



بررسی ترکیبات فیتوشیمیایی و پتانسیل آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های اتانولی و

اتیل استاتی سه اکوتیپ گیاه دارویی افسنتین *Artemisia absinthium*

Investigating of Phytochemical Compositions and Antioxidant Potential of Ethanol and Ethyl Acetate Extracts of Three Ecotypes of Medicinal Plant *Artemisia absinthium*

سپیده هوشمند^۱، سعیده علیزاده سالطه*^۱، صاحبعلی بلندنظر^۱، الیاس آریاکیا^۲

۱. گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز

۲. مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران

نویسنده مسئول، پست الکترونیک: (s.alizadeh@tabrizu.ac.ir)

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۹/۱۵، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۳/۲۹

چکیده

از جمله گیاهان با ارزش ایران، گونه‌های جنس *Artemisia* متعلق به تیره Asteraceae می‌باشند که پراکندگی نسبتاً وسیعی در نقاط مختلفی از ایران دارند. پتانسیل آنتی‌اکسیدانی به میزان قابل توجهی با ماهیت حلال، روش استخراج گیاه جمع‌آوری شده از هر منطقه، بستگی به پارامترهای زیادی از جمله آب و هوا، ارتفاع و نور دارد. در این مطالعه، گیاه دارویی افسنتین با نام علمی *Artemisia absinthium* از ۳ ناحیه مختلف ایران جمع‌آوری و پتانسیل آنتی‌اکسیدانی این اکوتیپ‌ها ارزیابی شد. در این پژوهش خواص دارویی از جمله فعالیت آنتی‌اکسیدانی (با دو روش DPPH و FRAP)، مقدار فنول و فلاونوئید کل در عصاره‌های قطبی (اتانول) و نیمه‌قطبی (اتیل استات)، درصد و تنوع ترکیبات اسانس مورد ارزیابی قرار گرفت. اکوتیپ گیلان دارای بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی بود و در مجموع اکوتیپ سمنان کمترین بازدارندگی آنتی‌اکسیدانی را از خود نشان داد و حلال نیمه‌قطبی اتیل استات فعالیت احیاکنندگی بالاتری را نشان داد، که این مورد بیانگر این است که نوع حلال مورد استفاده در عصاره‌گیری بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی بسیار مؤثر می‌باشد. در اکوتیپ‌های بررسی شده از دامنه ۷۸/۶۵ تا ۹۲/۵۸ درصد در روش DPPH و از ۱۱/۷۶ تا ۱۸/۸۸ (در میلی‌مول آهن) در روش FRAP به دست آمد. اکوتیپ گیلان دارای بیشترین محتوای فنولی در عصاره قطبی و اکوتیپ گلستان بیشترین محتوای فلاونوئیدی را در عصاره نیمه‌قطبی نشان داد. اکوتیپ سمنان بیشترین ترکیبات مونوترپن‌اکسیژن‌دار و بیشترین ترکیب در اسانس را در بین دیگر اکوتیپ‌ها دارا بود. اکوتیپ گلستان دارای بیشترین درصد اسانس در بین دیگر اکوتیپ‌ها بود. تنوع محتویات فنولی، ترکیبات اسانس و آنتی‌اکسیدانی مشاهده شده در سه اکوتیپ مورد مطالعه می‌تواند به علت عوامل مختلف اکولوژیکی، ژنتیکی، جغرافیایی و فاکتورهای تغذیه‌ای باشد.

واژه‌های کلیدی: افسنتین، DPPH، FRAP، عصاره قطبی، عصاره نیمه قطبی.

مقدمه

با در نظر گرفتن موقعیت جغرافیایی کشور ایران که از تنوع اقلیمی و شرایط اکولوژیکی منحصربه‌فردی برخوردار می‌باشد این امر منجر به تنوع و غنای گونه‌ای گیاهان روئیده در آن گردیده است. این موضوع پژوهشگران زیادی را می‌طلبد تا این گیاهان را شناسایی و به بررسی خصوصیات آن‌ها بپردازند. در این میان گیاهان دارویی از دیرباز از اهمیت خاصی برخوردار هستند. در بین ویژگی‌های گیاهان دارویی، مطالعه جنبه‌های بیوشیمیایی آن‌ها مورد توجه خاصی قرار گرفته است. از سوی دیگر با توجه به سند ملی گیاهان دارویی و طب سنتی که در سال ۱۳۹۲ تدوین گردید، در جهت ایجاد بانک اطلاعات گیاهان

دارویی و فراورده‌های گیاهی کشور و همچنین حمایت از گیاهان دارویی سایر اقلیم‌ها در جهت برنامه‌ریزی برای کشت گونه‌های دارای اهمیت اقتصادی تلاش نمایند (Rahemi and Poursakhi, 2020).

گونه‌های جنس *Artemisia* متعلق به تیره کاسنی^۱ از گیاهان با ارزش ایران می‌باشند که پراکندگی نسبتاً وسیعی در نقاط مختلف ایران دارند. این گیاهان که بومی یا اندمیک ایران هستند، در زبان فارسی درمنه نامیده می‌شوند. مرکز تنوع این گیاه آسیای مرکزی می‌باشد که شامل حدود ۱۵۰ گونه در چین، ۵۰ گونه در ژاپن و ۳۴ گونه در ایران است. در حالی که مناطق گونه‌زایی آن شمال غرب آمریکا، ایران-تورانی، پاکستان و منطقه مدیترانه است. درمنه به‌طور گسترده در نیمکره شمالی نسبت به نیمکره جنوبی توزیع بیشتر و بهتری داشته است و در اوراسیا بسیار غنی‌تر از آمریکای شمالی است (Taghavizadeh, 2020). گونه‌های این جنس به دلیل سازگاری با شرایط مناطق خشک و نیمه‌خشک، مقاومت در برابر سرما و خشک‌سالی محیط، شکل ویژه گیاهان نیمه‌خشک، تأمین علوفه برای دام و حیات‌وحش از اهمیت زیادی برخوردار است. برخی از گونه‌های این جنس از نظر اقتصادی با ارزش می‌باشند؛ در پزشکی، صنعت و به‌عنوان تثبیت‌کننده خاک استفاده می‌شوند (Bora and Sharma, 2011). این گیاه دارویی از نظر پراکنش جز شاخص‌ترین و با اهمیت‌ترین جنس‌های گیاهی در فلور ایران محسوب می‌شود. گونه‌های مختلف جنس درمنه در ایران از نقاط پست و نزدیک حاشیه دریای خزر گرفته تا ارتفاعات ۴۰۰۰ متری از سطح دریا گسترش یافته است (Bidgoli et al., 2013). گیاه افسنطین^۲ گیاهی چندساله، با ریشه‌های چوبی که شاخه‌های گل‌دار آن تا یک متر هم می‌رسد. ساقه گل‌دهنده به ارتفاع ۵۰ تا ۱۲۰ سانتیمتر، در بالا منشعب و اغلب پر شاخه می‌باشد. بسیار پربرگ و کرک‌دار بوده، کرک‌های خاکستری کوتاه و کرک‌های دوشاخه‌ای که اغلب از قاعده یک ساقه‌ای می‌باشد. پر گل با عرض ۳ تا ۴ میلی‌متر، اغلب تنک و بافاصله از یکدیگر یا گاهی نزدیک به هم می‌باشد. این گونه‌ها دارای یک نوع طعم یا بوی به خصوصی هستند که توسط مونوترپن‌ها و سزکوئی‌ترین‌ها ایجاد می‌شود که دلیل کاربرد آن‌ها در طب بومی می‌باشد. گونه‌های آرتیمیزیای عملکردهای ضدالتهابی، تب‌بر و خواص ضد باکتریایی، ضدویروسی، ضد مالاریایی، ضد قارچی و آنتی‌اکسیدانی دارند (Majdan et al., 2020). اغلب گونه‌های این گیاه برای درمان ورم معده استفاده می‌شوند. البته به‌صورت بخور هم جهت رفع زکام و تنگی نفس مفید می‌باشد. در کتاب قانون، درجایی از درمنه به نام جعده اسم برده شده است و به جعده کوچک و جعده بزرگ تقسیم شده است که برای ترمیم زخم، دفع کرم کدو، پادزهر نیش کژدم و پادزهر همه حشرات موذی بیان شده است و آن را برای یرقان (زردی) هم مؤثر دانسته‌اند. روغن درمنه، در بیماری‌های از جمله در درمان سفت شدن رحم استفاده می‌شد (Sheikh-o-Rais et al., 2004). برخی از گونه‌های *Artemisia* برای درمان فشارخون بالا، دیابت، ناراحتی‌های گوارشی، هپاتیت، زخم و چربی خون استفاده می‌شود. علیرغم موارد ذکر شده در بالا، عصاره‌های گیاهی در آسم، بیماری‌های پوستی، یبوست و همچنین هضم معده نیز استفاده می‌شود (Dabe and Kefale, 2017). در طی تحقیقاتی که روی ۲۴۰ گونه از تیره Asteraceae جهت مشخص نمودن خواص دارویی آن‌ها انجام پذیرفته است، حدود ۸۴ ترکیب دارویی در گونه‌های *Artemisia* تشخیص داده شده است. تعداد زیادی از گونه‌های *Artemisia* در کشور چین به‌عنوان دارو، غذا (گیاهان وحشی خوراکی)، علوفه، گیاهان معطر، گیاهان شهد دار و گیاهان تولیدکننده عطرمایه مورد استفاده قرار می‌گیرند (Zhang et al., 2017). در مطالعات فیتوشیمیایی افسنطین، حضور انواع ترکیبات گیاهی، شامل کربوهیدرات‌ها، آلکالوئیدها، ساپونین‌ها، فیتواسترول‌ها، پروتئین‌ها، آمینواسیدها، تانن، ترکیبات فنولیک، فلاونوئیدها گزارش گردیده است و مشاهده شده که این اجزاء شیمیایی برای فعالیت‌های دارویی مختلف مهم هستند (Ashok and Kumud, 2013).

