مقاله پژوهشي
مجله دانشگاه علوم پزشكي رفسنجان
دوره يازدهم، مرداد و شهريور ۱۳۹۱، ۲۰۶-۱۹۷

بررسي تركيب‌هاي مؤثره و خواص آنتي‌اكسيداني اسانس گياه دارويي زنيان استان يزد

بي‌بي‌فاطمه حقيرالسادات[۱]، عليرضا وحيدي[۲]، مصطفي عظيم‌زاده[۳]، سيدمهدي كلانتر[۴]، فرانسوز برنـارد[۵]، فريبا حكم‌اللهي[۶]

دريافت مقاله: ۹۰/۱/۱۶ ارسال مقاله به نويسنده جهت اصلاح: ۹۰/۳/۷ دريافت اصلاحيه از نويسنده: ۹۰/۵/۵ پذيرش مقاله: ۹۰/۷/۱۶

چكيده

زمينه و هدف: گياه زنيان يكي از گونه‌هاي دارويي است كه داراي خواص درماني زيادي از جمله ضدنفخ، ضدتهوع، خلط‌آور و تسكين دردهاي روماتيسمي مي‌باشد. هدف از اين مطالعه، ارزيابي تركيبات تشكيل‌دهنده و خواص آنتي‌اكسيداني اسانس بذر اين گياه بوده است.

مواد و روش‌ها: در مطالعه‌اي آزمايشگاهي، اسانس بذرها با استفاده از دستگاه كلونجر استخراج و با استفاده از روش‌هاي كروماتوگرافي گازي (Gas Chromatography) و كروماتوگرافي گازي متصل به طيف سنج جرمي (Gas Chromatography-Mass Spectrometry) اجزاي تشكيل‌دهنده آن تفكيك و شناسايي شد. خواص آنتي‌اكسيدان اسانس از طريق روش تخريب راديكال‌هاي آزاد DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) تعيين و مقدار كل تركيبات فنولي موجود در اسانس با روش Follin-Ciocalteu مشخص گرديد. روش‌هاي آماري تجزيه واريانس و مقايسه ميانگين به روش دانكن مورد استفاده قرار گرفتند.

يافته‌ها: بيشترين تركيبات تشكيل‌دهنده اسانس بذر زنيان بومي استان يزد، تيمول (۶۴/۹٪) و گاماترپنين (۱۱/۱٪) مي‌باشد. در اين تحقيق، فعاليت آنتي‌اكسيداني اسانس زنيان بومي استان يزد ميزان IC50 ۰/۷۱۱ ميكروگرم بر ميلي‌ليتر و ميزان تركيبات فنولي ۱۶۲/۶۲ ميلي‌گرم گاليک اسيد بر گرم تشخيص داده شد.

نتيجه‌گيري: پتانسيل بي‌نظير زنيان بومي استان يزد به عنوان يكي از ناشناخته‌ترين گياهان دارويي كشورمان، در كاربردهاي طب سنتي، داروهاي نوين و صنايع مي‌تواند چشم‌انداز روشني در آينده اين گياه ايجاد كند و تجارت، كشت و كار و در نتيجه فرآوري صنعتي- دارويي آن را افزايش دهد.

واژه‌هاي كليدي: زنيان، اثرات دارويي، اسانس بذر، آنتي‌اكسيدان، ماده مؤثره

۱- دانشجوی دکترای تخصصی نانوبیوتکنولوژی، دانشکده علوم و فنون نوین، دانشگاه تهران
تلفن: ۰۳۵۱-۵۲۲۷۳۵۵، دورنگار: ۰۳۵۱-۵۲۲۷۳۵۵، پست الکترونیکی: Hagirosadat@gmail.com
۲- استادیار گروه آموزشی فارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
۳- کارشناس ارشد اصلاح نباتات، گروه آموزشی علوم زراعی و اصلاح نباتات، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران
۴- استاد گروه آموزشی ژنتیک، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
۵- استاد گروه آموزشی فیزیولوژی گیاهی، دانشگاه شهید بهشتی تهران
۶- کارشناس ارشد بیوسیستماتیک، دانشگاه شهید بهشتی تهران

مقدمه

کشور ایران از نظر پوشش و تنوع گیاهی دارای منابع بی‌نظیری است و طب سنتی ایران نیز یکی از غنی‌ترین و پر سابقه‌ترین طب‌های سنتی دنیا به شمار می‌رود. مطالعه بر روی گیاهان دارویی که در مناطق مختلف ایران برای درمان استفاده می‌شود و بررسی‌های آزمایشگاهی و بالینی خصوصیات درمانی آن‌ها یکی از کارهای مهمی است که در این راستا می‌توان انجام داد[۲-۱].

