مجله علوم و فنون باغبانی ایران جلد ۲۴ شماره ۳ صفحه های ۳۴۵ تا ۳۵۸ (۱۴۰۲)
مقاله پژوهشی

# بررسی ترکیبات فیتوشیمیایی و پتانسیل آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های اتانولی و اتیل‌استاتی سه اکوتیپ گیاه دارویی افسنطین *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 ازجمله آب و هوا، ارتفاع و نور دارد. در این مطالعه، گیاه دارویی افسنطین با نام علمی *Artemisia absinthium* از ۳ ناحیه مختلف ایران جمع‌آوری و پتانسیل آنتی‌اکسیدانی این اکوتیپ‌ها ارزیابی شد. در این پژوهش خواص دارویی ازجمله فعالیت آنتی‌اکسیدانی (با دو روش DPPH و FRAP)، مقدار فنول و فلاونوئید کل در عصاره‌های قطبی (اتانول) و نیمه‌قطبی (اتیل‌استات)، درصد و تنوع ترکیبات اسانس مورد ارزیابی قرار گرفت. اکوتیپ گیلان دارای بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی بود و در مجموع اکوتیپ سمنان کمترین بازداری آنتی‌اکسیدانی را از خود نشان داد و حلال نیمه‌قطبی اتیل‌استات 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 میلی‌مول‌آهن) در روش FRAP به‌دست 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**: افسنطین، 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 روییده 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 قرارگرفته 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[1] 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. درحالی‌که 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 Yazdi *et al*., 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 ازنظر اقتصادی با ارزش می‌باشند؛ در پزشکی، صنعت و به‌عنوان تثبیت‌کننده خاک استفاده می‌شوند (Bora and Sharma, 2011). این گیاه دارویی ازنظر 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 خزرگرفته تا ارتفاعات ۴۰۰۰ متری از سطح دریا گسترش‌یافته است (Bidgoli *et al*., 2013). گیاه افسنطین[2] گیاهی چندساله، با ریشه‌های چوبی که شاخه‌های گل‌دار آن تا یک متر هم می‌رسد. ساقه گل دهنده 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 مونوترپن ها و سزکوئی‌ترپن ها ایجاد می‌شود که دلیل کاربرد آن‌ها در طب بومی می باشد. گونه‌های آرتمیزیا عملکردهای ضدالتهابی، تب بر 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 هم‌جهت 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 تقسیم‌شده است که برای ترمیم زخم، دفع کرم کدو، پادزهر نیش کژدم و پادزهر همه حشرات موذی بیان‌شده است و آن را برای یرقان (زردی) هم مؤثر دانسته‌اند روغن درمنه، در بیماری‌های ازجمله 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 ذکرشده 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 انجام‌پذیرفته است، حدود ۸۴ ترکیب دارویی در گونه‌های *Artemisia* تشخیص داده‌شده 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، فیتواسترول ها، پروتئین‌ها، آمینواسیدها، تانن، ترکیبات فنولیک، فلاونوئیدها گزارش گردیده است و مشاهده‌شده 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 می باشد که متأسفانه مطالعات اندکی ازنظر فیتوشیمیایی مخصوصاً در شرایط یکسان روی آن‌ها صورت پذیرفته است. طی سال‌ها، بیش از ۶۰۰ متابولیت ثانویه در *Artemisia* شناسایی‌شده است که برخی از مواد مؤثره درمنه شامل تانن، پینن، کامفور، آلکالوئید، سینئول و... می‌باشد. متابولیت‌های ثانویه این گیاه اساساً شامل مشتقات کافئیک اسید، فلاونوئیدها، کومارین ها، منوترپن ها، سزکوئی ترپن ها، سزکوئی ترپن لاکتون ها، استرول ها، پلی استیلن ها و آرتمیزینین با خواص بیولوژیکی و دارویی از این جنس استخراج و شناسایی‌شده است (Singh and Sharma, 2020).