کشور ایران دارای تنوع اکولوژیکی بسیار گسترده و غنی از گونه‌های گیاهی می‌باشد که متأسفانه مطالعات اندکی از نظر فیتوشیمیایی مخصوصاً در شرایط یکسان روی آن‌ها صورت پذیرفته است. طی سال‌ها، بیش از ۶۰۰ متابولیت ثانویه در *Artemisia* شناسایی شده است که برخی از مواد مؤثره درمنه شامل تانن، پینن، کامفور، آلکالوئید، سینئول و... می‌باشد. متابولیت‌های ثانویه این گیاه اساساً شامل مشتقات کافنیک اسید، فلاونوئیدها، کومارین‌ها، منوترپن‌ها، سزکوئی‌ترین‌ها، سزکوئی‌ترین لاکتون‌ها، استرول‌ها، پلی‌استیلن‌ها و آرتیمیزینین با خواص بیولوژیکی و دارویی از این جنس استخراج و شناسایی شده است (Singh and Sharma, 2020).

بسیاری از بیماری‌های مزمن در افراد که با افزایش سن در ارتباط هستند، به صورت مستقیم یا استرس یا تنش های اکسیداتیو درگیر بوده که این فرآیند ناشی از تولید بیش از اندازه رادیکال‌های آزاد یا ضعف سیستم دفاعی ارگانسیم موردنظر است. از جمله این بیماری‌ها می‌توان به تصلب شرایین، سکتة مغزی، بیماری‌های عصبی و بیماری التهابی مزمن اشاره نمود. فرآیند اکسیداسیون و تولید رادیکال‌های آزاد و ذرات فعال اکسیژن^۱ بخش حیاتی زندگی بوده که در واکنش‌های بیولوژیک مهمی شرکت دارند. رادیکال‌های آزاد و ROS ها تنها زمانی مفید هستند که در زمان، مکان و مقدار مناسبی تولید شوند، در غیر این صورت می‌توانند مضر باشند. تنش اکسیداتیو بدلیل تولید بیش از اندازه رادیکال‌های آزاد و ذرات فعال اکسیژن و ضعیف شدن سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی به علت تولید کم آنتی‌اکسیدان های اندوزن و یا افزایش استفاده از آن‌ها می‌باشد. ترکیبات فنولی موجود در گیاهان نظیر فلاونوئیدها و پروآنتوسیانیدین ها مسئول توان آنتی‌اکسیدانی هستند (Gulcin, 2020). محصولات گیاهی برای اهداف بهداشتی و درمانی غربالگری شده‌اند زیرا تعداد زیادی از مردم به‌طور آشکار و یا با استفاده سنتی از محصولات مختلف با منشأ گیاهی تمایل داشته‌اند. ترکیب شیمیایی این مواد بسته به شرایط محیطی از گونه‌ای به گونه دیگر متفاوت است (Zhang et al., 2017).

با توجه به دلایلی که ذکر گردید جمعیت‌های بومی گیاهان دارویی به‌ویژه جمعیت‌های وحشی از نظر ویژگی‌های مورفولوژیکی و نیز شیمیایی ناهمگن هستند؛ بنابراین در صورت بهره‌برداری و وارد کردن یک‌گونه دارویی به صنعت هر استراتژی که در نظر گرفته شود، از جمله بهره‌برداری از رویشگاه‌های طبیعی، اهلی کردن (درمورد جمعیت‌های وحشی) و یا اصلاح (انواع کشت‌شده)، نیازمند شناسایی ماهیت، ویژگی‌های شیمیایی، تاثیر پذیری از محیط و سایر خصوصیات گونه دارویی موردنظر می‌باشد تا گیاهانی بی‌خطر با میزان متابولیت مورد نیاز از نظر ترکیبات تولیدشده برای کشت انبوه به کشاورزان معرفی شوند. با توجه به ناهمگنی جمعیت‌های گیاهی و حضور انواع تیپ‌های مختلف شیمیایی، باید با بررسی تنوع موجود در طبیعت و تهیه نقشه‌های پراکنش تیپ‌های شیمیایی، رویشگاه‌های مختلف از نظر تیپ‌های شیمیایی مختلف بررسی شوند تا خصوصیت شیمیایی منطقه موردنظر مشخص گردد. همچنین در این مطالعه سعی می‌شود درک درستی از گونه‌ی مهم جنس *Artemisia* با توجه ویژه به پتانسیل‌های دارویی و فیتوشیمی آن ارائه شود.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه‌های گیاهی

جمع‌آوری گونه‌های موردنظر طبق جدول ۱، از ۳ اکوتیپ مختلف در زمان تکمیل فاز رویشی کامل قبل از گلدهی انجام گرفت و به روش سایه‌خشک در مجاورت جریان هوا در اتاق خشک گردیدند.

جدول ۱- مشخصات رویشگاه‌های نمونه‌های گیاهی.

Table 1. Characteristics of plant sample habitats.

عرض جغرافیایی Latitude	طول جغرافیایی Longitude	ارتفاع از سطح دریا Altitude above sea level	رویشگاه Habitat	نام گونه Species name	کد Code
۵۴°۳۶'۲۲.۲"	۵۴°۴۹'۴۶.۶"	۱۶۰۶	گیلان / Guilan	<i>Artemisia absinthium</i> L.	۱
۱۷°۳۷'۵۰.۴"	۱۸°۵۵'۴۴.۸"	۶۸	گلستان Golestan	<i>Artemisia absinthium</i> L.	۲
۵۹°۳۵'۰۰.۲"	۰۱°۵۳'۵۱.۷"	۹۰۲	سمنان / Semnan	<i>Artemisia absinthium</i> L.	۳

تهیه عصاره های گیاهی

جهت اندازه‌گیری‌های فیتوشیمیایی، خواص دارویی از جمله فعالیت آنتی‌اکسیدانی (با دو روش DPPH و FRAP) از عصاره‌های قطبی (اتانول) و نیمه قطبی (اتیل استات) استفاده گردید. جهت تهیه عصاره های قطبی و غیرقطبی از برگ های خشک گیاه افسنتین به میزان ۱ گرم پس از توزین، توسط روش ماسراسیون یا خیساندن در مدت زمان ۲۴ ساعت در دمای

اتاق و روی شیکر با سرعت ۲۵۰ دور در دقیقه عصاره گیری انجام شد. عصاره های به دست آمده خشک شده و در شیشه استریل جمع آوری شد و در یخچال در دمای ۴ درجه سلسیوس تا زمان استفاده نگهداری شد.

