



شناسایی ترکیبات شیمیایی تشکیل دهنده اسانس و بررسی اثرات آنتی‌اکسیدانی آنغوزه ایرانی و افغانستانی

حمزه امیری*، پروانه همتی حسن گاویار* و سید کاظم حسن زاده

۱- استاد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران

۲- دانشجوی دکتری، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران

۳- کارشناسی ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران

اطلاعات مقاله	چکیده
تاریخ های مقاله : تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۹/۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۲/۸	در این مطالعه ترکیبات تشکیل دهنده اسانس، اثرات آنتی‌اکسیدانی و میزان فنل و فلاونوئید آنغوزه در دو جمعیت ایرانی و افغانستانی مورد بررسی قرار گرفته است. شناسایی ترکیب های تشکیل دهنده اسانس توسط دستگاه GC-MS صورت گرفت. بررسی اثرات آنتی‌اکسیدانی با استفاده از روش‌های ۲ و ۲ دی فنیل ۱-پیکریل هیدرازیل و بتاکاروتن - لینولئیک اسید انجام شد. محتوای ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی نیز به ترتیب با استفاده از استانداردهای گالیک اسید و کوئرستین اندازه گیری شد. نتایج نشان داد که پروپنیل سک بوتیل دی سولفید (۴۲٪/۷۲)، استون دی متیل مرکاپتول (۱۴٪/۸۴) و گاما ادیسمول (۸۰٪/۸۰) فراوان ترین ترکیبات موجود در اسانس آنغوزه ایرانی است، پروپنیل سک بوتیل دی سولفید (۳۹٪/۶۱)، استون و دی متیل مرکاپتول (۱۸٪/۲۵)، و ۸ اتیل پنتادی دکان (۱۷/۹۷٪) فراوان ترین ترکیبات تشکیل دهنده اسانس آنغوزه افغانستانی بودند. میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنغوزه ایرانی در روش DPPH قدرت بیشتری را نشان داد در حالی که در روش بتاکاروتن- لینولئیک اسید میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه افغانستانی بیشتر بود. در مجموع نتایج نشان داد که دو جمعیت مورد بررسی در این پژوهش از نظر نوع و درصد ترکیبات تشکیل دهنده اسانس، قدرت آنتی‌اکسیدانی و محتوای فنل و فلاونوئید دارای تفاوت هایی با هم هستند. این تفاوت‌ها احتمالاً ناشی از تفاوت در عوامل اکولوژیکی مانند زیستگاه‌های محل رویش این جمعیت‌ها و تاثیر این عوامل برفاکتورهای مطالعه شده است.
کلمات کلیدی: پروپنیل سک بوتیل دی سولفید، استون دی متیل مرکاپتول، DPPH بتاکاروتن- لینولئیک اسید	
DOI:10.22034/FSCT.21.152.51. * مسئول مکاتبات: amiri_h_lu@yahoo.com parvanehemati1371@gmail.com	

۱- مقدمه

سرماخوردگی، صرع، خواص آنتی-اکسیدانی، قارچ‌کش، باکتری‌کش، مرض نقرس و غیره استفاده می‌شود.

در مطالعات مختلفی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس گونه‌های مختلف آنغوزه مورد بررسی قرار گرفته است. در همه این مطالعات ترکیبات گوگردی به عنوان اصلی‌ترین ترکیبات تشکیل دهنده اسانس آنغوزه معرفی شده است. نتایج حاصل از مطالعه Bahrami و همکاران در سال ۲۰۱۳ نشان می‌دهد که ای-۱- پروپنیل سک- بوتیل دی سولفید و زد-۱ پروپنیل سک- بوتیل دی سولفید و زد-۱ پروپنیل سم- بوتیل دی سولفید فراوان‌ترین ترکیبات تشکیل دهنده اسانس آنغوزه است [۷]. بررسی‌های انجام شده توسط نصیری برنجانی و همکاران در سال ۱۳۹۶ منجر به شناسایی ۵۱ ترکیب در اسانس *Ferula assa-foetida* L. شد که ای-۱- پروپنیل سک- بوتیل دی سولفید، ان پروپیل سک- بوتیل دی سولفید، زد- بتا اوسیمین و بتا- پینن عمده‌ترین ترکیبات تشکیل دهنده اسانس این گونه معرفی شد [۸]. گزارشات Nazari و Iranshahi در سال ۲۰۱۱، ای-۱- پروپنیل سک- بوتیل دی سولفید و زد-۱ پروپنیل سک- بوتیل دی سولفید، آلفا پینن، بتا پینن، گوآیول و کاراتول را به عنوان مهم‌ترین ترکیبات تشکیل دهنده صمغ *F. assa-foetida* معرفی می‌کند [۹]. بوی معطر بسیار قوی اسانس گونه‌های *Ferula* که معمولاً از اندام‌های مختلف گیاه شامل گل‌ها، بذرها، برگ‌ها، ساقه‌ها و ریشه‌ها به دست می‌آید به علت وجود ترکیبات گوگرد دار فرار آن است. در سال‌های اخیر اثرات فارماکولوژیک متعددی برای این ترکیبات فرار پیشنهاد شده است که می‌توان به اثرات ضد سرطانی، آنتی‌اکسیدانی، کاهش دهنده چربی خون، آنتی‌باکتریال، محافظت‌کننده عصبی و تعدیل‌کننده ایمنی اشاره کرد [۷].

شرایط آب و هوای مناسب مناطق شرقی ایران و کشور افغانستان جهت کشت و بهره‌برداری از گیاه آنغوزه که امروزه در معرض خطر انقراض قرار گرفته است به عنوان ظرفیت بالقوه‌ای برای توسعه کشاورزی این مناطق به

گیاهان دارویی از قرن‌ها پیش جهت درمان امراض گوناگون در طب سنتی مورد استفاده بشر قرار گرفته است، در سال‌های اخیر نیز به دلیل سمی بودن و عوارض جانبی برخی از داروهای سنتزی استفاده از داروهای با منشأ طبیعی شتاب بیشتری گرفته است [۱]. مواد موثره گیاهان دارویی از جمله ترکیبات فنلی که در اندام‌های مختلف گیاه مانند برگ، ساقه، ریشه و... وجود دارد با جلوگیری از اکسید شدن و فساد سبب افزایش کیفیت مواد غذایی و افزایش عمر مفید آن‌ها می‌شوند [۲]. مطالعات نشان می‌دهد که فعالیت رادیکال‌های آزاد در بدن می‌تواند زمینه را برای بروز سرطان و بیماری‌های قلبی عروقی فراهم کند. استفاده از گیاهان دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌تواند می‌تواند یک راهکار مهم برای مبارزه با رادیکال‌های آزاد باشد [۳]. در مجموع می‌توان گفت قیمت ارزان، غیر سمی بودن و اثر در غلظت‌های پایین از مهم‌ترین ویژگی‌های آنتی‌اکسیدان‌های گیاهی است که سبب تقاضای قابل توجه کارخانجات مواد غذایی و دارویی جهت استفاده از مشتقات گیاهی به عنوان آنتی‌اکسیدان‌ها در سیستم‌های غذایی شده است [۴و۵].