گیاه زنیان (*Trachyspermum copticum*)، گیاهی است علفی، بدون کرک و معطر با ساقه افراشته به ارتفاع ۲۰ الی ۵۰ سانتی‌متر، چتر با تعداد ۸-۶ انشعاب است [۳-۲]. میوه زنیان، کوچک و تخم‌مرغی شکل است و رنگ زرد تیره، معطر و بوی عطر تیمول دارد و میوه آن به صورت خشک و رسیده مصرف می‌شود. اندام دارویی این گیاه را میوه آن تشکیل می‌دهد [۴-۳]. دامنه انتشار، محل رویش این گیاه در ایران، استان‌های سیستان و بلوچستان، آذربایجان، اصفهان، خوزستان، یزد، فارس، کرمان، خراسان است. این گیاه در نواحی مختلف اروپای مرکزی، هندوستان و مصر نیز می‌روید [۶-۵، ۳].

مهم‌ترین ترکیبات آن تیمول، سیمن، آلفاپینن، دی‌پنتن، گاماترپنین، بتاپینن، میرسن و کارواکرول می‌باشد. ترکیبات شیمیایی دیگر آن پروتئین، چربی و کاتیون‌ها شامل سدیم، پتاسیم، آهن، کلسیم، منیزیم، روی، مس و کبالت است [۸-۶]. از زنیان به صورت خوراکی به عنوان ضددرد، ضد آسم، ضدتهوع و خلط‌آور و به صورت موضعی در درمان دردهای روماتیسمی استفاده می‌شود، اثر درمانی بر بیماری‌های جلدی، عصبی و ادراری تناسلی دارد، مدر، ضدنفخ و ضدکرم است [۱۱-۶].

خاصیت ضدکرمی زنیان مربوط به ترکیب تیمول و خاصیت ضداسپاسم و ضد نفخ آن مربوط به اسانس فرار آن است [۹]. تعداد ترکیبات موجود در اسانس این گیاه در منابع مختلف بین ۱۱ تا ۱۷ مورد گزارش شده است. همچنین مقدار تیمول موجود در اسانس در منابع مختلف ۳۹/۳، ۴۵/۲ و ۴۱/۷٪ ذکر گردیده است. در مطالعه‌ای انجام شده بر روی زنیان، درصد تیمول ۴۵/۲٪ و دلتا سیمین ۴۱/۹٪ گزارش شد [۱۴-۱۲].

در مورد بررسی ترکیبات اسانس بذر زنیان بومی استان یزد مطالعه پیشینی در دست نمی‌باشد. اما در مطالعه‌ای، Akbarinia و همکاران ترکیب‌های شیمیایی اسانس ۱۲ نمونه گیاه دارویی زنیان را مورد ارزیابی قرار دادند. در نتایج آن‌ها سه ماده اصلی ترکیب اسانس تیمول، گاماترپنین و پاراسیمین تشخیص داده شدند که بیش از ۸۵٪ اسانس را تشکیل می‌دادند. در بین ۱۲ نمونه بررسی شده زنیان، میزان تیمول ۴۵٪-۴۰٪، گاماترپنین ۳۲٪-۲۸٪ و پاراسیمین ۲۵٪-۱۶٪ بود. [۱۵].

نقش بسیار مهم اکسیژن در فرآیندهای زیستی امروزه بسیار مشهود است و تعادل سیستم‌های اکسایشی و کاهشی مواد در بدن جانداران بسیار مهم می‌باشد. اکسیژن و رادیکال آزاد آن نقش بسیار مهمی در برقراری این چرخه‌ها و تعادل دارند. از سوی دیگر، آنتی‌اکسیدان‌ها در بدن وظیفه خنثی‌سازی فعالیت‌های اضافی رادیکال‌های آزاد از قبیل اکسیژن را بر عهده دارند. یکی از مهم‌ترین انواع آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی، مواد پلی‌فنولی نظیر ویتامین‌ها، رنگدانه‌ها و سایر مواد پلی‌فنولی می‌باشند که خصوصیات ضدموتاسیون، ضدسرطان و کاهش قند خون را دارا هستند [۱۶].

گزارشی از تحقیقی بر روی عصاره ۲۴ گیاه دارویی ایران که شامل زنیان نیز می‌باشد، حاکی از این است که میزان IC50 (غلظتی از ترکیب است که باعث ۵۰٪ بازدارندگی در ظرفیت رادیکالی می‌شود) این گیاه در حدود ۱۴/۳۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر و میزان ترکیبات فنولی کل این گیاه ۹/۱۹۱۲ میلی‌گرم بر گرم می‌باشد [۱۷]. همچنین گروهی دیگر به مطالعه خواص آنتی‌اکسیدان ۷ گیاه از خانواده چتریان پرداختند که مقادیر IC50 ۱۲۶/۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر و مقدار کل ترکیبات فنولی ۴۰/۱۸ میلی‌گرم بر گرم گزارش شد. [۱۸].