---

۱- Asteraceae

۲- *Artemisia absinthium*

بسیاری از بیماری‌های مزمن در افراد که با افزایش سن در ارتباط هستند، به‌صورت مستقیم با استرس یا تنش های اکسیداتیو درگیر بوده که این فرآیند ناشی از تولید بیش‌ازاندازه رادیکال‌های آزاد یا ضعف سیستم دفاعی ارگانیسم موردنظر است. ازجمله این بیماری‌ها می‌توان به تصلب شرائین، سکته مغزی، بیماری‌های عصبی و بیماری التهابی مزمن اشاره نمود. فرآیند اکسیداسیون و تولید رادیکال‌های آزاد و ذرات فعال اکسیژن[1] 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 آنتی اکسیدان های اندوژن 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 ازنظر ویژگی‌های مورفوفنولوژیکی و نیز شیمیایی ناهمگن هستند؛ بنابراین در صورت بهره‌برداری و واردکردن 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 ازنظر 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 ازنظر تیپ‌های شیمیایی مختلف بررسی شوند تا خصوصیت شیمیایی منطقه موردنظر مشخص گردد. همچنین در این مطالعه سعی می شود 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.

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

## تهیه عصاره های گیاهی

جهت اندازه‌گیری‌های فیتوشیمیایی، خواص دارویی از جمله فعالیت آنتی اکسیدانی (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 افسنطین به میزان ۱ گرم پس از توزین، توسط روش ماسراسیون یا خیساندن در مدت زمان ۲۴ ساعت در دمای

۱- Reactive Oxygens Species

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 آنتی‌اکسیدان به روش DPPH**

برای سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی از ۵۰ میکرولیتر از نمونه با غلظت‌های مختلف (۰/۲۵ تا ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) با ۳۵۰ میکرولیتر محلول DPPH (یک میلی‌مولار) 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 آنتی‌اکسیدانی با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$\frac{\text{جذب نمونه کنترل منفی - جذب نمونه}}{\text{جذب نمونه کنترل منفی}} * ۱۰۰$$

**تعیین میزان آنتی‌اکسیدان 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 می‌باشد که در حضور مواد احیا کننده نمونه آزمایشی، کمپلکس آبی رنگ آهن دوظرفیتی تری پیکریدیل تریازین از آهن سه ظرفیتی بی رنگ به وجود می‌آید. محلول FRAP به صورت تازه و از مخلوط کردن به ترتیب بافر استات (۳۰۰ میلی مولار با پی اچ ۳/۶)، محلول TPTZ (10 میلی‌مولار محلول TPTZ در ۴۰ میلی مولار محلول HCl)، محلول کلرید آهن ۲۰ میلی مولار ($FeCl_3.6H_2O$) به نسبت ۱۰۰:۱۰:۱۰ 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 $FeSO_4.7H_2O$ (غلظت ۲۰-۱ میکرومولار) به دست آمد. نتایج بر حسب میکرومول آهن (دوظرفیتی) در گرم وزن خشک ($\mu mol\ Fe^{2+}/g\ DW$) بیان گردید. همه اندازه‌گیری‌ها FRAP و DPPH روش‌های در سه تکرار انجام گرفته و میانگین آن‌ها ثبت گردید.

**تعیین مقدار فنول کل**

محتوای ترکیبات فنولی در عصاره متانولی با استفاده از معرف Folin-Ciocalteu با اندکی تغییرات نسبت به منبع اندازه‌گیری شد، درصورتی‌که هر نمونه جذبی بالاتر از جذب آخرین غلظت استاندارد داشت به نسبت مساوی رقیق گردید و اندازه‌گیری شد تا در رنج استاندارد قرار گرفت. ۲۰ میکرولیتر نمونه، استاندارد گالیک اسید، یا بلانک (آب مقطر یا دیونیزه) را در cuvette ۲ میلی‌لیتری ریخته و به دنبال آن ۱/۵۸ میلی‌لیتر آب اضافه و به دنبال آن ۱۰۰ میکرولیتر فولین سیلیکاتو (FC) ریخته و آن‌ها 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 میلی‌لیتر می‌باشد. جذب نمونه‌ها در طول‌موج ۷۶۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر (Unico, UV-2100, UK) قرائت شد. محتوای ترکیبات فنولی معادل میلی‌گرم 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 اندازه‌گیری شد. ۱۰۰ میکرولیتر عصاره متانولی، ۱۰۰ میکرولیتر آب اضافه مقطر، ۶۰۰ میکرولیتر متانول ۹۵ درصد، ۴۰ میکرولیتر $AlCl_3$ ۱۰٪، ۴۰ میکرولیتر استات پتاسیم ۱ مولار و در آخر ۱۱۲۰ میکرولیتر آب مقطر اضافه و بشدت شیک گردید. بعد از ۴۰ دقیقه جذب نمونه‌ها در طول‌موج ۴۱۵ نانومتر همراه با بلانک قرائت شد. نتایج معادل میلی‌گرم کورستین (QE) در ۱۰۰ گرم DW بر اساس منحنی استاندارد تهیه شده با کاتچین محاسبه گردید، منحنی کالیبراسیون با استفاده از کوئرستین تهیه گردید.