گونه آنغوزه با نام علمی *Ferula assa-foetida* از خانواده چتریان، گیاهی مونوکاریپیک بوده و دارای ریشه‌ای راست، گوشت‌دار و نسبتاً ضخیم است که شیره‌ای به نام آنغوزه را در خود ذخیره می‌کند. این گیاه بومی آسیای مرکزی از شرق ایران تا افغانستان است [۶]. کمک به درمان بیماری‌های مختلفی از جمله اختلالات گوارشی، اختلالات عصبی، مشکلات تنفسی و درمان گزیدگی حشرات از مهم‌ترین موارد استفاده آنغوزه در طب سنتی است [۶]. گیاه آنغوزه یکی از مهم‌ترین و پرخاصیت‌ترین گیاهان دارویی (مخصوصاً در کشور افغانستان) می‌باشد که از آن به روش‌های مختلف (خام، جوشانده، عصاره، پودر و غیره) برای درمان بیماری‌های مختلف از قبیل: درد معده، تقویت قوای جنسی، هموروئید، مشکلات قاعدگی،

طیف سنج جرمی (MS) مورد استفاده مدل Agilent 5973 با ولتاژ یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت و روش یونیزاسیون EI، دمای منبع یونیزاسیون ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد بود. شناسایی طیف‌ها به کمک شاخص بازداری آن‌ها و مقایسه‌ی آن با شاخص‌های موجود در کتب مرجع و با استفاده از طیف‌های جرمی ترکیبات استاندارد و استفاده از اطلاعات موجود در کتابخانه‌ی کامپیوتری صورت گرفت [۱۰].

۲-۴ روش استخراج عصاره

۵ گرم از نمونه خردشده داخل یک کیسه با منافذ ریز ریخته شد. کیسه داخل ظرف شیشه‌ای درب دار قرار گرفت و تا حدی که سطح کیسه کاملاً پوشانده شود، روی آن متانول ریخته شد. در پایان کار پس از بستن درب شیشه و پیچاندن فویل آلومینیومی اطراف ظروف، ظروف حاوی عصاره به مکان تاریک انتقال داده شد. پس از سه شبانه روز (۷۲ ساعت) عصاره استخراج شده صاف شد و به یخچال 4°C - انتقال یافت و مجدداً به ظرف اولیه حاوی کیسه حلال اضافه شد و در ادامه کلیه مراحل بیان شده تکرار گردید. در مجموع طی ۹ شبانه روز، عمل اضافه کردن حلال و صاف کردن عصاره در طی سه مرتبه انجام شد. عصاره مورد نظر با کاغذ صافی صاف شد، سپس عمل تغلیظ با استفاده از دستگاه روتاری شرکت IKA مدل RV06-ML و پمپ خلأ STEROUAO صورت گرفت.

۲-۵ بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های مختلف

۲-۵-۱ روش DPPH

در این روش اسپکتروفتومتری، از رادیکال‌های آزاد DPPH به عنوان معرف استفاده می‌شود و فعالیت اتم‌های هیدروژن و الکترون عصاره‌ها از طریق بی‌رنگ شدن محلول بنفش پررنگ DPPH اندازه‌گیری می‌شود. از عصاره‌های خشک شده محلول‌هایی با غلظت‌های (۰/۰۴، ۰/۰۳، ۰/۰۲، ۰/۰۱ و ۰/۰۰۵) میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تهیه شد، سپس به منظور بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی، محلول ۰/۰۰۴٪ از DPPH

حساب می‌آید. در این پژوهش هدف ما شناسایی و مقایسه ترکیبات تشکیل دهنده اسانس و بررسی اثرات آنتی‌اکسیدانی دو جمعیت آنگوزه ایرانی (خراسانی) و افغانستانی است. نتایج این پژوهش می‌تواند در انتخاب جمعیت مناسب جهت کشت آن به کشاورزان و بهره برداری فرآورده‌های حاصل از این گیاه کمک کننده باشد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱ جمع‌آوری نمونه

صمغ یا شیرابه آنگوزه ایرانی از جمعیت شرق ایران و از استان خراسان رضوی جمع‌آوری شد درحالی‌که شیرابه آنگوزه جمعیت افغانستانی از نمونه‌های کشت شده در استان بلخ کشور افغانستان تهیه شد.

۲-۲ استخراج اسانس

اسانس با روش تقطیر با آب و با استفاده از دستگاه کلونجر جداسازی گردید. فرآیند تقطیر به مدت ۳ ساعت انجام شد. اسانس به دست آمده تا زمان انجام آنالیز در فریزر 20°C - نگه داری شد.

۲-۳ شناسایی ترکیب‌های تشکیل دهنده اسانس

اسانس گیاه مورد نظر پس از استخراج، به دستگاه گاز کروماتوگراف متصل به طیف سنج جرمی (GC/MS) تزریق شد تا نوع ترکیبات آن مشخص شود. دستگاه GC مورد استفاده از نوع Agilent 6890 با ستون HP-5MS به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه ۰/۲۵ میکرومتر بود. برنامه‌ی دمایی ستون به این نحو تنظیم شد که دمای ابتدایی آن ۵۰ درجه سانتی‌گراد و توقف در این دما به مدت ۵ دقیقه با گرادیان حرارتی ۳ درجه سانتی‌گراد در هر دقیقه صورت گرفت، سپس افزایش دما تا ۲۴۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۱۵ درجه سانتی‌گراد در هر دقیقه و پس از آن افزایش دما به ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد با سه دقیقه توقف در این دما (۳۰۰) صورت گرفت. دما اتافک تزریق ۲۹۰ درجه سانتی‌گراد و از گاز هلیوم به عنوان گاز حامل با سرعت جریان ۰/۸ میلی‌لیتر در دقیقه استفاده شد.