با توجه به اهمیت گیاهان دارویی، مخصوصاً گیاهان بومی کشورمان که ناشناخته باقی مانده‌اند، این تحقیق قصد دارد تا با بررسی ترکیبات مؤثره اسانس زنیان سیاه بومی استان یزد و همچنین اندازه‌گیری میزان خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن به شناخته شدن این گیاه کمک نماید و راه را برای تحقیقات آینده داروسازی و کاربردی جهت درمان هموار سازد.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر، مطالعه آزمایشگاهی در مورد گیاه زنیان بومی استان یزد می‌باشد. نمونه‌های زنیان وحشی در اواخر بهار سال ۱۳۸۸ از سه منطقه رویشگاه طبیعی آن در استان (کوه‌های خرانق، کوه‌های شرقی بافق، کوه‌های جنوب غربی بهاباد) توسط کلیدهای معتبر رده‌بندی گیاه‌شناسی شناسایی و جمع‌آوری شدند، سپس برای ۱۰۰ گرم از بذرهای هر نمونه، اسانس‌گیری به روش تقطیر با آب (Hydrodistilation) و با استفاده از دستگاه کلونجر (Clevenger) به مدت ۲ ساعت، انجام شد. [۲۳-۱۹، ۲-۱].

تفکیک و شناسایی ترکیبات اسانس توسط روش‌های کروماتوگرافی گازی و کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی انجام شد. شناسایی ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس با استفاده از شاخص‌های بازداری (retention indices) و بررسی طیف‌های جرمی ترکیبات و مقایسه آنها با طیف‌های جرمی استاندارد موجود در کتابخانه‌های کامپیوتری و مراجع معتبر صورت گرفت. از میان ترکیبات فراوان موجود در عصاره زنیان بومی استان یزد، تعدادی از عمده‌ترین و مهم‌ترین مواد تشکیل‌دهنده این عصاره در این تحقیق مورد بررسی قرار گرفتند که تا ۹۸/۶٪ از کل اسانس را تشکیل می‌دادند [۲۱-۱۹، ۱].

اثر آنتی‌اکسیدانی اسانس‌ها با استفاده از روش اندازه‌گیری کاهش ظرفیت رادیکالی (radical scavenging capacity) به کمک ۲،۲-دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH) مورد ارزیابی قرار گرفت. DPPH ترکیبی است بنفش رنگ که به دلیل حضور گروه‌های فنیل در ساختار آن، به راحتی به صورت رادیکال در آمده و در واقع منبع رادیکال آزاد می‌باشد. این ترکیب با گرفتن یک الکترون از ترکیب آنتی‌اکسیدان، از رنگ بنفش به زرد تغییر رنگ می‌دهد. رادیکال‌های آزاد موجود در DPPH، در ۵۱۷ نانومتر جذب دارند که از قانون بیر لامبرت پیروی می‌کنند و کاهش جذب آن با میزان ماده آنتی‌اکسیدان رابطه خطی دارد. هر چه بر مقدار ماده آنتی‌اکسیدان افزوده شود، DPPH بیشتری مصرف شده و رنگ بنفش بیشتر به سمت زرد میل می‌کند. در این روش، برای مقایسه اثر آنتی‌اکسیدان اسانس از بوتیل هیدروکسی تولوئن (BHT) استفاده شد. نمونه‌های اسانس، با غلظت‌های متفاوت با

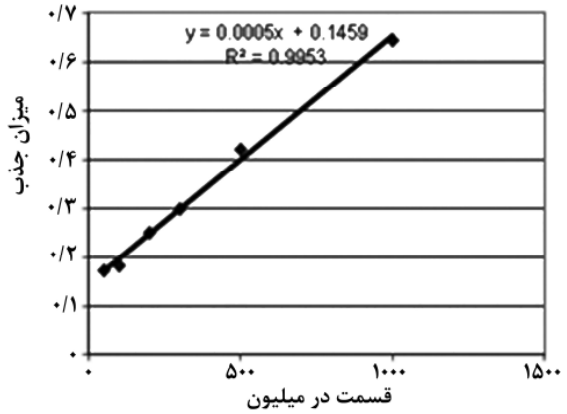
یک میلی‌لیتر از محلول ۹۰ میکرومولار DPPH مخلوط شد و به وسیله متانول ۹۵٪ به حجم ۴ میلی‌لیتر رسید و برای مدت زمان ۶۰ دقیقه در تاریکی تکان داده شد. جذب محلول‌های حاصله و شاهد (حاوی مواد شیمیایی یکسان، به جز نمونه) بعد از این مدت زمان، در طول موج ۵۱۷ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر ساخت شرکت ژاپنی Shimadzu مدل pc 2501 مجهز به لامپ تنگستن و دوتریم (برای اندازه‌گیری جذب در نواحی ماوراء بنفش و مرئی) خوانده شد. درصد RSC به وسیله فرمول زیر محاسبه گردید:

(میزان جذب شاهد/ میزان جذب نمونه – میزان جذب شاهد) × ۱۰۰ = کاهش ظرفیت رادیکالی (٪)

فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس به صورت مقدار IC50، اندازه‌گیری شد. این مقدار، به وسیله آنالیز همبستگی خطی حاصل از مقادیر RSC برای غلظت‌های مختلف نمونه، تعیین شد. نتایج بدست آمده با مقدار IC50 آنتی‌اکسیدان BHT به عنوان کنترل مثبت مقایسه گردید [۲۱-۲۲].

عموماً برای اندازه‌گیری مقدار کل ترکیبات فنولی از روش Follin-Ciocalteu استفاده می‌شود. برای این منظور مقدار ۰/۴ گرم گالیک اسید خشک در ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۶٪ حل گردید و سپس با آب مقطر به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانیده شد. بدین ترتیب محلول مادر تهیه گردید که برای رسم منحنی کالیبراسیون مقادیر ۰، ۱، ۲، ۳، ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی‌لیتر از محلول مذکور به بالن‌های ژوژه ۱۰۰ میلی‌لیتری منتقل و هر یک با آب مقطر به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. این محلول‌ها به ترتیب دارای غلظت‌های ۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر گالیک اسید بودند.

سپس ۲۰ میکرولیتر از اسانس‌ها با غلظت ۱۰ گرم بر لیتر، با ۲ میلی‌لیتر آب مقطر و ۱۰۰ میکرولیتر از معرف Folin-Ciocalteu مخلوط شدند. (بعد از ۳ دقیقه، ۳۰۰ میکرولیتر از محلول کربنات سدیم (۷٪) به آنها اضافه شد و محلول‌ها به مدت ۲ ساعت تکان داده شدند. نهایتاً جذب محلول‌ها در ۷۶۵ نانومتر توسط دستگاه اندازه‌گیری شد. مقدار کل ترکیبات فنولی عصاره‌ها با استفاده از منحنی استاندارد گالیک اسید محاسبه شد (نمودار ۱).



نمودار ۱- منحنی استاندارد گالیک اسید جهت اندازه‌گیری ترکیبات فنولی گیاه زنیان بومی استان یزد [(محور افقی شامل غلظت‌های به کار رفته گالیک اسید (مقدار قسمت در میلیون) و محور عمودی میزان جذب محلول‌ها در طول موج ۷۶۵ نانومتر]

پس از رسم منحنی کالیبراسیون گالیک اسید، معادله خطی منحنی به دست می‌آید که با قرار دادن مقادیر جذب به دست آمده از اسانس‌ها در این معادله می‌توان غلظت معادل گالیک اسید را از اسانس‌ها به دست آورد. غلظت به دست آمده بر حسب قسمت در میلیون (ppm) می‌باشد. پس از تبدیل ppm به میلی‌گرم گالیک اسید، نتیجه نهایی بر حسب میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم خشک اسانس گزارش شد [۲۲-۲۱].

آنالیز آماری این پژوهش شامل تجزیه واریانس داده‌ها برای تیمارهای مقادیر مختلف به کارگیری اسانس زنیان

در آزمون آنتی‌اکسیدان DPPH و همچنین مقایسه میانگین به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن بود که توسط نرم‌افزار SAS نسخه ۹ انجام پذیرفت.

نتایج

نتایج حاصل از بررسی و شناسایی ترکیبات اسانس بذر زنیان با روش‌های کروماتوگرافی گازی و کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی در جدول ۱ به صورت مختصر گزارش شده است (جدول ۱).

جدول ۱- ترکیبات شناسایی شده تشکیل‌دهنده اسانس بذر زنیان بومی استان یزد با روش‌های کروماتوگرافی گازی و کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی

نام ترکیب	درصد ترکیب	زمان بازداری
بتا- پینن	۰/۸۶	۱۱/۸۲۲
سیمن	۲۱/۷۴	۱۳/۴۳
گاماترپنین	۱۱/۱	۱۴/۴۷۸
تیمول	۶۴/۹	
مجموع	۹۸/۶	

در این جدول درصدهای ذکر شده برای چهار ترکیب عمده تشکیل‌دهنده اسانس بذر زنیان بومی استان یزد، میانگین درصد این ترکیبات برای سه جمعیت زنیان نقاط مختلف استان بوده است که تا حد زیادی به یکدیگر نزدیک بودند. همان‌گونه که ملاحظه می‌شود بیشترین ترکیب تشکیل‌دهنده اسانس بذر زنیان بومی استان یزد ماده ارزشمند تیمول، سیمن، گاماترپنین و کمترین ماده تشکیل دهنده اسانس، بتاپنین می‌باشد.