---

۱- Ferric Reducing Antioxidant Potential

**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 فارماکوپه 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 قرارگرفته بود؛ با سرنگ جمع‌آوری و توسط سولفات سدیم بدون آب، آبگیری شدند. پس از آماده‌سازی اسانس و تزریق آن به دستگاه کوپل شدهٔ 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 ۰/۲۵µm) 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.

| | Antioxidant activity against DPPH radical (Mean ± SD[A]) (%) | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Eth[C] | | | | EA[D] | | | |
| (Cod)[B] | 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

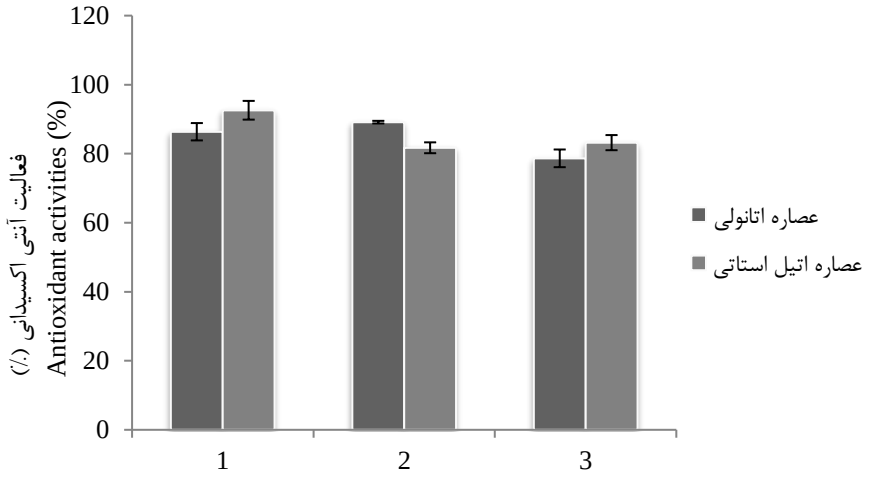
جدول ۳- مقایسه میانگین و انحراف معیار فعالیت آنتی‌اکسیدانی FARP عصاره‌های اتانولی و اتیل‌استاتی.

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

| | فعالیت آنتی‌اکسیدانی در برابر رادیکال FARP (میانگین ± انحراف استاندارد) | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Antioxidant activity against FARP radical (Mean ± SD[A])(µmol $Fe^{2+}$/g DW) | | | | | | | |
| (Code)[B] | 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 |

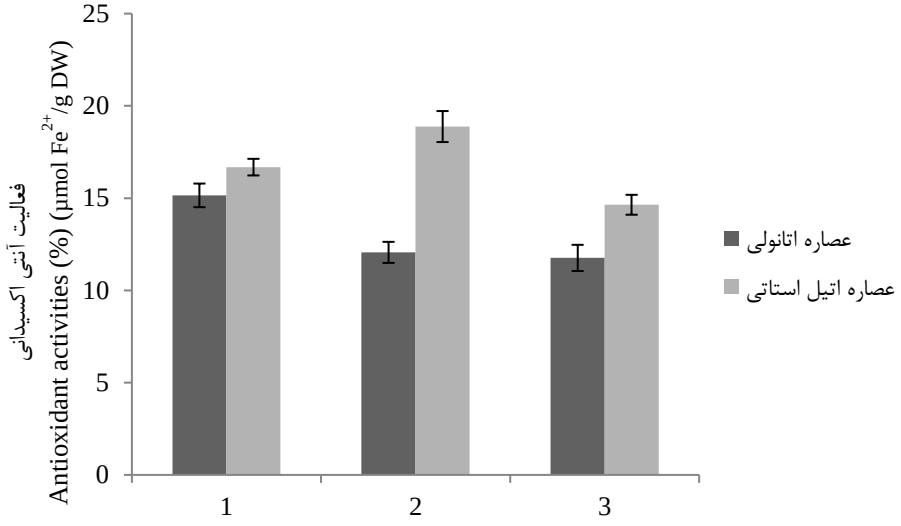
[A] Standard Deviation. [B] Province Code. [C] Ethanol. [D] Ethyl Acetate.
* Minimum ** Maximum