میلی لیتر تهیه شد. جهت بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی مقدار ۵۰ میکرو لیتر از عصاره به ۲۵۰۰ میکرو لیتر از محلول بتاکاروتن- لینولئیک اسید اضافه گردید. جذب نمونه‌ها در لحظه صفر و همچنین بعد از دو ساعت انکوبه شدن در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد با استفاده از دستگاه میکرو پلیت ریدر (Bio Tek, U.S.A) در طول موج ۴۷۰ نانومتر قرائت گردید و میزان فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌ها با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید.

$$AA\% = (1 - DR_s / DR_c) \times 100$$

$$DR = \ln(a/b) \times 1/t$$

که AA% میزان فعالیت آنتی اکسیدانی برحسب درصد و DR_s و DR_c به ترتیب سرعت بی رنگ شدن بتاکاروتن در مخلوط واکنشی حاوی نمونه و بدون نمونه است. a جذب نمونه در لحظه صفر و b جذب نمونه بعد از ۱۲۰ دقیقه و t برابر ۱۲۰ دقیقه است [۱].

۲-۶- سنجش ترکیبات فنلی:

به منظور سنجش ترکیبات فنلی از Folin-Ciocaltue به عنوان معرف و از گالیک اسید به عنوان استاندارد استفاده گردید. از عصاره هر جمعیت محلولی با غلظت ۲ میلی گرم بر میلی لیتر تهیه گردید و از گالیک اسید محلول‌هایی با غلظت‌های مختلف تهیه شد. برای هر محلول سه لوله آزمایش آماده شد و در هر لوله ۱۰۰ میکرو لیتر از عصاره‌ها یا گالیک اسید با ۱۵۰۰ میکرو لیتر Folin-Ciocaltue ۰/۱ رقیق شده و ۱۰۰۰ میکرو لیتر آب مقطر مخلوط شد، بعد از یک دقیقه ۱۵۰۰ میکرو لیتر محلول سدیم کربنات ۲۰٪ اضافه شد، در ادامه نمونه‌ها به مدت دو ساعت به مکانی تاریک در دمای اتاق منتقل شدند و سپس جذب آن‌ها در طول موج ۷۶۰ نانومتر با استفاده از دستگاه میکرو پلیت ریدر قرائت گردید [۱۲]، در نهایت میزان فنل موجود در عصاره‌ها با استفاده از معادله حاصل از نمودار استاندارد، برحسب میکرو گرم گالیک اسید بر میلی گرم وزن خشک عصاره گزارش شد.

تهیه شد (محلول حاصل به رنگ بنفش پررنگ است) سپس برای هر نمونه سه لوله آزمایش آماده گردید و در هر لوله ۵۰ میکرو لیتر از عصاره و یک میلی لیتر محلول DPPH اضافه شد، در ادامه لوله‌ها به مکان تاریک انتقال یافتند و پس از ۳۰ دقیقه گرمخانه گذاری در دمای اتاق جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت گردید. در این روش از BHT به عنوان کنترل مثبت و متانول به عنوان کنترل منفی استفاده شد. با استفاده از فرمول زیر درصد مهار محاسبه گردید.

$$I\% = (A_{blank} - A_{sample}) / A_{blank}$$

که در این رابطه A_{blank} جذب واکنش کنترل منفی (دارای تمام معرف‌ها به جز غلظت مشخص از عصاره مورد نظر) می‌باشد و A_{sample} جذب نمونه مورد نظر در مخلوط واکنشی می‌باشد (۱۹). در ادامه با استفاده از نمودار حاصل از میزان I به دست آمده نتایج نهایی به صورت IC₅₀ (بیانگر غلظتی از عصاره است که باعث ۵۰٪ بازدارندگی فرآیندهای اکسیداتیو می‌گردد) برحسب میکرو گرم بر میلی لیتر بیان گردید [۱۱].

۲-۵-۲ روش بتاکاروتن- لینولئیک اسید

اسیدهای چرب غیر اشباع از جمله لینولئیک اسید در برابر روند اکسیداسیون، بسیار حساس هستند، از این رو مهار اکسیداسیون این ماده به عنوان یک روش با ارزش در تعیین فعالیت آنتی اکسیدانی، مورد استفاده قرار می‌گیرد. در این روش فعالیت آنتی اکسیدانی، با میزان مهار اکسیداسیون لینولئیک اسید و جلوگیری از ایجاد ترکیبات فرار و هیدرو-پراکسیدهای کونزوگه، مورد سنجش قرار می‌گیرد. ابتدا یک استوک از محلول بتاکاروتن لینولئیک اسید تهیه شد، بدین صورت که ۰/۵ میلی گرم بتاکاروتن را در ۱ میلی لیتر کلروفرم حل نموده، ۲۵ میکرو لیتر لینولئیک اسید و ۲۰۰ میلی گرم توئین ۴۰ به آن اضافه نموده، سپس کلروفرم آن را به طور کامل تبخیر شد و در پایان ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر اشباع از اکسیژن همراه با تکان شدید به آن اضافه گردید. از عصاره هر جمعیت، محلولی با غلظت ۱ میلی گرم بر

تعیین سطح معنادار بودن تفاوت‌ها از طریق تجزیه واریانس یک طرفه در بسته نرم‌افزاری Mini Tab، نسخه ۱۶ با آزمون Tukey و student's-t-test مورد بررسی قرار گرفت. برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

۳- نتایج

۳-۱ آنالیز اسانس:

نتایج حاصل از آنالیز اسانس جمعیت‌های آنگوزه ایرانی و افغانستانی در جدول (۱) آمده است. بر اساس نتایج حاصل از این جدول پروپنیل سک بوتیل دی سولفید (% ۴۲/۷۲)، استون دی متیل مرکاپتول (% ۱۴/۸۴) و گاما ادیسمول (% ۸/۶۰) ترکیبات شاخص موجود در اسانس جمعیت ایرانی است. در جمعیت افغانستانی نیز پروپنیل سک بوتیل دی سولفید (% ۳۹/۶۱)، دی متیل مرکاپتول (% ۱۸/۲۵)، و ۸ اتیل پنتادی دکان (% ۱۷/۹۷) مهم‌ترین ترکیبات تشکیل دهنده اسانس هستند. نتایج به دست آمده از آنالیز (GC-MS) نشان‌دهنده آن است که هر کدام از این دو جمعیت آنگوزه دارای ترکیبات منحصر به فرد مربوط به خویش بوده اما در عین حال برخی ترکیبات شاخص اسانس (پروپنیل سک بوتیل دی سولفید و استون دی متیل مرکاپتول) در دو جمعیت مورد مطالعه مشترک است. مقدار پروپنیل سک بوتیل دی سولفید در جمعیت ایرانی % ۷/۲۸ بیشتر از جمعیت افغانستانی است (شکل ۱). در حالی که مقدار استون دی متیل مرکاپتول موجود در اسانس در جمعیت افغانستانی % ۲۰/۶۶ بیشتر از جمعیت ایرانی است (شکل ۲).