در نتایج تست آنتی‌اکسیدانی اسانس‌ها با استفاده از روش اندازه‌گیری کاهش ظرفیت رادیکالی (RSC) به کمک ۲، ۲-دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH)، میزان IC50 زنیان بومی استان یزد ۰/۷۱۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر تخمین زده شد. اما میزان IC50 کنترل مثبت آزمایش بوتیل هیدروکسی تولوئن (BHT) تقریباً ۰/۰۱۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود که بسیار پایین‌تر از نتایج آنتی‌اکسیدان زنیان بومی استان یزد بود.

غلظت‌های مؤثر مختلف از اسانس زنیان که که ۵۰٪ رادیکال‌های آزاد را تخریب می‌کنند (IC50) به ترتیب ۰/۵، ۱، ۲ و ۳ میکرولیتر بودند که بالاترین درصد تخریب رادیکال‌های آزاد، برای غلظت ۳ میکرولیتر (با ۸۹٪ تخریب رادیکال‌های DPPH) و پایین‌ترین درصد برای ۰/۵ میکرولیتر (با ۵۰٪ تخریب رادیکال‌های آزاد DPPH) می‌باشد. میزان تخریب برای تیمارهای ۱ و ۲ میکرولیتر نیز به ترتیب ۶۰٪ و ۸۳٪ بود.

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها برای تیمارهای مقادیر مختلف به کارگیری اسانس زنیان در تست آنتی‌اکسیدان DPPH رابطه معنی‌داری در سطح اطمینان ۵٪ نشان داد. سپس مقایسه میانگین به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن بین میانگین سه تکرار هر تیمار (مقدار به کارگیری اسانس در آزمایش) انجام گرفت که در نتیجه تیمارها با سطح اطمینان ۵٪ به دو گروه عمده تقسیم شدند. گروه برتر شامل تیمارهای ۳ و ۲ میکرولیتر و گروه دوم شامل تیمارهای ۱ و ۰/۵ میکرولیتر بود. اما در نتایج تست اندازه‌گیری مقدار کل ترکیبات فنولی از روش Follin-Ciocalteu، میزان ترکیبات فنولی زنیان بومی استان یزد با استفاده از منحنی استاندارد گالیک اسید، ۱۶۲/۶۲ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم تشخیص داده شد.

بحث

ترکیبات تیمول، گاماترپنین و سیمن مواد عمده تشکیل‌دهنده اسانس بذر زنیان بومی استان یزد بودند که

نزدیک به ۹۸٪ اسانس را تشکیل می‌دادند. این مقادیر بسیار بالاتر از نتایج بررسی‌های مشابه روی نمونه زنیان از مناطق دیگر است. در تحقیق Akbarinia و همکاران میزان تیمول در نمونه‌های زنیان استان قزوین ۴۵٪-۴۰٪ بود در صورتی که در تحقیق حاضر، بر روی زنیان بومی استان یزد میزان این ماده ۶۵٪ بسیار بالاتر از نتایج تحقیق مشابه استان قزوین می‌باشد. [۱۵]. همچنین مقدار تیمول موجود در اسانس در تحقیقات محققان، ۳۹/۳٪، ۴۵/۲٪ و ۴۱/۷٪ ذکر گردیده است. در مطالعه انجام گرفته بر روی زنیان درصد تیمول ۴۵/۲ و دلتا سیمین ۴۱/۹ گزارش شد [۱۴-۱۲]. در نتایج کنترل مثبت، بوتیل هیدروکسی تولوئن (BHT) بسیار پایین‌تر (حدوداً هفتاد بار کمتر) از نتایج آنتی اکسیدانی زنیان بومی استان یزد بود و این نشان‌دهنده قدرت آنتی‌اکسیدانی زنیان است که به نظر می‌رسد به علت مقدار بالای مواد فنولی مخصوصاً تیمول می‌باشد که امروزه حتی به عنوان آنتی‌بیوتیک نیز استفاده می‌شود.

همان‌گونه که مشاهده می‌شود ترکیب عمده تشکیل‌دهنده اسانس زنیان استان یزد ماده با ارزش تیمول (6-isopropyl-3-methyl phenol) می‌باشد. متأسفانه در مورد شناسایی ترکیبات تشکیل‌دهنده گیاه زنیان، مطالعات پیشینی در دسترس نیست.