۱- Gas chromatography/mass spectrometry(GC-MS)




شکل ۱- ارزیابی پتانسیل آنتی‌اکسیدانی عصاره قطبی و نیمه قطبی ۳ اکوتیپ گونه افسنطین با روش DPPH – نمونه ۱ جمع‌آوری شده از منطقه گیلان، نمونه ۲ جمع‌اوری شده از منطقه گلستان و نمونه ۳ جمع‌آوری 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 آنتی‌اکسیدانی عصاره قطبی و نیمه قطبی ۳ اکوتیپ گونه افسنطین با روش FRAP- نمونه ۱ جمع‌آوری شده از منطقه گیلان، نمونه ۲ جمع‌اوری شده از منطقه گلستان و نمونه ۳ جمع‌آوری 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 ۲/۷۱± ۹۲/۵۸ درصد دارای بیشترین درصد بازداری را دارد. اکوتیپ سمنان با ۲/۱۹± ۸۳/۲۰ درصد و اکوتیپ گلستان با۱/۵۷± ۸۱/۷۱ درصد بازدارندگی داشتند که در مقابل در عصاره گیری توسط اتانول، اکوتیپ گلستان با ۰/۳۸±۸۹/۱۳ درصد، اکوتیپ گیلان با ۲/۵۱± ۸۶/۳۶ درصد و اکوتیپ سمنان با ۲/۵۶±۷۸/۶۵ 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 ۰/۸۴ ± ۱۸/۸۸(µmol $Fe^{2+}$/g DW)، اکوتیپ گیلان ۰/۴۵± ۱۶/۶۸ (µmol $Fe^{2+}$/g DW) و اکوتیپ سمنان ۰/۵۴ ± ۱۴/۶۴ (µmol $Fe^{2+}$/g DW) در مقایسه با

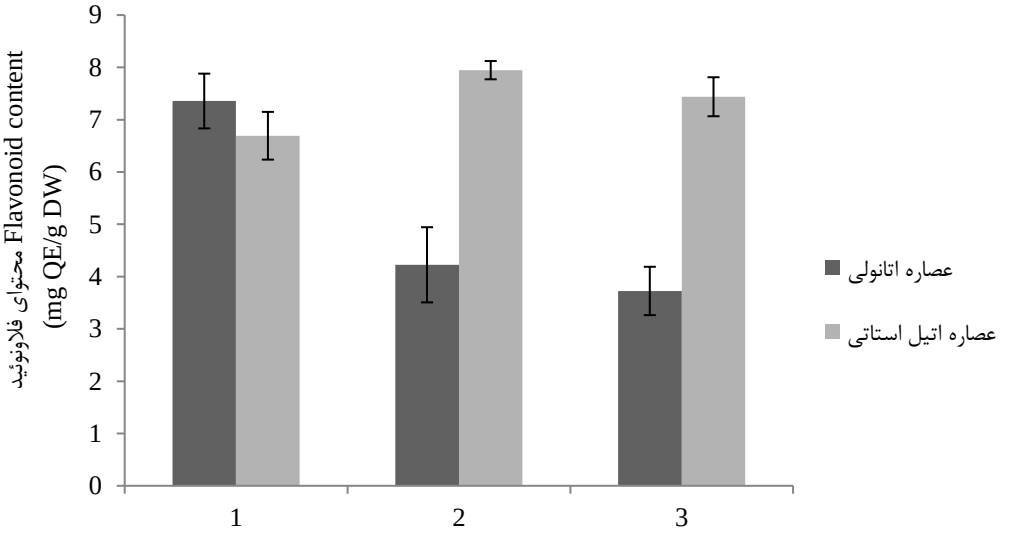
عصاره‌گیری توسط اتانول، اکوتیپ گیلان با۰/۶۴ ± ۱۵/۱۵(µmol $Fe^{2+}$/g DW)، اکوتیپ گلستان ۰/۵۷ ± ۱۲/۰۶ ( µmol $Fe^{2+}$/g DW) و اکوتیپ سمنان با۰/۷۱ ± ۱۱/۷۶ (µmol $Fe^{2+}$/g DW) فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری را نشان می‌دهند.
طبق نتایج حاصل از بررسی فنول و فلاونوئید اکوتیپ‌های افسنطین توسط عصاره قطبی و نیمه 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 اکوتیپ‌های 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.