$$\text{Absorbance} = 0.0021 \text{ Gallic acid } (\mu\text{g}) + 0.0022 (r^2 = 0.987)$$

۲-۷ سنجش ترکیبات فلاونویدی

جهت اندازه‌گیری ترکیبات فلاونویدی از کلرید آلومینیوم به عنوان معرف و از کوئرسیتین به عنوان استاندارد استفاده شد. از عصاره هر جمعیت محلول‌هایی با غلظت ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تهیه گردید، و از کوئرسیتین محلول‌هایی با غلظت‌های مختلف تهیه شد، سپس برای هر محلول سه لوله آزمایش آماده گردید و در هر لوله ۵۰۰ میکرولیتر از عصاره مورد نظر با ۱۵۰۰ میکرولیتر متانول، ۱۰۰ میکرولیتر کلرید آلومینیوم ۱۰٪، ۱۰۰ میکرولیتر استات پتاسیم یک مولار و ۲۸۰۰ میکرولیتر آب مقطر مخلوط شد، نمونه‌ها به مدت ۴۰ دقیقه در دمای اتاق قرار گرفتند و سپس جذب آن‌ها با استفاده از دستگاه میکروپلیت‌ریدر در طول موج ۴۲۰ نانومتر قرائت گردید [۱۳]. در نهایت میزان فلاونوید موجود در عصاره‌ها با استفاده از معادله حاصل از نمودار استاندارد، برحسب میکروگرم کوئرسیتین بر میلی‌گرم وزن خشک عصاره گزارش شد.

$$\text{Absorbance} = 0.0091 \text{ quercetin } (\mu\text{g}) + 0.0206 (r^2 = 0.995)$$

۲-۸ مطالعات آماری:

کلیه آزمایش‌ها به صورت یک آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار کاملاً مستقل انجام شد،

Table 1. Essential oil composition of Iranian and Afghanestanian populations of *Ferula assa-foetida*

Compounds	RI	Area %	
		Iranian population	Afghanestanian population
alpha.-pinene	939.54	3.88	0.10
Ethylbenzene	956.42	-	0.04
Camphene	961.19	0.10	-

beta.-Pinene	1004.53	2.38	-
2,3,4-Trimethylthiophene	1022.62	0.11	-
trans-Ocimene	1046.10	1.49	-
Cis-.beta.-ocimene	1068.32	3.01	-
Acetophenone	1098.62	-	0.13
1-methylpropyl disulfide	1310.85	-	0.92
fenchyl acetate	1312.35	-	0.1
allyl nicotinate	1314.51	-	6.07
3-Methyl-4,5-dithiooctane	1274.51	1.21	-
propenyl sec butyl disulfide	1293.33	42.72	39.61
acetone, dimethyl mercaptole	1441.61	14.84	18.25
8-ethyl-4,5,6,7,9-pentathiadecane	1461.09	-	17.97
beta.-eudesmene	1500.61	0.60	-
2,3-dimethyl-3-hexanol	1510.61	-	1.04
dihydro-.beta.-agarofuran	1517.76	3.83	-
Guaiol	1607.13	1.51	-
alpha.-eudesmol	1619.19	0.91	-
gamma.-eudesmol	3635.79	8.6	-
Agarospinol	1648.55	1.4	-
Torreyol	1666.56	1.87	-
Total		88.46	84.23

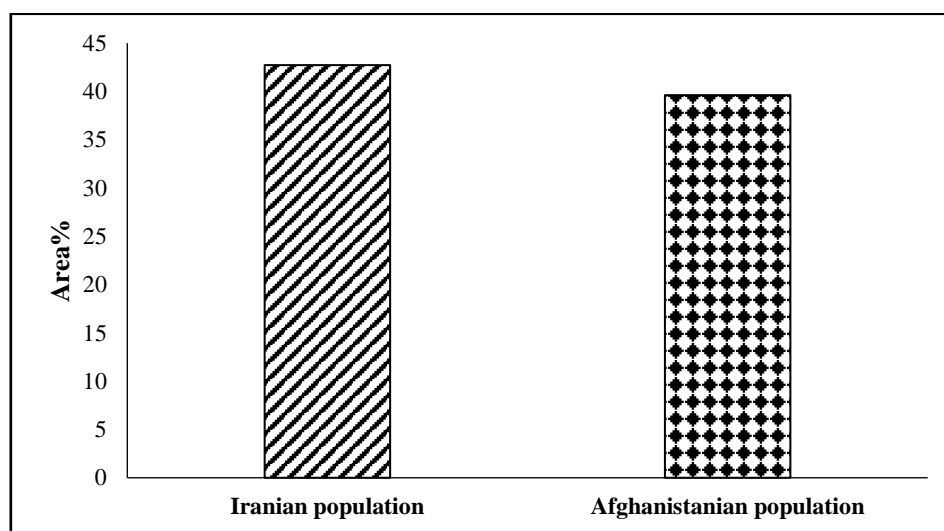


Fig 1. Quantitative changes of propenyl sec butyl disulfide as the first main compound in essential oil of Iranian and Afghanestanian populations.

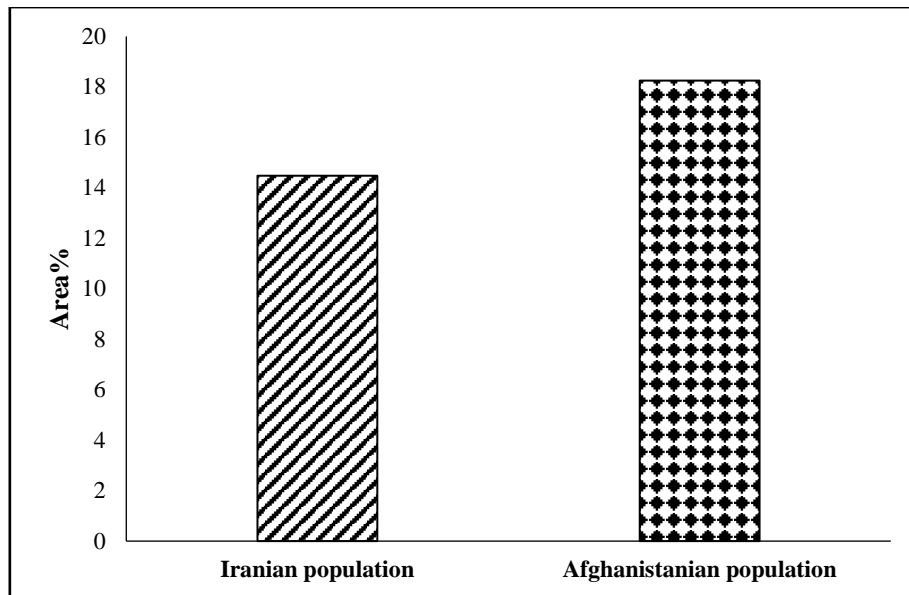


Fig 2. Quantitative changes of Acetone, dimethyl mercaptole as the second main compound in essential oil of Iranian and Afghanestanian populations.