خاصیت آنتی‌اکسیدانی غلظت‌های مختلف به کارگیری اسانس زنیان با افزایش غلظت اسانس، افزایش نشان داد. البته این افزایش تا غلظت خاصی به صورت افزایشی است. نتیجه مقایسه میانگین به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن بین میانگین سه تکرار هر تیمار (مقدار به کارگیری اسانس در آزمایش) که تیمارها را به دو گروه عمده تقسیم کرد، نشان‌دهنده برتری خواص آنتی‌اکسیدانی دو تیمار ۲ و ۳ میکرولیتر در مقایسه با دو تیمار یک و ۰۵/ میکرولیتر است. به عبارت دیگر، از نظر آماری بین تیمارهای ۲ و ۳ میکرولیتر و همچنین بین تیمارهای نیم و یک میکرولیتر اختلاف معنی‌داری وجود ندارد. اما بین این دو گروه، با ۹۵٪ اطمینان (سطح معنی‌داری ۵٪) می‌توان گفت که اختلاف معنی‌داری وجود دارد (p=۰/۰۴۰) و به صورت معنی‌داری تیمار ۲ میکرولیتر برتر از تیمار یک میکرولیتر خاصیت آنتی‌اکسیدانی نشان داده است. یعنی افزایش تخریب رادیکال‌های آزاد DPPH با افزایش میزان یک میکرولیتر (از یک به دو میکرولیتر) به میزان ۲۳٪ افزایش می‌یابد. بنابراین، استفاده از میزان ۲ میکرولیتر این اسانس است که صرفه اقتصادی دارد، پیشنهاد می‌گردد.

در مورد بررسی خواص آنتی‌اکسیدان و میزان ترکیبات فنولی اسانس در مقایسه با گزارشات قبلی با مقادیر IC50 ۰/۷۱۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر و میزان ترکیبات فنولی ۱۶۲/۶۲ میلی‌گرم بر گرم اسانس نتایج بسیار بهتری را در مطالعه حاضر نشان می‌دهد [۲۵-۲۴، ۱۸-۱۷]. همچنین در مطالعه‌ای بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های الکلی ۲۴ گیاه دارویی از جمله زنیان جمع‌آوری شده از ایران، مقادیر IC50 اسانس این گیاه ۱۴/۳۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر و مقدار محتوای ترکیبات فنولی کل این گیاه دارویی ۹۱۹/۱۲ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم گزارش شد [۱۷]. در پژوهشی توسط Nikavar و همکاران، به بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های الکلی بذرهای ۷ گیاه خانواده چتریان پرداخته شد و نتایج نشان داد که این گونه دارای مقادیر IC50 ۱۲۶/۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر می‌باشد، همچنین مقدار

کل ترکیبات فنولی ۴۰/۱۸ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم می‌باشد [۱۸].

همان‌گونه که از مقایسه نتایج تحقیق حاضر با تحقیقات پیشین برمی‌آید، با توجه به درصد بسیار بالای تیمول می‌توان از زنیان بومی یزد به عنوان منبعی برای تهیه این ماده ارزشمند در آینده استفاده نمود و حتی شرایط استخراج صنعتی آن را برای استفاده در صنایع داروسازی فراهم نمود. زیرا ماده تیمول دارای ارزش زیادی در صنایع دارویی و بهداشتی بوده و از نظر دارویی اثر کاهش‌دهنده در فشارخون دارد و در درمان بیماری‌های پوستی مانند آکنه، پسوریازیس و درماتیت همراه با سایر ترکیبات فنولی کاربرد دارد [۲۶]. همچنین خاصیت ضد کرمی [۱۰-۹] زنیان که مربوط به ترکیب تیمول آن است می‌تواند همانند طب سنتی کشورمان مورد استفاده در درمان انگل‌های گوارشی قرار گیرد. در مورد بیماری‌های گوارشی خاصیت ضداسپاسم و ضدنفخ آن نیز قابل استفاده است.

میزان IC50 زنیان بومی استان و میزان ترکیبات فنولی آن نیز در مقایسه با سایر تحقیقات اختلاف فاحشی دارا می‌باشد. این اختلاف را می‌توان ناشی از تفاوت تکنیک‌های به کار رفته در تحقیقات مختلف دانست اما از سوی دیگر، توان بالای ژنتیکی زنیان بومی استان یزد مطرح می‌شَود. همچنین در مبحث ترکیبات آنتی‌اکسیدان گیاهان مخصوصاً ترکیبات فنولی آن‌ها که جز متابولیت‌های ثانویه گیاه می‌باشند، تأثیر عوامل محیطی و زیستگاهی – جغرافیایی گیاه بسیار زیاد است. زیرا گیاه در حقیقت این مواد را در واکنش به استرس‌های محیطی (چه زنده و چه غیرزنده) تولید و ذخیره می‌سازد. در نتیجه شرایط جغرافیایی، زیستگاهی، اقلیمی و آب و هوایی در میزان تولید این ترکیبات بسیار مؤثر هستند.

نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق در مجموع نشان داد که اسانس گیاه دارویی زنیان بومی استان یزد دارای مواد ارزشمند دارویی و صنعتی می‌باشد که مهم‌ترین و عمده‌ترین آنها ماده ارزشمند تیمول با درصد بسیار بالایی نسبت به مطالعات پیشین بر روی زنیان مناطق دیگر ایران و جهان می‌باشد. بنابراین، می‌توان از این گیاه بومی استان یزد به عنوان منبعی غنی برای تولید تیمول و مواد ارزشمند دیگر اسانس آن استفاده نمود.

پتانسیل بی‌نظیر زنیان بومی استان یزد به عنوان یکی از ناشناخته‌ترین گیاهان دارویی کشورمان، در کاربردهای طب سنتی، داروهای نوین و صنایع می‌تواند چشم‌انداز روشنی در آینده این گیاه در کشورمان ایجاد کند و تجارت، کشت و کار و در نتیجه فرآوری صنعتی-دارویی آن را افزایش دهد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد و دانشگاه شهید بهشتی که همکاری لازم جهت پرداخت هزینه این طرح را با نویسندگان داشته‌اند، تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

References

[1] Azimzadeh M. Genetic assessment of Iranian *Bunium Persicum* Boiss using ITS. [MSc thesis].Tehran: University of Tehran, *Abourayhan campus* 2009; 81. [Farsi]

[2] Ghasemi N. Iranian herbal pharmacopée. Ministry of health and medical education. *Isfahan, Iran* 2002. [Farsi]

[3] Hedge IC. Lamond JM. *Trachyspermum*. Flora Iranica 1987; 162: 336-8.

[4] Zargari A. Medicinal plants. University of Tehran publication 1988; 739.[Farsi]

[5] Amin Gh. Iranian ancient medicinal plants. Ministry of health and medical education publication 1991; 115. [Farsi]

[6] Mirzavand S. Evaluation and comparison of Macroscopic, microscopic and phytochemical properties of anise, *Foeniculum vulgare* and *Trachyspermum Copticum* fruits. Pharmaceutical thesis. Isfahan University of Medical Science. 1992. [Farsi]

[7] Petal MR, Raj KPS, Agrawal YK. Metal content of Umbellifrerons condiments and drugs. *J Inst Chem* 1979; 51(6): 236-8.

[8] Balbba SI, Hilal SH, Hoggag MY. Active constituents of Ammi majus fruits at different stages. *Plant Mdica* 1973; 23(4): 312-20.

[9] Nadkarinis KM. Indian Materia Medica. Popular prakashan, Bombay. 1976; p: 1028.

[10] Dymock WA history of the principal drugs of vegetable origin in British India. *Pharmacographica India* 1972; 118.

[11] Rojhan M.S. Cure with medicinal plants. Tehran: Atrak Publication. 1982; 129.

[12] Nagulakshmi S, Shankaracharya N.B, Naik J.P, Rao L.J.M. Studies on chemical and technological aspects of ajowan aspects (Trachyspermum ammi). *J Food Sci Techol Mysore* 2000; 39: 277-81.

[13] Krishnamoorth V. Mada lagevio M.B. Trachyspermum ammian essential crop for north persian. *J medic aromatic plant sci* 1999; 4: 996-8

[14] Steveson F, Jonn sron M, Peckie J, Towntey L. Cattle manure as a Corps in zero and conventional tillage systems. *Can J Plant Sci* 1998; 78: 409-10

[15] Akbarinia A, Sefidkon F, Ghalavand A, Tahmasebi Z, Sharifi A. Chemical composition of seed essence of Trachyspermum copticum produced in Qazvin Province. *Scientific Journal of Medical University of Qazvin* 2005; 36: 22-4. [Farsi]

[16] Shun Y.M, Wen Y.H, Yong C.Y, Jian G.S. Two benzyl dihydroflavones from phellinus igniarius. *Chinese Chemical Letters* 2003; 14(8): 810-3.

[17] Souri E, Amin G, Farsam H, Barazandeh Tehrani M. Screening of antioxidant activity and phenolic content of 24 medicinal plant extracts. *Daru* 2008; 16(2): 83-7.

[18] Nikavar B, Abolhasani F. Screening of antioxidant properties of seven umbellifreae fruits from Iran. *Pak. J Pharm Sci* 2009; 22(1): 30-5.