تعیین میزان آنتی اکسیدان به روش DPPH

برای سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی از ۵۰ میکرولیتر از نمونه با غلظت های مختلف (۰/۲۵ تا ۲ میلی گرم بر میلی لیتر) با ۳۵۰ میکرولیتر محلول DPPH (یک میلی مولار) حل گردید و سپس با متانول ۱۰۰ درصد به حجم ۲ میلی لیتر رسانده شد. بعد از نگهداری به مدت بیست دقیقه در تاریکی و دمای اتاق، میزان جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر سنجش گردید و میزان فعالیت آنتی اکسیدانی با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$100 * (\text{جذب نمونه کنترل منفی} - \text{جذب نمونه})$$

جذب نمونه کنترل منفی

تعیین میزان آنتی اکسیدان به روش احیای آهن FRAP

برای سنجش فعالیت احیایی عصاره از روش سنجش FRAP^۱ استفاده شد. این روش بر اساس افزایش جذب در طول موج ۵۹۳ نانومتر می باشد که در حضور مواد احیا کننده نمونه آزمایشی، کمپلکس آبی رنگ آهن دو ظرفیتی تری پیکریدیل تریازین از آهن سه ظرفیتی بی رنگ به وجود می آید. محلول FRAP به صورت تازه و از مخلوط کردن به ترتیب بافر استات (۳۰۰ میلی مولار با پی اچ ۳/۶)، محلول TPTZ (10 میلی مولار محلول TPTZ در ۴۰ میلی مولار محلول HCl)، محلول کلرید آهن ۲۰ میلی مولار (FeCl₃.6H₂O) به نسبت ۱۰:۱۰:۱۰۰ به دست آمد. سپس ۲۰۰ میکرولیتر از نمونه آزمایشی با ۱۸۰۰ میکرولیتر محلول FRAP مخلوط شد و بعد از ۳۰ دقیقه نگهداری در تاریکی و دمای اتاق، میزان جذب نمونه قرائت شد. منحنی کالیبراسیون توسط محلول استاندارد FeSO₄.7H₂O (غلظت ۱-۲۰ میکرومولار) به دست آمد. نتایج بر حسب میکرومول آهن (دو ظرفیتی) در گرم وزن خشک ($\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g DW}$) بیان گردید. همه اندازه گیری ها FRAP و DPPH روش های در سه تکرار انجام گرفته و میانگین آن ها ثبت گردید.

تعیین مقدار فنول کل

محتوای ترکیبات فنولی در عصاره متانولی با استفاده از معرف Folin-Ciocalteu با اندکی تغییرات نسبت به منبع اندازه گیری شد، در صورتی که هر نمونه جذبی بالاتر از جذب آخرین غلظت استاندارد داشت به نسبت مساوی رقیق گردید و اندازه گیری شد تا در رنج استاندارد قرار گرفت. ۲۰ میکرولیتر نمونه، استاندارد گالیک اسید، یا بلانک (آب مقطر یا دیونیزه) را در ۲ cuvette میلی لیتری ریخته و به دنبال آن ۱/۵۸ میلی لیتر آب اضافه و به دنبال آن ۱۰۰ میکرولیتر فولین سیلیکاتو (FC) ریخته و آن ها را مخلوط کرده (با به هم زدن swirl to mix) و به مدت ۱ تا ۸ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شد. بعد از ۵ دقیقه ۳۰۰ میکرولیتر محلول کربنات سدیم ۲۰ درصد اضافه شد. حجم نهایی در اینجا ۲ میلی لیتر می باشد. جذب نمونه ها در طول موج ۷۶۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفوتومتر (Unico, UV-2100, UK) قرائت شد. محتوای ترکیبات فنولی معادل میلی گرم اسیدگالیک در ۱۰۰ گرم ماده خشک (DW) محاسبه گردد. منحنی کالیبراسیون با استفاده از اسید گالیک تهیه گردید.

تعیین مقدار ترکیبات فلاونوئیدی

محتوای فلاونوئید کل به روش کلرومتری با اندکی تغییرات به شرح زیر اندازه گیری شد. ۱۰۰ میکرولیتر عصاره متانولی، ۱۰۰ میکرولیتر آب اضافه مقطر، ۶۰۰ میکرولیتر متانول ۹۵ درصد، ۴۰ میکرولیتر AICl₃ ۱۰٪، ۴۰ میکرولیتر استات پتاسیم ۱ مولار و در آخر ۱۱۲۰ میکرولیتر آب مقطر اضافه و شدت شیک گردید. بعد از ۴۰ دقیقه جذب نمونه ها در طول موج ۴۱۵ نانومتر همراه با بلانک قرائت شد. نتایج معادل میلی گرم کورستین (QE) در ۱۰۰ گرم DW بر اساس منحنی استاندارد تهیه شده با کاتچین محاسبه گردید، منحنی کالیبراسیون با استفاده از کورستین تهیه گردید.

استخراج و اندازه‌گیری اسانس

مقدار ۴۰ گرم از هر نمونه‌ی گیاهی خرد و وزن شده و همراه با ۳۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر داخل بالون ۱ لیتری ریخته شد. سپس بالون به کلونجر وصل شده و به مدت ۳ ساعت روی هیتر طبق فرماکوپه بریتانیا قرار گرفت. بعد از گذشت این زمان هیتر خاموش شد و پس از گذشت ۳۰ دقیقه اسانس که به علت کمتر بودن چگالی آن از آب، روی سطح آب قرار گرفته بود؛ با سرنگ جمع‌آوری و توسط سولفات سدیم بدون آب، آبیگری شدند. پس از آماده‌سازی اسانس و تزریق آن به دستگاه کوپل شده کروماتوگرافی گازی با طیف سنج جرمی^۱ ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس مورد شناسایی کمی و کیفی قرار گرفتند. آنالیز GC-MS روی یک سیستم GC-MS (Agilent, 19091S-443, USA) مجهز به ستون HP-5MS (30 m × 0.25 mm) و ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ (μm) انجام شد.

نتایج

نتایج حاصل از بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی این گیاه با استفاده از روش FRAP و DPPH توسط عصاره قطبی و نیمه قطبی در جدول شماره ۲ و ۳ آورده شده است

جدول ۲- مقایسه میانگین و انحراف معیار فعالیت آنتی‌اکسیدانی DPPH عصاره‌های اتانولی و اتیل استاتی.

Table 2. Comparison of mean and standard deviation of DPPH antioxidant activity in ethanol and ethyl acetate extracts.

(Cod) ^B	Antioxidant activity against DPPH radical (Mean ± SD ^A) (%)							
	Eth ^C				EA ^D			
	1	2	3	Total	1	2	3	Total
	86.36 ± 2.51	89.13 ± 0.38	78.65 ± 2.56*	84.71 ± 1.82	92.58 ± 2.71**	81.71 ± 1.57	83.20 ± 2.19	85.83 ± 2.16

^A Standard Deviation. ^B Province Code. ^C Ethanol. ^D Ethyl Acetate

* Minimum ** Maximum

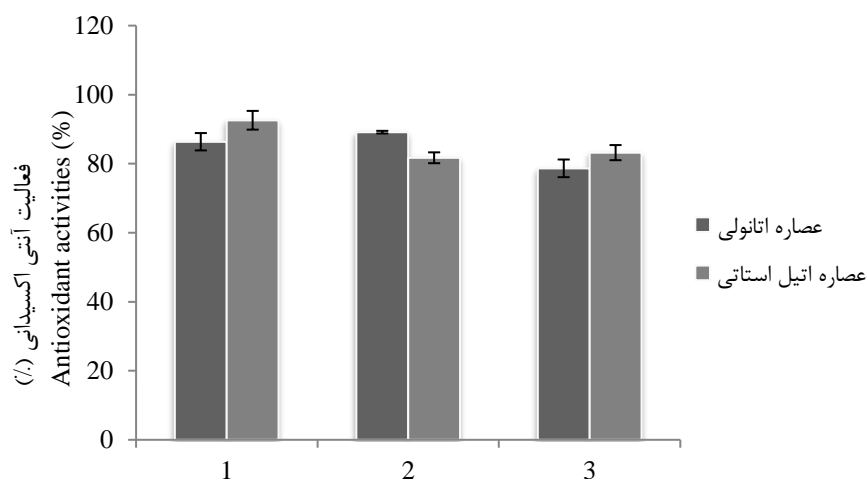
جدول ۳- مقایسه میانگین و انحراف معیار فعالیت آنتی‌اکسیدانی FARP عصاره‌های اتانولی و اتیل استاتی.

Table 3. Comparison of mean and standard deviation of antioxidant activity of FARP ethanol and ethyl acetate extracts.