جمعیت‌های ایرانی و افغانستانی بیشتر است (جمعیت افغانستانی > جمعیت ایرانی) (شکل ۳A).

۲-۲-۳ روش بتا کاروتن-لینولئیک اسید

نتایج حاصل از سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره متانولی آنغوزه با روش بتاکاروتن لینولئیک اسید نشان داد که قدرت آنتی اکسیدانی جمعیت افغانستانی بیشتر از ایرانی و ایرانی بیشتر از BHT است (BHT > جمعیت ایرانی > جمعیت افغانستانی) (شکل ۳B).

۲-۳ بررسی فعالیت‌های آنتی اکسیدانی

۱-۲-۳ روش DPPH

نتایج حاصل از سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی با روش DPPH نشان داد که در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی داری بین IC_{50} جمعیت‌های ایرانی، افغانستانی و BHT وجود دارد. با توجه به اینکه هرچه میزان IC_{50} کمتر باشد نشان دهنده قدرت آنتی اکسیدانی بیشتری است، عصاره نمونه ایرانی قدرت آنتی اکسیدانی بیشتری نسبت به نمونه افغانستانی دارد اما قدرت آنتی اکسیدانی BHT از

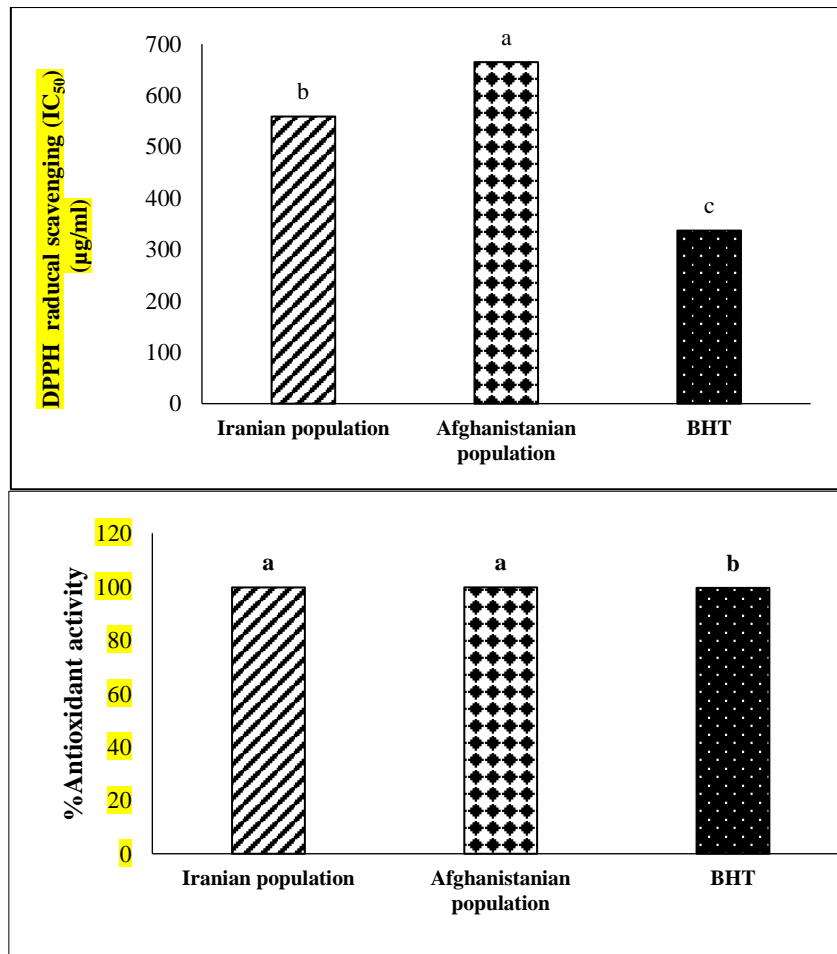


Fig.3. Antioxidant activity of Iranian and Afghanestanian populations of *Ferula assa-foetida* compared with BHT by DPPH (A) and β -carotene-linoleic acid (B) assays. Different letters indicate significant differences at $P < 0.05$ among treatments.

نتایج به دست آمده از آنالیزهای آماری نشان دهنده آن است که تفاوت معنی داری بین محتوای فلاونوئید در جمعیت ایرانی و افغانستانی وجود دارد. جمعیت افغانستانی (۲۲/۱۲) میکروگرم کوئرستین بر میلی گرم عصاره) میزان فلاونوئید بیشتری نسبت به جمعیت ایرانی (۱۹/۲۳) میکروگرم کوئرستین بر میلی گرم عصاره) دارد (شکل ۴B).

۳-۳ سنجش فنل

نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین‌ها نشان داد که در سطح احتمال ۱٪ تفاوت معنی داری بین محتوای فنل در جمعیت های ایرانی و افغانستانی وجود دارد و میزان این ترکیبات در جمعیت افغانستانی (۲۵۱/۸) میکروگرم گالیک اسید بر میلی گرم عصاره) بیشتر از ایرانی (۲۳۶/۱) میکروگرم گالیک اسید بر میلی گرم عصاره) است (شکل ۴A).

