# تعیین مقدار آزادیراختین موجود در *Melia azedarach* و *M. indica*

**مهناز خانوی[۱]، طاهره حسنلو[۲]، هما حاجی مهدی‌پور[۳]***

۱- دانشیار، گروه فارماکوگنوزی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۲- استادیار، بخش فیزیولوژی مولکولی، پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

۳- دانشیار، مرکز تحقیقات طب سنتی و مفردات پزشکی و گروه داروسازی سنتی، دانشکده طب سنتی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

*آدرس مکاتبه: تهران، خیابان ولیعصر، نرسیده به میدان ونک، روبروی توانیر، کوچه شمس، دانشکده طب سنتی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، گروه داروسازی سنتی

تلفن و نمابر: ۸۸۷۷۳۵۲۱ (۰۲۱)

پست الکترونیک: hajimehd@sbmu.ac.ir

**تاریخ دریافت:** ۹۷/۳/۷ **تاریخ تصویب:** ۹۷/۶/۵

## چکیده

**مقدمه:** گیاهان ***Melia indica*** (چریش) و ***M. azedarach*** (زیتون تلخ) در طب سنتی مصرف فراوان دارند. این‌دو گیاه به عنوان حشره‌کش طبیعی معروف هستند. ماده عمده موجود در آنها آزادیراختین بوده که شاخص کنترل کیفیت این گیاهان محسوب می‌شود.

**هدف:** در این تحقیق، میزان آزادیراختین موجود در برگ و میوه (میوه کامل، پوست میوه، پالپ و دانه) دو گیاه مذکور به روش **HPLC** تعیین شده است.

**روش بررسی:** برگ‌ها و میوه‌های گیاه چریش از بندرعباس و گیاه زیتون تلخ از گرگان جمع‌آوری و شناسایی شدند. قسمت‌های پوست، پالپ و دانه میوه از یکدیگر جدا شده و آسیاب شدند. ۱۰۰۰ میلی‌گرم از پودر توسط متانول عصاره‌گیری شد. میزان آزادیراختین موجود در نمونه‌ها توسط دستگاه **HPLC** با ستون $C_{18}$، فاز متحرک استونیتریل: آب ۴۰:۶۰، سرعت جریان **۱ ml/min**، طول موج **۲۲۷ nm** و به مدت ۶ دقیقه اندازه‌گیری شد.

**نتایج:** نتایج نشان دادند که میزان آزادیراختین موجود در میوه کامل دو گیاه به طور قابل توجهی بیشتر از برگ می‌باشد. در میان میوه های دو گیاه، میوه چریش حدود دو برابر آزادیراختین بیشتری از زیتون تلخ داشت. میزان این ماده لیمونوئیدی در دانه چریش بیشتر از پالپ و پوست میوه بوده در حالی که در مورد زیتون تلخ در پوست میوه بیشتر و در دو قسمت دیگر تقریباً ناچیز بود.

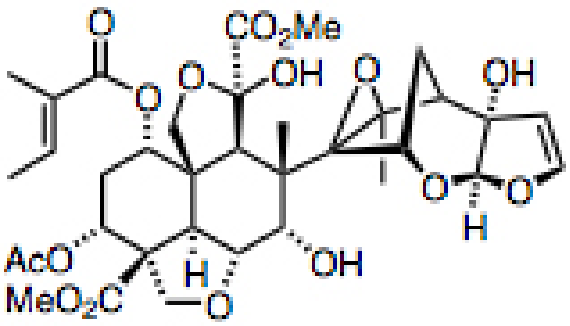
**نتیجه‌گیری:** برای استفاده از گیاه جهت اثرات حشره‌کشی باید از پوست میوه زیتون تلخ استفاده نمود در حالی که در مورد چریش بهتر است عصاره‌گیری از میوه کامل انجام شود.