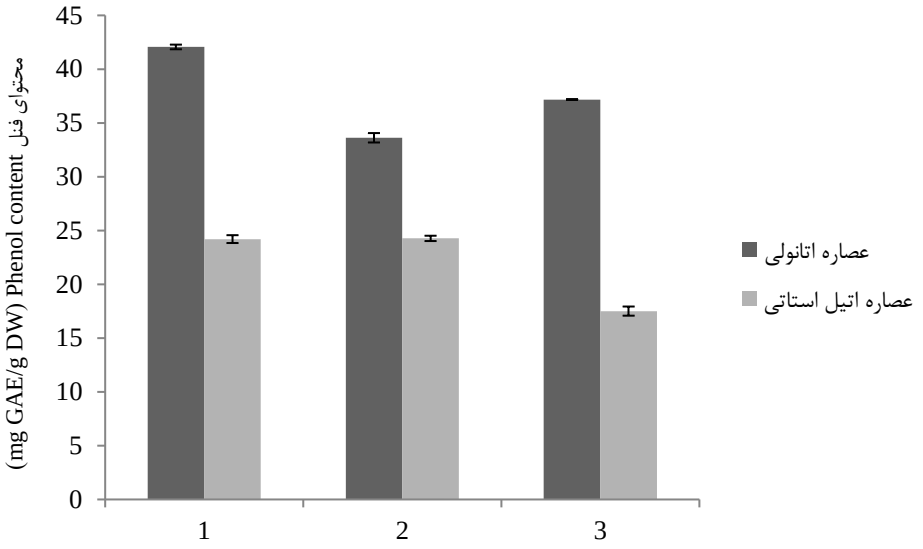
| | تنوع فلاونوئید و فنول ( میانگین±انحراف معیار) Variation in Flavonoid & Phenolic (Mean ± SD[A]) | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | فلاونوئید /Flavonoid (mg QE/g DW) | | | | | | | |
| | عصاره اتانولی /Eth[C] | | | | عصاره اتیل استاتی /EA[D] | | | |
| (Code)[B] | 1 | 2 | 3 | Total | 1 | 2 | 3 | Total |
| | 7.36± 0.52 | 4.23± 0.72 | 3.73± 0.46* | 5.10± 0.57 | 6.69± 0.46 | 7.95± 0.17** | 7.44± 0.37 | 7.36 ±0.33 |
| | فنول /Phenolic (mg GAE/g DW) | | | | | | | |
| | عصاره اتانولی /Eth[C] | | | | عصاره اتیل استاتی /EA[D] | | | |
| | 1 | 2 | 3 | Total | 1 | 2 | 3 | Total |
| | 42.07± 0.22** | 33.62± 0.44 | 37.18 ±0.03 | 37.62 ± 0.23 | 24.20± 0.36 | 24.27 ±0.25 | 17.51± 0.42* | 21.99± 0.35 |

[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 جمع‌آوری شده از منطقه گیلان، نمونه ۲ جمع‌آوری شده از منطقه گلستان و نمونه ۳ جمع‌آوری 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 افسنطین - 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 ۰/۱۷ ± ۷/۹۴ میلی‌گرم معادل کوئرستین بر گرم وزن خشک بیشترین مقدار محتوی فلاونوئیدی را دارد. اکوتیپ سمنان با ۰/۳۷ ± ۷/۴۳ میلی‌گرم معادل کوئرستین بر گرم وزن خشک و اکوتیپ گیلان ۰/۴۵ ± ۶/۶۹ میلی‌گرم معادل کوئرستین بر گرم وزن خشک به ترتیب قابل مشاهده بود، که در مقابل در عصاره گیری توسط اتانول، اکوتیپ گیلان با ۰/۵۲±۷/۳۵ میلی‌گرم معادل کوئرستین بر گرم وزن خشک، اکوتیپ گلستان ۰/۷۱ ± ۴/۲۲ میلی‌گرم معادل کوئرستین بر گرم وزن خشک و اکوتیپ سمنان با ۰/۴۶±۳/۷۲ 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 ۰/۲۱ ± ۴۲/۰۶ میلی‌گرم معادل اسید گالیک بر گرم وزن خشک، اکوتیپ سمنان ۰/۰۳ ± ۳۷/۱۷ و اکوتیپ گلستان با۰/۴۳ ± ۳۳/۶۲ میلی‌گرم معادل اسید گالیک بر گرم وزن خشک، در مقایسه با عصاره‌گیری توسط اتیل استات به ترتیب، اکوتیپ گلستان با ۰/۲۴ ± ۲۴/۲۷ میلی‌گرم معادل اسید گالیک بر گرم وزن خشک، اکوتیپ گیلان ۰/۳۶ ± ۲۴/۲۰ و اکوتیپ سمنان ۰/۴۲ ± ۱۷/۵۱ میلی‌گرم معادل اسید گالیک بر گرم وزن خشک عملکرد بهتری را نشان می‌دهند.