۳-۴ سنجش میزان فلاونوئید:

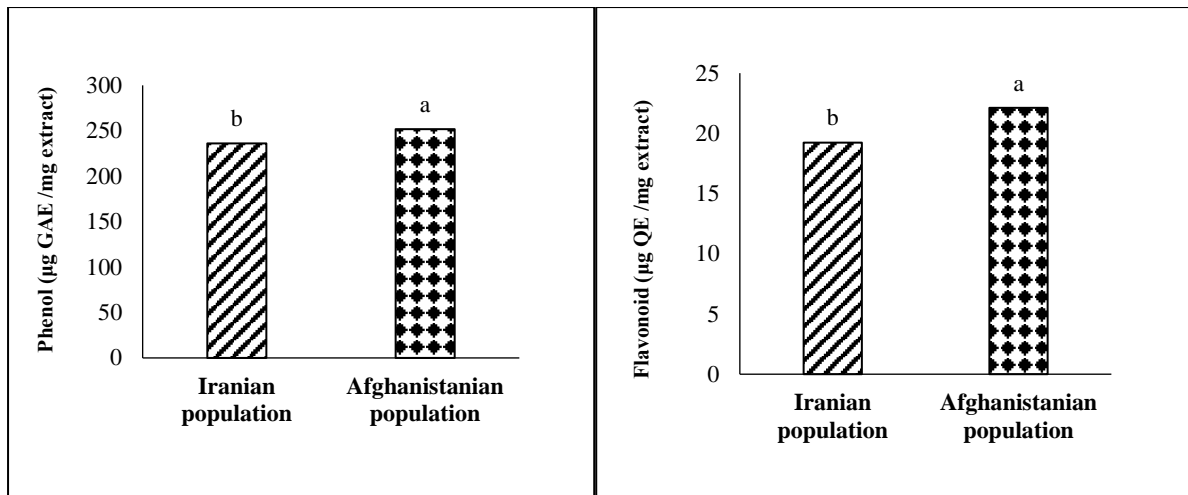


Fig4. Phenol (A) and Flavonoid (B) contents of Iranian and Afghanistanian populations of *Ferula assa-foetida*. Different letters indicate significant differences at $P < 0.01$ among treatments.

جمعیت مختلف آنغوزه در رویشگاه‌های استان کرمان نشان داد که عمده ترین ترکیبات در کل مناطق پروپنیل سک بوتیل دی سولفید است اما مقدار آن در رویشگاه‌های مختلف متفاوت است [۸] که با نتایج پژوهش حاضر از نظر تاثیر رویشگاه بر ترکیبات شیمیایی اسانس مطابقت دارد. تأثیر عوامل اکولوژیکی رویشگاه‌های جنوب غرب ایران بر مقدار صمغ و ترکیب‌های شیمیایی اسانس گیاه دارویی *Ferula assa-foetida* L. توسط آبیاری و همکاران در سال ۱۳۹۵ مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از مطالعه آنان همانند پژوهش حاضر ضمن معرفی آن پروپنیل سک بوتیل دی سولفید به عنوان عمده ترین ترکیب تشکیل دهنده اسانس این گیاه در رویشگاه‌های مختلف مورد مطالعه نشان داد که درصد ترکیبات تشکیل دهنده اسانس در رویشگاه‌های مختلف متفاوت است. آنان بیان کردند که اگرچه متابولیت‌های ثانویه اساساً با هدایت فرآیندهای ژنتیکی ساخته می‌شوند ولی عوامل محیطی بر ساخت آن‌ها اثرگذار است [۱۵]. از آنجایی که ترکیبات گوگردی موجود در اسانس دارای اثرات فارماکولوژیک از جمله آرامبخش و ضد تشنج است و در درمان بیماری‌های روماتیسم و دیابت نیز کاربرد دارد؛ بنابراین بهترین کیفیت اسانس متعلق به جمعیتی است که بیشترین درصد ترکیبات گوگردی را داشته باشد که در این مطالعه به نظر می‌رسد جمعیت ایرانی از این نظر ارجحیت داشته باشد.

۴- بحث و نتیجه گیری

مقایسه ترکیبات تشکیل دهنده اسانس جمعیت های ایرانی و افغانستانی آنغوزه نشان داد که ترکیبات شاخص اسانس شامل پروپنیل سک بوتیل دی سولفید و استن، دی متیل مرکاپتول در هر دو جمعیت یافت می‌شوند علی‌رغم اینکه مقدار آنها در دو جمعیت مورد مطالعه تفاوت هایی را نشان می‌دهد. از طرف دیگر ترکیب ۸-اتیل - ۹،۷،۶،۵،۴ پنتا دکان با مقدار ۱۷/۹٪ به عنوان یکی از ترکیب های شاخص در اسانس جمعیت افغانستانی شناسایی شد، در حالی که در اسانس جمعیت ایرانی یافت نشد. در مقابل این وضعیت برای ترکیب گاما ادیسمول در جمعیت ایرانی وجود دارد به شکلی که این ترکیب با مقدار ۸/۶٪ یکی از مواد اصلی تشکیل دهنده اسانس جمعیت ایرانی است در حالیکه در جمعیت افغانستانی این ترکیب شناسایی نشد. تفاوت های مشاهده شده در مواد تشکیل دهنده اسانس را می‌توان به تاثیر فاکتور های محیطی و اکولوژیکی محل رویش بر ویژگی های رشدی و فیزیولوژیکی گیاهان آنغوزه مورد مطالعه در این پژوهش نسبت داد. در بررسی‌های Nazari و Khajeh Iranshahi و همکاران و امینی و همکاران همانند تحقیق حاضر ترکیب پروپنیل-سک-بوتیل دی سولفید (شکل ۷) از ترکیبات شاخص اسانس آنغوزه ذکر شده است [۹، ۱۴ و ۱۶]. بررسی‌های انجام شده روی پنج

حاصل از پژوهش ما با نتایج سایر محققین از جمله Ahmadvand و همکاران و وهابی و همکاران نشان می‌دهد که قدرت آنتی‌اکسیدانی و میزان فنل و فلاونوئید در جمعیت‌های مورد مطالعه ما در برخی موارد بیشتر و در برخی موارد کم‌تر از جمعیت‌های بررسی شده در مطالعات مذکور است. این تفاوت‌ها نشان می‌دهد که نوع رویشگاه و شرایط اکولوژیک حاکم بر آن از عوامل موثر بر محتوای متابولیت‌های ثانویه در گیاهان است [۲۰ و ۲۱]. همسو با نتایج ما مهرپور و همکاران در سال ۱۳۹۵ بیان کردند که نوع رویشگاه بر قدرت آنتی‌اکسیدانی و میزان فنل و فلاونوئید *Ferula assa-foetida* اثر گذار است به طوریکه در پژوهش آن‌ها جمعیت سمنان در مقایسه با جمعیت خراسان IC_{50} پایین‌تر و محتوای فنل و فلاونوئید بیشتری داشت [۲۲]. نتایج حاصل از این پژوهش با بررسی انجام شده توسط نریمانی و همکاران در سال ۲۰۲۱ مشابهت دارد زیرا در این پژوهش نیز قدرت آنتی‌اکسیدانی و محتوای فنل و فلاونوئید در جمعیت‌های مختلف *Ferula cupularis* با هم تفاوت نشان داد [۲۳]. همسو با نتایج ما مطالعات انجام شده روی *Citrullus colocynthis* L در سه جمعیت کرمان، اراک و اهواز زابل نشان داد که نوع رویشگاه بر قدرت آنتی‌اکسیدانی و میزان فنل و فلاونوئید موثر است به طوری که جمعیت کرمان قدرت آنتی‌اکسیدانی و میزان فنل و فلاونوئید بالاتری در مقایسه با دو جمعیت دیگر دارد [۲۴].