(Code) ^B	فعالیت آنتی‌اکسیدانی در برابر رادیکال FARP (میانگین ± انحراف استاندارد)							
	Antioxidant activity against FARP radical (Mean ± SD ^A) (μmol Fe ²⁺ /g DW)							
	Eth ^C عصاره اتانولی				EA ^D عصاره اتیل استاتی			
	1	2	3	Total	1	2	3	Total
	15.15 ± 0.64	12.06 ± 0.57	11.76 ± 0.71*	12.99 ± 0.64	16.68 ± 0.45	18.88 ± 0.84**	14.64 ± 0.54	16.73 ± 0.61

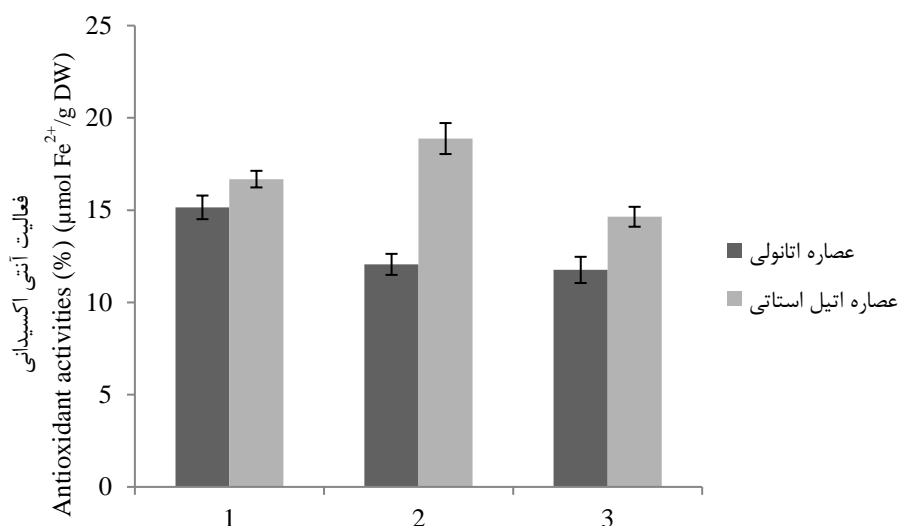
^A Standard Deviation. ^B Province Code. ^C Ethanol. ^D Ethyl Acetate

* Minimum ** Maximum



شکل ۱- ارزیابی پتانسیل آنتی اکسیدانی عصاره قطبی و نیمه قطبی ۳ اکوتیپ گونه افسنطین با روش DPPH - نمونه ۱ جمع آوری شده از منطقه گیلان، نمونه ۲ جمع آوری شده از منطقه گلستان و نمونه ۳ جمع آوری شده از منطقه سمنان.

Fig. 1. Evaluation of the antioxidant potential of polar and semi-polar extracts from three ecotypes of *A. absinthium* species using the DPPH method. Sample 1 was collected from Guilan, sample 2 was collected from Golestan, and sample 3 was collected from Semnan.



شکل ۲- ارزیابی پتانسیل آنتی اکسیدانی عصاره قطبی و نیمه قطبی ۳ اکوتیپ گونه افسنطین با روش FRAP - نمونه ۱ جمع آوری شده از منطقه گیلان، نمونه ۲ جمع آوری شده از منطقه گلستان و نمونه ۳ جمع آوری شده از منطقه سمنان.

Fig. 2. Evaluation of antioxidant potential of polar and semi-polar extracts of three ecotypes of *A. absinthium* species using FRAP method. Sample 1 was collected from Guilan region, sample 2 was collected from Golestan region, and sample 3 was collected from Semnan region.

با توجه به شکل ۱ در روش DPPH عصاره گیری توسط اتیل استات، اکوتیپ گیلان با $92/58 \pm 2/71$ درصد دارای بیشترین درصد بازدارندگی را دارد. اکوتیپ سمنان با $83/20 \pm 2/19$ درصد و اکوتیپ گلستان با $81/71 \pm 1/57$ درصد بازدارندگی داشتند که در مقابل در عصاره گیری توسط اتانول، اکوتیپ گلستان با $89/13 \pm 0/38$ درصد، اکوتیپ گیلان با $86/36 \pm 2/51$ درصد و اکوتیپ سمنان با $78/65 \pm 2/56$ درصد به ترتیب دارای بیشترین و کمترین مقدار درصد بازدارندگی بودند. در روش FRAP با توجه به شکل ۲ عصاره گیری توسط اتیل استات به ترتیب، اکوتیپ گلستان با $118/88 \pm 0/84$ ($\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g DW}$)، اکوتیپ گیلان $16/68 \pm 0/45$ ($\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g DW}$) و اکوتیپ سمنان $14/64 \pm 0/54$ ($\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g DW}$) در مقایسه با

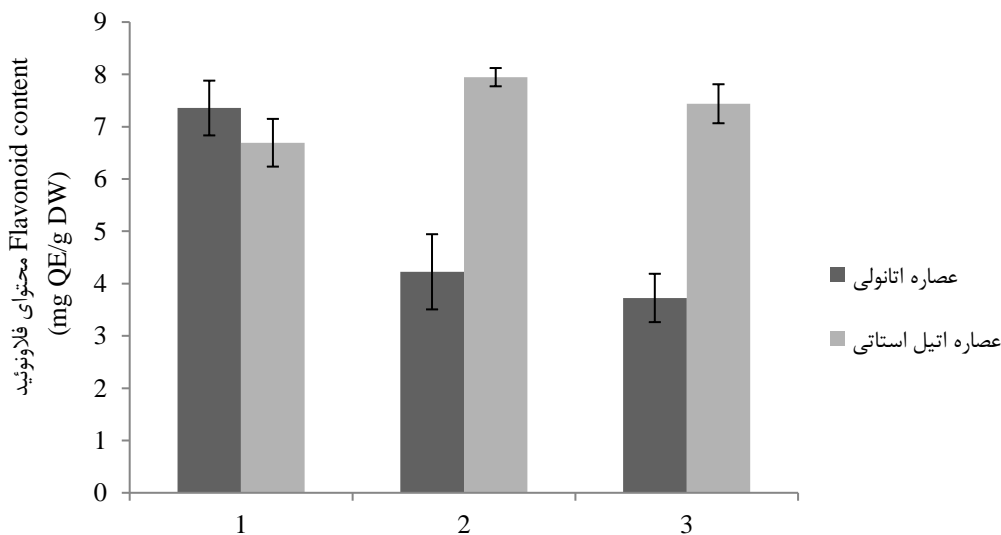
عصاره گیری توسط اتانول، اکوتیپ گیلان با $15/15 \pm 0/64$ ($\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g DW}$)، اکوتیپ گلستان $12/06 \pm 0/57$ ($\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g DW}$) و اکوتیپ سمنان با $11/76 \pm 0/71$ ($\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g DW}$) فعالیت آنتی اکسیدانی بالاتری را نشان می دهند. طبق نتایج حاصل از بررسی فنول و فلاونوئید اکوتیپ های افسنطین توسط عصاره قطبی و نیمه قطبی در جدول شماره ۴ به شرح زیر می باشد.

جدول ۴- مقایسه میانگین و انحراف معیار فنول و فلاونوئید عصاره های اتانولی و اتیل استاتی اکوتیپ های افسنطین مورد بررسی.

Table 4. Comparison of mean and standard deviation of phenolic and flavonoid content in ethanol and ethyl acetate extracts of examined *A. absinthium* species.