**گل‌واژگان:** آزادیراختین، چریش، زیتون تلخ، **HPLC**

## مقدمه

جنس *Melia* از خانواده Meliaceae بوده که دارای دو گونه در ایران می‌باشد. گونه *M. azedarach* L. (زیتون تلخ) درختی است که در مناطق مختلف شمال ایران می‌روید و امروزه در بعضی مناطق به صورت زینتی کاشته شده است [۱]. قسمت‌های مختلف این درخت به عنوان مقوی، نیرودهنده، قابض، تب‌بر، ضد اسکوربوت و ضد کرم استفاده می‌شوند [۲] و نیز سالیان زیادی است که مصرف حشره‌کشی دارند [۳]. میوه‌ها اثرات ملین، مسهل و ضد کرم داشته و در سوء هاضمه، کولیک و التهابات گوارشی و نیز سل و جذام مورد استفاده قرار می‌گیرند. همچنین به عنوان یک ماده تونیک مصرف می‌شوند. دانه‌ها دارای اثرات ضد کرمی، اکسپکتورانتی و آفرودیازیکی بوده و در آلودگی‌های کرمی، تب‌های تیفوئیدی، دردهای ناحیه پلویک، اختلالات سیستم ادراری و روماتیسم کاربرد دارند. روغن به دست آمده از دانه‌ها به صورت موضعی در اختلالات پوستی مصرف می‌شود [۴]. تحقیقات زیادی بر روی مواد متشکله و نیز اثرات گیاه زیتون تلخ صورت پذیرفته است. این تحقیقات نشان داده‌اند که قسمت‌های مختلف گیاه غنی از ترکیبات لیمونوئیدی می‌باشند. میوه‌ها شامل وانیلین، اسید سینامیک، بتا سیتوسترول، لوپئول، آزادیرین، باکایانین، باکالاکتون، مارگوزین، آزادیرون، ملیارتنین، ملیانول، ملیانون و دیگر ترکیبات لیمونوئیدی است [۹-۵]. آزادیراختین (شکل شماره ۱) مهم‌ترین لیمونوئید موجود در این گیاه است که اثرات ضد تغذیه لارو حشرات دارد [۶].

گونه *Melia indica* (Adr. Juss.) D. Brandis درختی زیباست که در مناطق جنوبی ایران (استان‌های هرمزگان و بلوچستان) به فراوانی کاشته شده است. این گیاه با نام فارسی چریش معروف می‌باشد [۱]. چریش نیز در طب سنتی قسمت‌های مختلف دنیا به کار می‌رود. افشرده گیاه برای افزایش دادن اشتها، کاهش تب و دفع کرم‌های روده‌ای مصرف می‌شود. روغن گیاه و عصاره برگ و پوست گیاه جهت کنترل بیماری‌هایی مانند جذام، کرم‌های روده‌ای، اختلالات تنفسی، یبوست و عفونت‌های پوستی استفاده می‌شود [۱۰]. اثرات فارماکولوژیک متعددی متعددی نیز از این گیاه گزارش شده است مانند اثرات ضد ویروس [۱۱]، ضد باکتری [۱۲]، ضد قارچ [۱۳]، ضد التهاب و ضد تب [۱۴] و اثرات آنتی اکسیدانی [۱۶، ۱۵]. طیف وسیعی از ترپنوئیدها از گیاه چریش جدا شده‌اند [۱۸، ۱۷]. همچنین گروه‌های دیگر ترکیبات شامل هیدروکربن‌ها، ترکیبات آروماتیک، ترکیبات فنلی، کومارین کومارین‌ها، ایزوکومارین‌ها، فلاون‌ها، اسیدهای چرب و استرهای آنها و نیز سولفیدها نیز در این گیاه دیده شده‌اند [۲۱-۱۹، ۱۷]. اثر حشره‌کشی درخت چریش در سال ۱۹۶۶ کشف شد [۲۳، ۲۲]. اگرچه قسمت‌های مختلف این درخت خاصیت کنترل حشرات را دارند اما دانه‌های گیاه به عنوان منبع تولید حشره‌کش‌های صنعتی می‌باشند [۲۴]. ترکیبات متعددی در گیاه با اثرات حشره‌کشی شناخته شده شده‌اند ولی مهم‌ترین ماده مؤثره آزادیراختین است [۲۵]. این ترکیب روی تعداد زیادی از آرتروپودها (arthropods)، نماتودها (nematodes) و آنلیدها (annelids) مؤثر بوده [۲۲] و نیز روی سیستم هاضمه، اندوکرین و تولیدمثل حشرات اثرگذار است [۲۲]. سالهاست که این گیاه به عنوان حشره‌کش طبیعی شناخته می‌شود [۲۶]. نظر به اهمیت آزادیراختین در بروز خواص حشره‌کشی گیاه، در این تحقیق این ماده جهت بررسی انتخاب شده است تا میزان آن در برگ و میوه دو گیاه زیتون تلخ و چریش موجود در ایران تعیین شود. به علاوه قسمت‌های پوست میوه، پالپ میوه و نیز دانه به طور جداگانه بررسی شده‌اند.