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که قدرت آنتی‌اکسیدانی و میزان فنل و فلاونوئید در دو جمعیت ایرانی و افغانستانی با یکدیگر متفاوت است. در روش DPPH جمعیت ایرانی قدرت آنتی‌اکسیدانی بالاتری داشت در حالی که در روش بتاکاروتن-لینولئیک اسید جمعیت افغانستانی قدرت آنتی‌اکسیدانی بیشتری را نشان داد. این تفاوت‌ها در میزان فنل و فلاونوئید و قدرت آنتی‌اکسیدانی بیان می‌کند که احتمالاً نوع ترکیبات فنلی (یکی از عوامل مهم اثرگذار بر قدرت آنتی‌اکسیدانی) در این دو جمعیت با هم متفاوت است و یا احتمالاً سایر ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مانند ساپونین‌ها و کاروتنوئیدها علت تفاوت در قدرت آنتی‌اکسیدانی این دو جمعیت است.

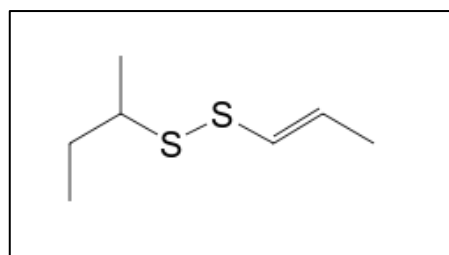


Fig 5. The chemical structure of propenyl sec butyl disulfide as the most important chemical compound of essential oil.

گیاهان در طول زندگی خود توسط آفات و بیماری‌های زیادی از جمله علف خوارها، نماتدها، قارچ‌ها و باکتری‌ها مورد حمله قرار می‌گیرند. لذا برای دفاع از خود، دو ساز و کار دفاع مکانیکی (تولید خارها و کرک‌های سخت، اجسام سیلیسی، سلولز و لیگنین) و شیمیایی (تولید متابولیت‌های ثانویه مانند آلکالوئیدها، گلوکوزینولات‌ها و فنل‌ها) را اتخاذ می‌کنند [۱۶]. به نظر می‌رسد تولید اسانس‌های گوگردی در گیاه آنگوزه ناظر به دفاع شیمیایی گیاه در برابر عوامل پاتوژن و علفخواران باشد.

فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان عمدتاً به دلیل ترکیبات فعال بیولوژیک به ویژه فنل‌ها است. فنل‌ها از لحاظ ساختاری از یک حلقه آروماتیک، یک و یا بیشتر از یک استخلاف هیدروکسیل تشکیل شده‌اند. فعالیت آنتی‌اکسیدانی این مولکول‌ها ناشی از توانایی آن‌ها برای جاروب کردن رادیکال‌های آزاد، دادن اتم‌های هیدروژن یا الکترون یا کلات کردن کاتیون‌های فلزی است [۱۷]. گزارش‌هایی مبنی بر وجود همبستگی بالا بین منشأ جغرافیایی گیاهان و مواد مؤثره گزارش شده است [۱۸]. تغییرات در فاکتورهای اکولوژیکی مانند درجه حرارت، میزان بارندگی، شدت نور و ارتفاع از سطح دریا از جمله مهمترین عوامل محیطی تأثیرگذار در تشکیل، کمیت و کیفیت مواد مؤثره (متابولیت‌های ثانویه) در گیاهان است [۱۹]. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که قدرت آنتی‌اکسیدانی آنگوزه جمعیت‌های ایرانی و افغانستانی و همچنین میزان فنل و فلاونوئید آن‌ها با یکدیگر متفاوت است. مقایسه نتایج

۵- نتیجه گیری

استفاده از اثرات آنتی اکسیدانی آن است کشت جمعیت افغانستانی مناسب تر است.

۶- سپاسگزاری

نویسندگان این مقاله از معاونت پژوهشی و تحصیلات تکمیلی دانشگاه لرستان به دلیل حمایت مالی از انجام این پژوهش تشکر می کنند.

۷-منابع

- composition of *Ferula assa-foetida* L. fruits from Western Iran. *Journal of Reports in Pharmaceutical Sciences*, 2(2), 90-97.
- [8] Nasiri Bezenjani, S., Razavizadeh, R., & Oloumi, H. (2017). Evaluation of content of phenylpropanoid compounds of latex and chemical composition of essential oil of *Ferula assa-foetida* L. in some natural pasturelands of Kerman, Iran. *Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology)*, 30(3), 674-687. (in persian).
- [9] Nazari, Z. E., & Iranshahi, M. (2011). Biologically active sesquiterpene coumarins from *Ferula* species. *Phytotherapy research*, 25(3), 315-323.
- [10] Adams, R., 2001. Identification of essential oil compounds by gas chromatography/ quadrupole mass spectroscopy Carol Stream. Allured Pub, Corp., USA.
- [11] Tepe, B.; Sokmen, M.; Akpulat, H.A.; Sokmen, A. (2006). Screening of the antioxidant potentials of six *Salvia* species from Turkey, *Food Chemistry*, 97, 200-204.
- [12] Amiri, H. (2009). The in vitro antioxidative properties of the essential oils and methanol extracts of *Satureja macrosiphonia* Bornm. *J. Natural. Product. Research*. 25, 232-243.
- [13] Karamian, R.; Azizi, A.; Asadbegy, M; Pakzad, R. (2014) Essential oil composition and antioxidant activity of the methanol extracts of three *Phlomis* species from Iran. *Journal of Biologically Active Products from Nature*, 4, 343-353.
- [14] Khajeh, M., Yamini, Y., Bahramifar, N., Sefidkon, F., & Pirmoradei, M. R. (2005). Comparison of essential oils compositions of *Ferula assa-foetida* obtained by supercritical carbon
- [1] Li, X.; Wang, Z. (2009) Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil in leaves of *Salvia miltiorrhiza* Bunge, *Journal of Essential Oil Research*, 5, 476-488.
- [2] Hashemi, Z., Hojjati, M., & Tahanejad, M. (2015). Evaluation of antioxidant activity of essential oil extracted from *Ferula gummosa* Boiss in deep oil frying. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 11(5), 631-642. (in persian).
- [3] Hemmati Hassan Gavyar, P., & Amiri, H. (2018). Chemical composition of essential oil and antioxidant activity of leaves and stems of *Phlomis lurestanica*. *International Journal of Food Properties*, 21(1), 1414-1422.
- [4] Kiokias, S., Varzakas, T., & Oreopoulou, V. (2008). In vitro activity of vitamins, flavanoids, and natural phenolic antioxidants against the oxidative deterioration of oil-based systems. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 48, 78-93.
- [5] Shahidi, F., & Ambigaipalan, P. (2015). Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects—A review. *Journal of functional foods*, 18, 820-897.
- [6] Amini, H., Naghavi, M., Iranshahi, M., Yazdanfar, N., & Nasiri, J. (2019). Chemical composition of different parts of *Ferula assa-foetida* L. using GC-MS. *Iranian Journal of Field Crop Science*, 50(3), 89-96. (in persian).
- [7] Bahrami, G., Soltani, R., Sajjadi, S. E., Kanani, M. R., Naderi, R., Ghiasvand, N., & Shokoohinia, Y. (2013). Essential oil