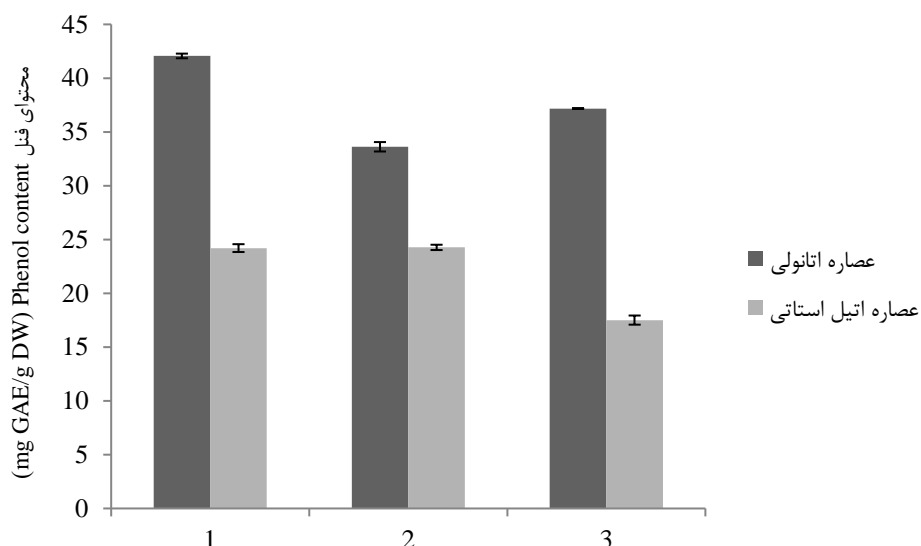
تنوع فلاونوئید و فنول (میانگین \pm انحراف معیار)								
Variation in Flavonoid & Phenolic (Mean \pm SD ^A)								
فلاونوئید /Flavonoid (mg QE/g DW)								
(Code) ^B	عصاره اتانولی /Eth ^C				عصاره اتیل استاتی /EA ^D			
	1	2	3	Total	1	2	3	Total
	7.36 \pm	4.23 \pm	3.73 \pm	5.10 \pm	6.69 \pm	7.95 \pm	7.44 \pm	7.36 \pm 0.33
	0.52	0.72	0.46*	0.57	0.46	0.17**	0.37	
فنول /Phenolic (mg GAE/g DW)								
(Code) ^B	عصاره اتانولی /Eth ^C				عصاره اتیل استاتی /EA ^D			
	1	2	3	Total	1	2	3	Total
	42.07 \pm	33.62 \pm	18	37.62	24.20 \pm	24.27	17.51 \pm	21.99 \pm 0.35
	0.22**	0.44	\pm 0.	\pm 0.23	0.36	\pm 0.25	0.42*	

^A Standard Deviation. ^B Province Code. ^C Ethanol ^D Ethyl Acetate
* Minimum ** Maximum



شکل ۳- ارزیابی محتوای فلاونوئیدی عصاره قطبی و نیمه قطبی ۳ اکوتیپ گونه افسنطین - نمونه ۱ جمع آوری شده از منطقه گیلان، نمونه ۲ جمع آوری شده از منطقه گلستان و نمونه ۳ جمع آوری شده از منطقه سمنان.

Fig. 3. Evaluation of flavonoid content in polar and semi-polar extracts of three ecotypes of *A. absinthium* species - Sample 1 collected from Guilan region, Sample 2 collected from Golestan region, and Sample 3 collected from Semnan region.



شکل ۴- ارزیابی محتوای فنول عصاره قطبی و نیمه قطبی ۳ اکوتیپ گونه افسنتین - نمونه ۱ جمع‌آوری شده از منطقه گیلان، نمونه ۲ جمع‌آوری شده از منطقه گلستان و نمونه ۳ جمع‌آوری شده از منطقه سمنان.

Fig. 4. Evaluation of phenolic content in polar and semi-polar extracts of three ecotypes of *A. absinthium* species - Sample 1 collected from Guilan region, Sample 2 collected from Golestan region, and Sample 3 collected from Semnan region.

با توجه به شکل ۳ در عصاره گیری توسط اتیل استات، اکوتیپ گلستان با $7/94 \pm 0/17$ میلی‌گرم معادل کوئرستین بر گرم وزن خشک بیشترین مقدار محتوی فلاونوئیدی را دارد. اکوتیپ سمنان با $7/43 \pm 0/37$ میلی‌گرم معادل کوئرستین بر گرم وزن خشک و اکوتیپ گیلان با $6/69 \pm 0/45$ میلی‌گرم معادل کوئرستین بر گرم وزن خشک به ترتیب قابل مشاهده بود، که در مقابل در عصاره گیری توسط اتانول، اکوتیپ گیلان با $7/35 \pm 0/52$ میلی‌گرم معادل کوئرستین بر گرم وزن خشک، اکوتیپ گلستان با $4/22 \pm 0/71$ میلی‌گرم معادل کوئرستین بر گرم وزن خشک و اکوتیپ سمنان با $3/72 \pm 0/46$ میلی‌گرم معادل کوئرستین بر گرم وزن خشک به ترتیب دارای بیشترین و کمترین مقدار محتوی فلاونوئید بودند.

در ارزیابی فنول کل با توجه به شکل ۴ عصاره‌گیری توسط اتانول، اکوتیپ گیلان با $42/06 \pm 0/21$ میلی‌گرم معادل اسید گالیک بر گرم وزن خشک، اکوتیپ سمنان با $37/17 \pm 0/03$ و اکوتیپ گلستان با $33/62 \pm 0/43$ میلی‌گرم معادل اسید گالیک بر گرم وزن خشک، در مقایسه با عصاره‌گیری توسط اتیل استات به ترتیب، اکوتیپ گلستان با $24/27 \pm 0/24$ میلی‌گرم معادل اسید گالیک بر گرم وزن خشک، اکوتیپ گیلان با $24/20 \pm 0/36$ و اکوتیپ سمنان با $17/51 \pm 0/42$ میلی‌گرم معادل اسید گالیک بر گرم وزن خشک عملکرد بهتری را نشان می‌دهند.

در کل عصاره اتیل استاتی اکوتیپ گلستان با $7/94 \pm 0/17$ میلی‌گرم معادل کوئرستین بر گرم وزن خشک بیشترین مقدار محتوی فلاونوئیدی و عصاره اتیل استاتی در سنجش فلاونوئید بهترین عملکرد را داشت. از سوی دیگر عصاره اتانولی اکوتیپ گیلان با $42/06 \pm 0/21$ میلی‌گرم معادل اسید گالیک بر گرم وزن خشک دارای بیشترین مقدار فنول کل و در مجموع عصاره اتانولی بهترین عملکرد را در سنجش فنول کل داشت.

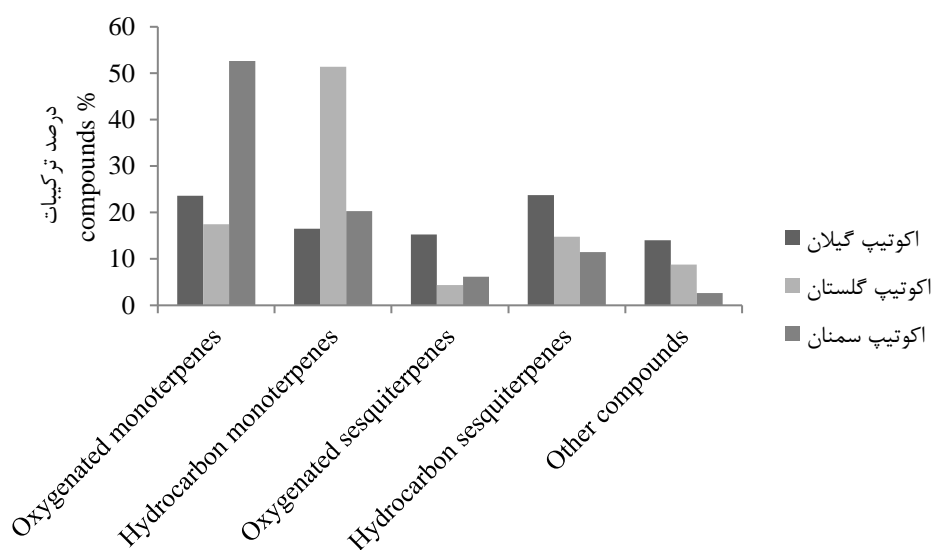
جدول ۵- ترکیب‌های موجود در اسانس ۳ اکوتیپ افسنتین و درصد آن‌ها.

Table 5. Compositions of the essential oils of three ecotypes of *A. absinthium* and their percentages (Houshmand et al., 2023).