[19] Sefidkon F, Rahimi Bidgoli A. Quantitative and qualitative variation assessment of Thymus kotschyanus essence in plant growth duration and using several instillation methods. *Journal of medicinal and aromatics plant research* 2002; 15(0): 1-22. [Farsi]

[20] Haghiroalsadat F, Bernard F, Kalantar SM, Sheikhha MH, Hokmollahi F, Azimzadeh M, et al. *Bunium persicum* (Black Caraway) of Yazd province: Chemical assessment and Evaluation of its Antioxidant Effects. *Journal of Shaheed Sadoughi University of Medical Sciences* 2010; 18(4): 284-91.[Farsi]

[21] Haghiroalsadat F. The chemical assessment of seed essence and the Comparison of antioxidant effect among three native medicinal plants of the Yazd province (*Bunium persicum* Boiss., *Cuminum cyminum* L., *Trachyspermum copticum* L.). Shahid Beheshti University. Faculty of Biosciences. MSC Thesis 2010.[Farsi]

[22] Hokmollahi F. Collection, identification and culture of medicinal fungi phellinus from iran and study of phytochemical antibacterial and antioxidant effects. Shahid Beheshti University. Faculty of Biosciences. *MSC Thesis* 2010.[Farsi]

[23] Jepson WL, Hickman JC. The Jepson manual: higher plants. University of California Press. 1993; 1400.

[24] Jungnickel C. Gas Chromatography Chromatography Laboratory Course. Beremen university 2005; 8:12.

[25] Alencar J.W, Craveiro A.A, Matos F.J.A. Kovats indices simulation in essential oil analysis. *Quimica Nova* 1990; 13:4.

[26] Sivastava M, Saxena A, Baby P. GC-MS investigation and antimicrobial activity of the essential oil of *Carum copticum*. *Acta Alimentoria* 1999; 28(3): 291-5.

Chemical Assessment of Active Ingredients and Anti-oxidant Effects of *Trachyspermum Copticum's* Seeds harvested in Yazd Province

B.F. Haghiroalsadat[1], A.R. Vahidi[2], M. Azimzadeh[3], S.M. Kalantar[4], F. Bernard[5], F. Hokmollahi[6]

Received: 05/04/2011 Sent for Revision: 28/05/2011 Received Revised Manuscript: 27/07/2011 Accepted: 08/10/2011

Background and Objectives: *rachyspermum copticum* as a medicinal plant has many therapeutic properties including; anti-flatulence, anti-emesis, anti- rheumatism and expectorant. The goal of this study was to identify the active ingredients and anti-oxidant effects of *Trachyspermum Copticum's* seeds harvested in Yazd province.

Materials and Methods: The essence of the seeds was first extracted by Clevenger apparatus. The active components of the essence were then separated and identified by gas chromatography (GC) and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) methods. The anti-oxidant effect was determined by DPPH (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) test as the half maximal inhibitory concentration (IC_{50}) and the total amount of phenolic components of the essence was quantified utilising the Follin-Ciocalteu method.

Results: The results of this study revealed that thymol (64.9%) and γ-Terpinene (11.1%) were the most prevalent components of the essence. Also, the anti-oxidant activity and the total amount of phenolic component of the essence were 0.711μg/ml^{-1} and 162.62 mg/g^{-1} resepectively.

Conclusion: The result of this research indicated that the active ingrediebts of native *Trachyspermum copticum* harvested in Yazd province were much higher than the ones found in *Trachyspermum copticum* harvested in other places.

Key words: *Trachyspermum Copticum*, Therapeutic Effects, Seed essence, Antioxidant, active ingrediernts

Funding: This research was founded by Shahid Sadoughi University of Medical sciences, Yazd and Shahid Beheshty University of Tehran.

Conflict of interest: None declared.

Ethical approval: There is no human patient sampling in this article.

How to cite this article: Haghiroalsadat BF, Vahidi AR, Azimzadeh M, Kalantar SM, Bernard F, Hokmollahi F. Chemical Assessment of Active Ingredients and Anti-oxidant Effects of *Trachyspermum Copticum's* Seeds harvested In Yazd Province. *J Rafsanjan Univ Med Scie* 2012; 11(3): 197-206. [Farsi]

1- PhD Student in Nanobiotechnology, Faculty of New Sciences and Technologies, University of Tehran, Tehran, Iran (Corresponding Author) (0351) 5227355, Fax:(0351) 5227355, E-mail: Hagirosadat@gmail.com
2- Assistant Prof., Dept. of Pharmacology, Sahahid Sadoughi Medical University, Yazd, Iran
3- MSc. in Plant Breeding, Abourayhan Campus, University of Tehran, Tehran, Iran
4- Prof., Dept. of Genetic, Shahid Sadoughi University of medical sciences, Yazd, Iran
5- Prof., Dept. of Bioscience Engineering, University of Shahid Beheshti, Tehran, Iran
6- MSc. in Plant Biosystematic, University of Shahid Beheshti, Tehran, Iran