- dioxide extraction and hydrodistillation methods. *Food chemistry*, 91(4), 639-644.
- [15] Abyar, S., fakheri, B A., & mahdi nazhad, N. (2019). Ecological factors affecting the South West of the country on the gum and essential oil composition ferula asa foetida. *Plant Process and Function*, 8 (30) :125-135. (in persian).
- [16] Kroymann, J. Donnerhacke, S. Schnabelrauch, D. & Mitchell-Olds, T. (2003). Evolutionary dynamics of an Arabidopsis insect resistance quantitative trait locus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 100: 14587-14592.
- [17] Amarowicz, R., Pegg, R. B., Rahimi-Moghaddam, P., Barl, B., & Weil, J. A. (2004). Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. *Food Chemistry*, 84(4), 551-562.
- [18] Deveci, E., Tel-Çayan, G., & Duru, M. E. (2018). Phenolic profile, antioxidant, anticholinesterase, and anti-tyrosinase activities of the various extracts of *Ferula elaeochytris* and *Sideritis stricta*. *International journal of food properties*, 21(1), 771-783.
- [19] Bertome, J. Isabel Arrillage, M. & Segura, J. (2007). Essential oil variation within and among natural population of *Lavandula latifolia* and its relation to their ecological areas. *Biochemical Systematics and Ecology*, (35): 479-488.
- [20] Ahmadvand, H., Amiri, H., Deghani Elmi, Z., & Bagheri, S. H. (2013). Chemical composition and antioxidant properties of *Ferula-assa-foetida* leaves essential oil. *International Journal of Powertrains*, 12(2), 52-57.
- [21] Vahabil., Shahanipourk., & Monajemi, R. (2014). Short Paper: Antioxidant evaluation and phenolic contents in different extracts of *Ferula assa-foetida* resin in South Khorasan province, *ECO phytochemistry of medicinal plants*, 1(4), 89-100. (in persian).
- [22] Mehrpour, M., Kashefi, B., & Moghadam, M. (2016). Evaluation of phytochemical and antioxidant activity in different parts of *Ferula assafoetida* L. from Semnan and Khorasan provinces, *ECO phytochemistry of medicinal plants*, 4(1), 56-68. . (in persian).
- [23] Narimani, R., Tarakemeh, A., Moghaddam, M., & Mahmoodi Sourestani, M. (2021). Phytochemical variation within aerial parts of *ferula cupularis* populations, an endangered medicinal plant from Iran. *Chemistry & Biodiversity*, 18(12), e2100551.
- [24] Esmaeilzadeh Bahabadi, S., & Yousefzaei, F. (2019). Phytochemical and antioxidant analysis of different parts of *Citrullus colocynthis* L. in different regions from Southeast of Iran. *Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants*, 7(3), 43-52. (in persian).



Chemical composition of essential oil and antioxidant activity of Iranian and Afghanestanian population of *Ferula assa-foetida* L

Hamzeh Amiri^{1*}, Parvaneh Hemmati Hassan Gavyar^{2*}, Seyyed Kazem Hassanzadeh³

1-Professor, department of Biology, Faculty of Science, Lorestan University, Khoram-Abad, Iran

2-PhD student, department of Biology, Faculty of Science, Lorestan University, Khoram-Abad, Iran

3-MSc, department of Biology, Faculty of Science, Lorestan University, Khoram-Abad, Iran

ARTICLE INFO

Article History:

Received: 2023/11/27

Accepted: 2024/4/27

Keywords:

propenyl sec-butyl disulfide,

dimethyl mercaptol acetone,

DPPH,

β -carotene/linoleic acid

DOI: 10.22034/FSCT.21.152.51.

*Corresponding Author E-Mail:

amiri_h_lu@yahoo.com

parvanehemati1371@gmail.com

ABSTRACT

In this study, the essential oil composition, antioxidant activities, phenolic and flavonoid contents, and of methanolic extract of Iranian and Afghanestanian populations of *Ferula assa-foetida* were evaluated. Essential oils were analyzed by using GC and GC/MS, The antioxidant activity were measured by 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl and β -carotene/linoleic acid assay, also phenol and flavonoid content were measured by gallic acid and quercetin as standard compound. Result showed that propenyl sec butyl disulfide (42.72%), acetone, dimethyl mercaptol (14.84%) and gamma- eudesmol (8.6%) were the main compounds found in the Iranian population while; the Afghanestanian population were rich of propenyl sec butyl disulfide (39.61%), acetone, dimethyl mercaptol (18.25%) and 8-ethyl-pentathiadecane (18.97%). In DPPH and β -carotene/linoleic acid tests, Iranian and Afghanestanian populations have stronger antioxidant activity respectively, also, the results demonstrated that the Afghanestanian population have more phenolic and flavonoid contents than the Iranian population. Overall, the results showed that the two populations investigated in this research have differences in terms of the type and percentage of essential oil compounds, antioxidant activity and phenol and flavonoid content. These differences are probably caused by differences in ecological factors such as the habitats of these populations and the influence of these factors on the studied parameters.