N	Compound	RT	RI Exp	RI Lit	اکوتیپ گیلان	اکوتیپ گلستان	اکوتیپ سمنان
1	Santolina triene	3.951	905	906	-	-	0.11
2	α -Pinene	4.383	930	932	-	2.88	0.87
3	Camphene	4.418	944	946	2.93	-	3.31
4	Sabinen	5.105	962	969	3.97	15.75	9.49
5	β -pinene	5.111	971	974	-	-	0.84
6	β -myrcene	5.371	987	988	0.74	-	-
7	Mesitylene	5.459	995	994	-	-	0.22
8	n-Decane	5.504	1001	1000	7.97	11.46	1.17
9	α -Fellandrene	5.593	1005	1003	-	4.01	1.27
10	o-Cymene	5.970	1020	1022	-	11.43	-
11	1,8-cineole	6.126	1024	1026	1.97	-	4.91
12	γ -Terpinene	6.241	1054	1054	-	-	1.13
13	Terpinolene	6.303	1085	1086	-	0.49	1.15
14	Linalool	6.322	1087	1088	1.48	0.70	0.25
15	p-Cymenene	6.715	1090	1089	0.86	5.37	0.97
16	α -thujone	7.124	1100	1101	2.90	10.30	29.43
17	Hotrienol	7.380	1103	1104	1.92	-	-
18	β -thujone	7.413	1111	1112	-	1.37	2.57
19	Camphor	7.501	1143	1141	6.94	4.38	6.98
20	Neo-isopulegol	7.690	1144	1144	0.93	-	-
21	Borneol	8.311	1166	1165	1.19	-	2.73
22	Rosefuran epoxide	8.526	1172	1173	-	-	0.54
23	Terpinen-4-ol	8.689	1176	1174	2.46	0.75	1.92
24	α -Terpineol	8.707	1186	1186	-	-	0.45
25	n-Dodecane	8.989	1201	1200	4.38	5.75	-
26	Endo- α -fenchyl acetate	10.275	1217	1218	0.90	-	-
27	Neral	10.364	1236	1235	-	-	0.27
28	Cumin aldehyde	10.509	1238	1238	-	-	0.23
29	Carvotanacetone	10.698	1244	1244	-	-	0.44
30	Geraniol	10.787	1248	1249	-	-	0.92
31	Perilla aldehyde	10.808	1269	1269	-	-	0.27
32	Thymol	11.274	1288	1289	0.65	-	-
33	Carvacrol, ethyl ether	11.430	1298	1298	-	-	0.37
34	Trans-dihydro- α -Terpinyl acetate	11.500	1301	1300	-	-	1.11
35	α -Terpinyl acetate	11.852	1347	1346	2.20	-	-
36	α -Copaene	12.128	1375	1374	-	0.71	-
37	β -Patchoulene	12.548	1377	1379	-	-	0.6
38	β -Cubebene	13.125	1390	1387	-	-	2.24
39	β -Bourbonene	12.906	1389	1387	-	-	0.19
40	(Z)-Jasmone	13.383	1390	1392	2.12	-	0.55
41	n-Tetradecane	13.528	1399	1400	1.52	2.28	0.34
42	α -cedrene	13.716	1411	1410	-	0.34	0.21
43	(E)-Caryophyllene	13.960	1416	1417	0.68	0.96	1.43
44	β -Copaene	14.039	1418	1419	1.16	-	0.47
45	β -Cedrene	14.237	1419	1419	-	0.59	-
46	Aromadendrene	14.407	1437	1439	0.94	-	2.33
47	(Z)- β -Farnesene	14.560	1411	1440	0.72	-	0.60
48	Ar-Curcumene	14.646	1479	1479	-	-	0.11
49	Germacrene D	14.814	1485	1480	6.54	2.28	-
50	β -Selinene	14.936	1488	1489	-	2.04	-

51	Viridiflorene	15.287	1496	1496	-	-	0.62
52	α -Farnesene	15.589	1504	1505	0.38	0.47	0.30
53	CIS- α -bisabolene	15.790	1506	1506	-	-	0.39
54	δ -Cadinene	15.924	1527	1522	13.31	2.34	1.99
55	(Z)- Nerolidol	16.245	1534	1531	3.18	-	0.36
56	α -Calacorene	16.547	1540	1544	-	4.18	-
57	Spathulenol	16.956	1575	1577	3.02	0.89	1.32
58	Caryophyllene oxide	17.078	1585	1582	1.76	2.08	1.19
59	Thujopsan-2- α -ol	17.454	1588	1586	-	1.41	-
60	n-Hexadecane	17.589	1600	1600	-	0.72	-
61	α - Corocalene	17.766	1622	1622	-	0.85	-
62	Eremoligenol	17.922	1630	1629	-	-	1.26
63	allo-aromadendrene epoxide	18.051	1638	1639	6.93	-	0.56
64	epi- α -Muurolol	18.465	1643	1640	3.58	-	1.83
65	Chamazulene	19.896	1730	1730	-	-	0.43
66	(2Z,6E)- Farnesyl acetate	20.801	1821	1821	0.34	-	-
67	oleic acid	26.011	2142	2141	2.57	-	-
	Oxygenated monoterpenes				23.62	17.5	52.64
	Hydrocarbon monoterpenes				16.47	51.39	20.31
	Oxygenated sesquiterpenes				15.29	4.38	6.16
	Hydrocarbon sesquiterpenes				23.73	14.76	11.48
	Other compounds				14.03	8.75	2.65
	total				93.14	96.78	93.24

RT = retention time; RI = retention index; Exp.=experimental and Lit.=Literature.



شکل ۵- ارزیابی درصد ترکیبات اسانس ۳ اکوتیپ گونه افسنتین.

Fig. 5. Evaluation of the percentage of essential oil compounds in three ecotypes of *A. absinthium*.

بررسی ترکیب‌های مختلف اسانس اکوتیپ‌های افسنتین نشان داد (شکل ۵) که بین اجزای تشکیل دهنده اسانس و میزان آن‌ها تفاوت وجود دارد. در کل اکوتیپ سمنان با ۵۰ ترکیب دارای بیشترین ترکیب به دست آمده و به ترتیب اکوتیپ گیلان با ۳۴ ترکیب و اکوتیپ گلستان با ۲۸ ترکیب کمترین میزان ترکیب به دست آمده از اسانس را نشان دادند. در مجموع فقط ۱۳ ترکیب مشترک با هم داشتند به ترتیب اکوتیپ گلستان با ۱/۶۲ درصد اسانس در گیاه خشک، اکوتیپ سمنان با ۱/۵۴ درصد

اسانس در گیاه خشک و اکوتیپ گیلان با ۰/۵۸ درصد اسانس در گیاه خشک بیشترین و کمترین درصد اسانس را در ماده خشک گیاهی به خود اختصاص دادند.

از مجموع ترکیبات اسانس در اکوتیپ گیلان ۲۳/۷۳ درصد هیدروکربن‌های سسکوترپنی، در اکوتیپ گلستان ۵۱/۳۹ درصد هیدروکربن‌های مونوترپن و در اکوتیپ سمنان ۵۲/۶۴ درصد مونوترپن‌های اکسیژن‌دار بیشترین ترکیبات را به خود اختصاص داده‌اند.

بحث

در مجموع در روش FRAP بهترین بازدارندگی متعلق به عصاره اتیل استاتی می‌باشد. اما در مجموع در تست DPPH اختلاف زیادی از جهت تفاوت عصاره‌ها مشاهده نشد. نتایج به‌دست آمده ممکن است با توجه به اختلاف ارتفاع از سطح دریا و دما باشد. از سوی دیگر به‌منظور تأثیر بر تجمع این متابولیت‌ها، نور یک عامل ضروری است. می‌توان ترکیب‌های مختلفی از شدت نور و کیفیت نور را عاملی بر این اختلاف پتانسیل آنتی‌اکسیدانی در نظر گرفت (Bahrami et al., 2015). طبق گزارش‌ها (Thoma et al., 2020) اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های اتانولی و متانولی با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نداشته ولی به صورت معنی‌دار برتر از عصاره هگزانی بودند و از نظر آماری اختلاف معنی‌داری در قدرت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های قطبی و نیمه قطبی وجود دارد.

با در نظر گرفتن این مورد که نوع حلال مورد استفاده در عصاره‌گیری بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی بسیار مؤثر می‌باشد، به‌طوری‌که در بسیاری پژوهش‌های صورت گرفته ظرفیت احیاکنندگی عصاره‌های قطبی و نیمه قطبی بیشتر از عصاره‌های غیرقطبی گزارش شده است (Asgari-kafrani et al., 2021). نتایج این پژوهش همانند نتایج پژوهشی درباره ظرفیت پاک‌سازی رادیکال آزاد در دو گونه بررسی شده، عصاره‌های قطبی (متانولی) و نیمه قطبی (اتیل استاتی) نسبت به عصاره غیر قطبی (هگزانی) فعالیت احیاکنندگی بالاتری را نشان دادند. علت فعالیت بالای عصاره‌های قطبی و نیمه قطبی را می‌توان به دلیل توانایی استخراج ترکیبات فعال فنولی، فلاونوئیدی، کارتونوئیدها و بسیاری از ترکیبات فعال دیگر توسط این حلال‌ها دانست (Suzuki et al., 2002). به همین دلیل نتایج عصاره‌های اتانولی و اتیل استاتی تفاوت زیادی با هم ندارند. عوامل مختلفی از جمله قطبیت حلال بر بازده استخراج عصاره اثر می‌گذارند از سوی دیگر باید خصوصیات حلال را نیز در نظر داشت. مثلاً حلالیت ترکیبات قندی در الکل‌هایی چون متانول کم است. با توجه به اینکه روش DPPH یک روش آبی است، بنابراین عصاره‌های قطبی تر اثر بیش تری از خود نشان می‌دهند.