در کل عصاره اتیل استاتی اکوتیپ گلستان با ۰/۱۷ ± ۷/۹۴ 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 ۰/۲۱ ± ۴۲/۰۶ 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.

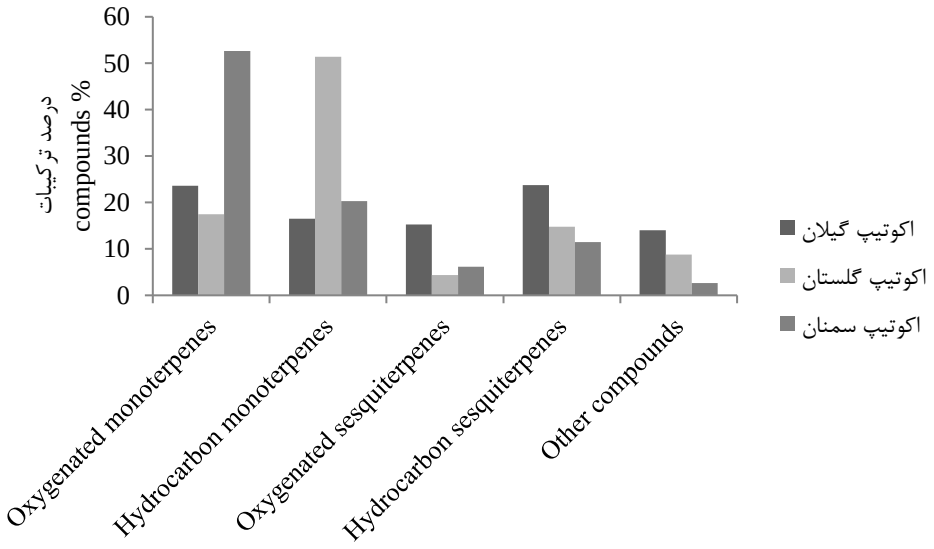
جدول ۵- ترکیب‌های موجود در اسانس ۳ اکوتیپ افسنطین و درصد آن‌ها.

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 افسنطین.

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

بررسی ترکیب‌های مختلف اسانس اکوتیپ‌های افسنطین 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 به‌دست آمده و به ترتیب اکوتیپ گیلان با ۳۴ ترکیب و اکوتیپ گلستان با ۲۸ ترکیب کمترین میزان ترکیب به‌دست 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 معنی دار برتر از عصاره هگزانی بودند و از نظر آماری اختلاف معنی داری 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 گزارش‌شده است (Asgari-kafrani *et al*., 2021). نتایج این پژوهش همانند نتایج پژوهشی درباره ظرفیت پاک‌سازی رادیکال آزاد در دو گونه بررسی‌شده، 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، کارتنوئیدها و بسیاری از ترکیبات فعال دیگر توسط این حلال‌ها دانست (Suzuki *et al*., 2002). به همین دلیل نتایج عصاره های اتانولی و اتیل استاتی تفاوت زیادی با هم ندارند. عوامل مختلفی از جمله قطبیت حلال بر بازده استخراج عصاره اثر می گذارند 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 می دهند.

