* essential oils on *Staphylococcus aureus*. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect Dis. 29(7):873-9.
12. Giamperi, L., Bucchini, A., Cara, P., Fraternale, D., Ricci, D., Genovese, S., Curini, M., and Epifano, F. 2009. “Composition and antioxidant activity of *Nepeta foliosa* essential oil from *Sardinia* (Italy)”. Chemistry of Natural Compounds 45: 554–556.
13. Huda-Faujan N., Noriham A., Norrakiah A.S., and Babji A.S. 2009. Antioxidant activity of plants methanolic extracts containing phenolic compounds. Afr. J. Biotechnol., 8: 484-489.
14. Stojanović-Radić Z., Nešić M., Čomić L. and Radulović N. 2010. Antimicrobial activity and cytotoxicity of commercial rosemary essential oil (*Rosmarinus officinalis* L.), Biologica Nyssana, 1: 83-88.
15. Sun, T., Powers, J.R. and Tang, J. 2007. Evaluation of the antioxidant activity of *Asparagus, broccoli* and their juices. Food Chemistry, 105: 101-106.
16. Zarghami Moghaddam P., Zolfaghari M.R., Ghaemi E.A., Mazandarani M., Mansourian A.R., and Taheri S.A. 2011. Negative performance of root extract of *Onosma dichroanthum* boiss. on the burn wound healing in an animal model. Arch. Clin. Microbial., 2(5):3823/238.
17. Jamshidi, M., Ahmadiashtiani, H., Rezazadeh, Sh., Fathizad, F., Mazandarani, M., and Khaki, A. 2010. Study on Phenolics and Antioxidant Activity of some Selected Plant of Mazandaran Province. J. Med. Plants, 9:177-183.
18. Unal, E., Mavi, A., Kara, A.A., Cakir, A., Şengül, M. and Yildirim, A. 2008. Antimicrobial and antioxidant activities of some plants used as remedies in Turkish traditional medicine. Pharmaceutical Biology, 46(3): 207-224.
19. WHO report, 2003. Global tuberculosis control: surveillance, planning, financing Geneva, Switzerland, (WHO/CDS/TB/ 2003.316).
20. Zarghami Moghaddam, P., Mazandarani, M., Zolfaghari, M.R., and Ghaemi, E. 2012. Anti bacterial and antioxidant activity in root extract of *Onosma dichloroanthum* Boiss. in North of Iran. African Journal of Microbiology research. 6(8): 1776-1781.