البته در برخی مطالعات انجام‌شده عصاره‌های غیر قطبی فعالیت بالاتری را نسبت به عصاره‌های قطبی و نیمه قطبی نشان داده‌اند. به‌عنوان مثال Lim و همکاران (2002) فعالیت احیاکنندگی FRAP عصاره غیر قطبی دیکلرومتان گونه *Siliquastrum* را قوی‌تر از عصاره متانولی آن گزارش داده‌اند، که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد. بنابراین می‌توان گفت با توجه به اینکه بر اساس نوع گونه گیاهی میزان ترکیبات استخراج‌شده توسط حلال‌های عصاره‌گیری شده متفاوت می‌باشد، پس تفاوت اثر آنتی‌اکسیدانی یک حلال از گونه‌های مختلف به دلیل تفاوت در ترکیبات استخراج‌شده توسط آن حلال می‌باشد (Amirmohammadi, 2020). به‌طور کلی فعالیت مهار آنزیم آلفا آمیلازی و آنتی‌اکسیدانی علاوه بر نوع گونه گیاهی به نوع حلال و روش سنجش فعالیت آن‌ها، نیز بستگی دارد. اما در پژوهشی که اخیراً پژوهشگران گزارش داده‌اند، در گونه *A. lactiflora* میزان فعالیت مهار آنتی‌اکسیدانی در عصاره قطبی بیشتر از عصاره نیمه قطبی (اتیل استات) گزارش گردیده است. این پژوهشگران بیان کردند که استخراج توسط عصاره قطبی می‌تواند فیتوکمیکال‌هایی را با بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی در میان سایر سیستم‌های حلال به دست آورد. البته این مورد به روش تست آنتی‌اکسیدانی نیز مرتبط می‌باشد. علاوه بر این، باید توجه داشت که فعالیت آنتی‌اکسیدانی ممکن است به ساختار شیمیایی ترکیبات فنولی و همچنین اثر هم افزایی یا آنتاگونیستی ترکیبات موجود در عصاره گیاه مربوط باشد (Kooltheat et al., 2021).

یافته‌های این پژوهش می‌تواند با نتایج پژوهشگران دیگری (Yavari and Shahgolzari, 2016) که بیان کردند میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی گیاهان دارویی در مناطق مختلف تحت تأثیر فاکتورهای محیطی از قبیل اختلافات آب و هوایی و جغرافیایی مانند ارتفاع قرار دارد، دلایل مشترک داشته باشد. ارتفاع از سطح دریا، که نقش اساسی در رشد و تولید

متابولیت‌های ثانویه گیاهان در اکوسیستم‌ها و رویشگاه‌های طبیعی مختلف ایفا می‌نماید با توجه به موقعیت اکوتیپ‌ها، اکوتیپ گیلان با ارتفاع ۱۶۰۶ متر از سطح دریا و شرایط آب و هوایی در اکثر اندازه گیری‌ها بیشترین عملکرد را داشت، بنابراین ارتفاع از جمله عوامل مهم و تعیین کننده در کمیت و کیفیت گیاهان محسوب می‌شود.

در پژوهشی با توجه به محتوای کل ترکیبات فنولی افسنطین، با استفاده از معرف Folin-Ciocalteu محتوای آن بر اساس وزن خشک ۸/۸۶ میلی‌گرم معادل اسید گالیک بر گرم مشاهده گردید (Sengul *et al.*, 2008). در پژوهشی بیشترین محتوای فنولی عصاره قطبی (۱۳۴/۴۷ میلی‌گرم معادل اسید گالیک ۱۰۰ گرم ماده خشک) و بیشترین محتوای فلاونوئید عصاره اتیل استات (۸۷/۰۴ میلی‌گرم کوئرستین معادل ۱۰۰ گرم ماده خشک) در درمنه گزارش گردید (Lee *et al.*, 2013) که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد. بنابراین کاملاً مشهود است که شرایط محیطی بر میزان متابولیت‌های درمنه کاملاً تاثیر می‌گذارد، که با نتایج پژوهش Raudone و Kruzinauskaitė (2021) همخوانی دارد.

از طرفی نتایج این پژوهش نشان داد که بین ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی با فعالیت آنتی‌اکسیدانی ارتباط وجود دارد که با نتایج دیگر محققین (Rezaei *et al.*, 2019; Fang *et al.*, 2009) مطابقت دارد. این نتایج بیانگر این امر است که با افزایش میزان فنول و فلاونوئید فعالیت آنتی‌اکسیدانی نیز در گیاه افزایش می‌یابد. در پژوهشی میزان فلاونوئید و مخصوصاً فنول در گونه *A. lactiflora* در عصاره‌های قطبی بیشتر از غیر قطبی به دست آمد (Kooltheat *et al.*, 2021) که در سنجش فنول با نتایج این پژوهش همخوانی دارد.

با توجه به اینکه اکوتیپ سمنان دارای بیشترین درصد مونوترپن‌های اکسیژن دار می‌باشد که این ترکیبات از جمله ترکیبات ارزشمند گیاهی و ایجاد کننده عطر، طعم و رایحه غلیظ در اسانس می‌باشند، از سوی دیگر دارای بیشترین درصد اسانس در بین اکوتیپ‌های مورد مطالعه را دارد. نعمت الهی و همکاران (Nematollahi *et al.*, 2006)، گزارش کردند اسانس افسنطین از اسکاتلند درصد مونوترپن‌های اکسیژنه ۲۵ درصد، مونوترپن‌های هیدروکربنه ۶۵ درصد، سزکویی ترپن هیدروکربنه ۴ درصد، سزکوییترین اکسیژنه ۶ درصد بودند. ترکیبات اسانس‌ها تحت تأثیر عوامل آب و هوایی، جغرافیایی و فصلی و وارثه گیاه تغییر می‌کند.

به دست آوردن گیاهانی که از نظر اجزای اسانس غنی باشند، در صنعت و تولید مواد آرایشی و دارویی بسیار حائز اهمیت می‌باشد. این اختلاف در درصد تشکیل مواد مؤثره اسانس‌ها در نقاط مختلف می‌تواند بدلیل تفاوت‌های اقلیمی از جمله میزان رطوبت و میزان تابش نور در اکوسیستم‌های مختلف باشد زیرا عوامل محیطی می‌توانند باعث کاهش یا افزایش میزان تنفس و فتوسنتز در گیاهان شوند بنابراین تغییر در نوع و میزان ترکیبات ثانویه تفاوت‌های قابل توجهی را ایجاد می‌نمایند.

نتیجه گیری

نتایج بررسی حاضر به طور شفاف بیان می‌کند که گونه افسنطین در اکوتیپ‌های مختلف غنی از ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی و دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی خوبی می‌باشد. از مجموع نتایج به دست آمده می‌توان این استنباط را نمود که قدرت فعالیت آنتی‌اکسیدانی به میزان قابل توجهی تحت تأثیر ماهیت حلال، روش استخراج و تعامل این دو بستگی دارد. باین حال، قدرت استخراج حلال، مهم ترین فاکتور مؤثر بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی محصول می‌باشد. نتایج این پژوهش نشان داد که نوع حلال و روش استخراج بر کمیت و کیفیت ترکیبات فنولیک اثر می‌گذارند. البته گیاه دارویی افسنطین نیز تحت تاثیر عوامل محیطی بوده، خواص آنتی‌اکسیدانی، درصد اسانس و میزان مواد فنولی گیاه هر منطقه بستگی به پارامترهای زیادی از جمله آب و هوا، ارتفاع و نور دارد. بنابراین جهت جمع آوری یا اهلی سازی گیاه علاوه بر گونه، شرایط محیطی ایده آل برای تولید متابولیت مورد نظر و مقدار آن از اهمیت ویژه ای برخوردار می‌باشد. بنابراین با توجه به نوع نیاز و مقدار متابولیت مورد نظر می‌توان از منطقه مناسب جمع‌آوری و یا کشت کرد.

References

- Amirmohammadi, F., Azizi, M., & Nemati, S. H. (2020). Comparison of Phytochemical Composition and Antioxidant Activity of Seven *Nepeta* species Cultivated in Mashhad. *Iranian Journal of Horticultural Science and Technology*, 21(1), 23-40.