البته در برخی مطالعات انجام‌شده عصاره‌های غیر قطبی فعالیت بالاتری را نسبت به عصاره‌های قطبی و نیمه قطبی نشان داده‌اند. به‌عنوان‌مثال Lim و همکاران (2002) فعالیت احیاکنندگی FRAP عصاره غیر قطبی دیکلرومتان گونه *Siliquastrum Sargassum* 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 عصاره گیری شده متفاوت می باشد، پس تفاوت اثر آنتی اکسیدانی یک حلال از گونه‌های مختلف به دلیل تفاوت در ترکیبات استخراج‌شده توسط آن حلال می‌باشد (Amirmohammadi, 2020). به‌طورکلی فعالیت مهار آنزیم آلفا آمیلازی و آنتی اکسیدانی علاوه بر نوع گونه گیاهی به نوع حلال و روش سنجش فعالیت آن‌ها، نیز بستگی دارد. اما در پژوهشی که اخیرا پژوهشگران گزارش داده‌اند، در گونه *A. lactiflora* میزان فعالیت مهار آنتی اکسیدانی 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 آنتی اکسیدانی نیز مرتبط می باشد. علاوه بر این، باید توجه داشت که فعالیت آنتی اکسیدانی 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 می تواند 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 گیری ها 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 میلی گرم معادل اسید گالیک ۱۰۰ گرم ماده خشک) و بیشترین محتوای فلاونوئید عصاره اتیل استات (۸۷/۰۴ میلی گرم کوئرستین معادل ۱۰۰ گرم ماده خشک) در درمنه گزارش گردید (Lee *et al*., 2013) که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد. بنابراین کاملا مشهود است که شرایط محیطی بر میزان متابولیت های درمنه کاملا تاثیر می گذارد، که با نتایج پژوهش Kruzinauskaite وRaudone (2021) همخوانی دارد.

از طرفی نتایج این پژوهش نشان داد که بین ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی با فعالیت آنتی اکسیدانی 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 می یابد. در پژوهشی میزان فلاونوئید و مخصوصا فنول در گونه *A. lactiflora* در عصاره های قطبی بیشتر از غیر قطبی به‌دست آمد (Kooltheat *et al*., 2021) که در سنجش فنول با نتایج این پژوهش همخوانی دارد.

با توجه به اینکه اکوتیپ سمنان دارای بیشترین درصد مونوترپن های اکسیژن دار می باشد که این ترکیبات از جمله ترکیبات ارزشمند گیاهی و ایجاد کننده عطر، طعم و رایحه غلیظ در اسانس می باشند، از سوی دیگر دارای بیشترین درصد اسانس در بین اکوتیپ های 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، سزکوییترپن اکسیژنه ۶ درصد بودند. ترکیبات اسانس ها تحت تأثیر عوامل آب و هوایی، جغرافیایی و فصلی و واریتهٔ گیاه تغییر می کند.

به‌دست آوردن گیاهانی که از نظر اجزای اسانس غنی باشند، در صنعت و تولید مواد آرایشی و دارویی بسیار حائز اهمیت می باشد. این اختلاف در درصد تشکیل مواد مؤثره اسانس ها در نقاط مختلف می تواند بدلیل تفاوت های اقلیمی از جمله میزان رطوبت و میزان تابش نور در اکوسیستم های مختلف باشد زیرا عوامل محیطی می توانند باعث کاهش یا افزایش میزان تنفس و فتوسنتز در گیاهان شوند بنابراین تغییر در نوع و میزان ترکیبات ثانویه تفاوت های قابل توجهی را ایجاد می‌نمایند.

## نتیجه گیری

نتایج بررسی حاضر به طور شفاف بیان می کند که گونه افسنطین در اکوتیپ های مختلف غنی از ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی و دارای فعالیت آنتی اکسیدانی خوبی می باشد. از مجموع نتایج به دست آمده می توان این استنباط را نمود که قدرت فعالیت آنتی اکسیدانی به میزان قابل توجهی تحت تأثیر ماهیت حلال، روش استخراج و تعامل این دو بستگی دارد. بااین حال، قدرت استخراج حلال، مهم ترین فاکتور مؤثر بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی محصول می باشد. نتایج این پژوهش نشان داد که نوع حلال و روش استخراج بر کمیت و کیفیت ترکیبات فنولیک اثر می گذارند. 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 ازجمله 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.

## منابع

## 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.

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-ChemicalParameters of Artemisia absinthium and Artemisia annua. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, *1*(6), 229-235.

Bahrami 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., Pessarakli, 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 dracunculus 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 absinthum, 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 inflate 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.

Iranian Journal of Horticultural Science and Technology 24 (3): 345-358 (2023)
Research article

# 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 Aryakia[2]**

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.