منابع

- Asgari-kafrani, A., M. fazilati and H. nazem. (2021). Evaluation the effect of different solvents and extraction method on phytochemical content and antioxidant activity of *Moringa oleifera* leaf extract. *Journal of Food Science and Technology*, 18(114): 133-145.
- Ashok, P. K., & Upadhyaya, K. (2013). Preliminary Phytochemical Screening and Physico-Chemical Parameters of *Artemisia absinthium* and *Artemisia annua*. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 1(6), 229-235.
- Bahrani Samani, L., Fooladgar, M., & Amjad, L. (2015). Investigation of storage time effect on phytochemical properties of *Artemisia deserti*. *Applied Chemistry*, 10(35), 111-130.
- Bidgoli, R. D., Pessaraki, M., Heshmati, G. A., & Ebrahimabadi, A. H. (2013). Effects of Topographic factors of the site on the essential oil compounds of *Artemisia aucheri* aerial parts grown in a mountainous region. *Communications In Soil Science and Plant Analysis*, 44(17), 2618-2624.
- Bora, K. S., & Sharma, A. (2011). The genus *Artemisia*: a comprehensive review. *Pharmaceutical Biology*, 49(1), 101-109.
- Dabe, N. E., & Kefale, A. T. (2017). Antidiabetic effects of artemisia species: a systematic review. *Ancient Science of Life*, 36(4), 175.
- Fang, Z., Zhang, Y., Lü, Y., Ma, G., Chen, J., Liu, D., & Ye, X. (2009). Phenolic compounds and antioxidant capacities of bayberry juices. *Food Chemistry*, 113(4), 884-888.
- Gulcin, İ. (2020). Antioxidants and antioxidant methods: An updated overview. *Archives of Toxicology*, 94(3), 651-715.
- Houshmand, S., Alizadeh-salteh, S., Bolandnazar, S., & Aryakia, E. (2023). Evaluating the Diversity of the Essential Oil Constituents of *Artemisia* Accessions from Iran. *Journal of Medicinal Plants and By-Product*.
- Kooltheat, N., Chujit, K., Nuangnong, K., Nokkaew, N., Bunluepuech, K., Yamasaki, K., & Chatatikun, M. (2021). *Artemisia lactiflora* extracts prevent inflammatory responses of human macrophages stimulated with charcoal pyrolysis smoke. *Journal of Evidence-Based Integrative Medicine*, 26, 2515690X211068837.
- Kruzinauskaite, J. and L. Raudone. (2021). Determination of phenolic compounds content and antiradical activity in *Artemisia absinthium* l. During different vegetation periods. Thesis in Universiteto mokslo publikacijos.
- Lee, Y. J., Thiruvengadam, M., Chung, I. M., & Nagella, P. (2013). Polyphenol composition and antioxidant activity from the vegetable plant '*Artemisia absinthium*' L. *Australian Journal of Crop Science*, 7(12), 1921-1926.
- Lim, S. N., Cheung, P. C. K., Ooi, V. E. C., & Ang, P. O. (2002). Evaluation of antioxidative activity of extracts from a brown seaweed, *Sargassum siliquastrum*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(13), 3862-3866.
- Majdan, M., Kiss, A. K., Hałasa, R., Granica, S., Osińska, E., & Czerwińska, M. E. (2020). Inhibition of neutrophil functions and antibacterial effects of tarragon (*Artemisia dracuncululus* L.) infusion—phytochemical characterization. *Frontiers in Pharmacology*, 11, 947.
- Nematollahi, F., Rustaiyan, A., Larijani, K., Nadimi, M., & Masoudi, S. (2006). Essential Oil Composition of *Artemisia biennis* Willd. and *Pulicaria undulata* (L.) CA Mey., Two Compositae Herbs Growing Wild in Iran. *Journal of Essential Oil Research*, 18(3).
- Rahemi Ardakani, S., & Poursakhi, K. (2020). Traditional usage of native medicinal plants of Cheshmeh Gandou region in Sepidan Township (Fars Province). *Journal of Medicinal Plants*, 19(74), 200-219.
- Rezaei, J., Zare Mehrjerdi, M., Mastali, H., & Yazdani, N. (2019). Morphological and Phytochemical Evaluation in Some Populations of *Allium* from Iran. *Iranian Journal of Horticultural Science and Technology*, 20(3), 337-348.
- Sengul, M., Ercisli, S., Yildiz, H., Gungor, N., Kavaz, A., & Çetin, B. (2011). Antioxidant, antimicrobial activity and total phenolic content within the aerial parts of *Artemisia absinthium*, *Artemisia santonicum* and *Saponaria officinalis*. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 10(1), 49.
- Singh, B., & Sharma, R. A. (2020). *Secondary metabolites of medicinal plants, 4 Volume set: ethnopharmacological properties, biological activity and production strategies*. John Wiley & Sons.
- Soltani, A. R. (2015). An Overview on Perception and Its Principles from Avicenna's Point of View. *Journal of Education and Practice*, 6(20), 7-13.
- Suzuki, M., Watanabe, T., Miura, A., Harashima, E., Nakagawa, Y., & Tsuji, K. (2002). An extraction solvent optimum for analyzing polyphenol contents by Folin-Denis assay. *Journal of the Japanese Society for Food Science and Technology (Japan)*, 49(7).
- Taghavizadeh Yazdi, M. E., Darroudi, M., Amiri, M. S., Hosseini, H. A., Nourbakhsh, F., Mashreghi, M., ... & Mousavi, S. H. (2020). Anticancer, antimicrobial, and dye degradation activity of biosynthesised silver nanoparticle using *Artemisia kopetdaghensis*. *Micro & Nano Letters*, 15(14), 1046-1050.

- Thoma, F., Somborn-Schulz, A., Schlehuber, D., Keuter, V., & Deerberg, G. (2020). Effects of light on secondary metabolites in selected leafy greens: A review. *Frontiers in Plant Science*, *11*, 497.
- Yavari, A., & Shahgolzari, S. M. (2016). Effect of some ecological factors on quality and quantity of effective ingredient of *Stachys inflata* at Touyserkan region. *Agroecology Journal*, *12*(1).
- Zhang, X., Zhao, Y., Guo, L., Qiu, Z., Huang, L., & Qu, X. (2017). Differences in chemical constituents of *Artemisia annua* L from different geographical regions in China. *PLoS One*, *12*(9), e0183047.

Investigating of Phytochemical Compositions and Antioxidant Potential of Ethanol and Ethyl Acetate Extracts of Three Ecotypes of Medicinal Plant

Artemisia absinthium

Sepideh Houshmand,¹ Saeideh Alizadeh- Salteh,^{1*} Sahebali Bolandnazar,¹ Elyas Aryakia²

1. Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

2. Plant bank, Iranian Biological Resource Center (IBRC)(ACECR), Tehran, Iran

* Corresponding Author, E-mail: (s.alizadeh@tabrizu.ac.ir)

Among the valuable plants of Iran, the *Artemisia* species belongs to the Asteraceae family, which is relatively widely distributed in different parts of Iran. Considering that the antioxidant potential is significantly dependent on the nature of the solvent, the extraction method of the plant collected from each region also depends on many parameters such as weather, altitude, and light. In this study, wormwood (*Artemisia absinthium*) was collected from three different regions of Iran and the antioxidant potential of these ecotypes was evaluated. In this research, the medicinal properties, including the antioxidant content (by DPPH and FRAP assays), flavonoid content (TFC), and total phenol (TPC) were evaluated in polar (ethanol) and semi polar (ethyl acetate) extracts, and the percentage and variety of essential oil compounds were evaluated. The Gilan ecotype has the most antioxidants, The Semnan ecotype showed the least antioxidant inhibition, and the non-polar solvent ethyl acetate showed a higher regenerating activity, which indicates that the type of solvent used in extraction is very effective for antioxidant activity. The AC values of the ecotypes ranged from 78.65 to 92.58 % extract (by DPPH assay) and from 11.76 to 18.88 Mmol Fe (by FRAP assay) respectively. Gilan ecotype has the highest phenolic content in polar extract, and the Golestan ecotype showed the highest flavonoid content in non-polar extract. Semnan ecotype had the most oxygenated monoterpene compounds, and the most composition in essential oil among other ecotypes. Golestan ecotype had the highest percentage of essential oil among other ecotypes. The diversity of phenolic contents, essential oil, and antioxidant compounds observed in the three studied ecotypes can be due to various ecological, genetic, geographical, and nutritional factors.

Keywords: *Artemisia absinthium*, DPPH, FRAP, Polar extract, Semi polar extract.