**شکل شماره ۱- ساختار ماده آزادیراختین**

## مواد و روش‌ها

### جمع آوری گیاه

میوه و برگ‌های گیاه *Melia indica* از بندرعباس و گیاه *Melia azedarach* از گرگان در تابستان (مرداد ماه) جمع‌آوری و شناسایی شدند. میوه‌ها و برگ‌ها در سایه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ روز خشک شده و توسط آسیاب پودر شدند. به علاوه قسمت‌های پوست، پالپ و دانه میوه از یکدیگر جدا شده و آسیاب شدند.

### عصاره‌گیری

۱۰۰۰ میلی‌گرم از پودر هر نمونه به دقت وزن شده و در بالن ژوژه ۵ میلی‌لیتری با متانول به حجم رسانده شد. مخلوط حاصله به مدت ۲۰ دقیقه در دستگاه اولتراسونیک قرار گرفت. سپس به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ شد و محلول رویی مورد استفاده قرار گرفت و توسط صافی ۰/۴۵ µm صاف شد. از هر نمونه سه بار عصاره‌گیری شده و هر یک سه بار به دستگاه HPLC تزریق شدند. لازم به ذکر است که پس از بررسی اولیه پاسخ دستگاه به هر نمونه، نمونه‌ها در صورت لزوم به مقداری کافی رقیق شدند تا سطح زیر منحنی حاصله از هریک در محدوده خطی منحنی کالیبراسیون قرار گیرد.

### تهیه محلول‌های استاندارد آزادیراختین

محلول استوک با غلظت ۱۰۰۰ µg/ml از ماده استاندارد آزادیراختین (شرکت ROTH کشور آلمان) در حلال متانول تهیه شد. سپس از این محلول، محلول‌هایی با غلظت ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰ و ۵۰ µg/ml تهیه شد.

لازم به ذکر است که از هر غلظت ۲ نمونه تهیه شده و هریک سه بار به دستگاه HPLC تزریق شدند.

### شرایط دستگاه HPLC

دستگاه HPLC مارک Knauer مدل Smart line با دتکتور UV 2600 مدل D-14163 Berlin با مشخصات زیر مورد استفاده قرار گرفت:

ستون: $C_{18}$ (AQ, ACE, 250×4.6 mm; 5µm)، فاز متحرک: استونیتریل: آب به نسبت ۴۰:۶۰، سیستم: ایزوکراتیک، سرعت جریان فاز متحرک: ۱ ml/min، طول موج دتکتور UV: ۲۲۷ نانومتر، Run time: ۶ دقیقه [۲۷].

### رسم منحنی کالیبراسیون آزادیراختین

۲۰ میکرولیتر از هر یک از محلول‌های استاندارد آزادیراختین (۱۰-۵۰ µg/ml) به دستگاه HPLC تزریق شد و سطح زیر منحنی پیک آزادیراختین محاسبه شد. منحنی سطح زیر منحنی پیک آزادیراختین در برابر غلظت رسم شد.

### تعیین مقدار آزادیراختین در نمونه‌ها

۲۰ میکرو لیتر از هر یک از نمونه‌ها با شرایط ذکر شده به دستگاه HPLC تزریق شد و محل پیک مربوط به ماده آزادیراختین با مقایسه با کروماتوگرام محلول استاندارد تعیین

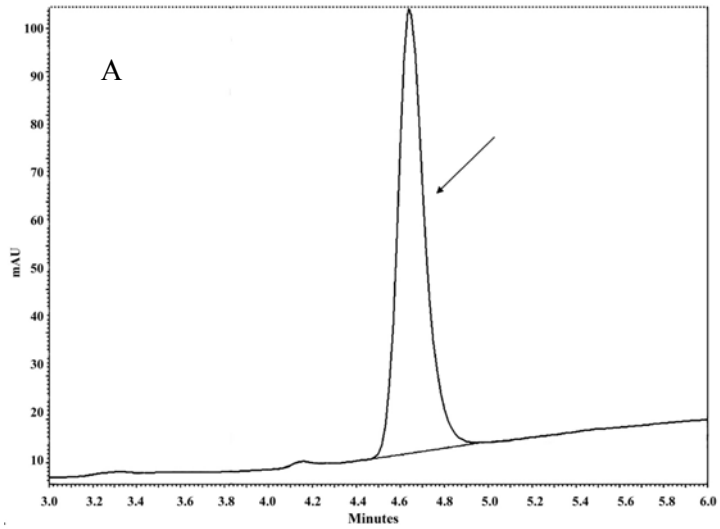
شد. سپس با استفاده از سطح زیر منحنی پیک آزادیراختین در هر کروماتوگرام نمونه و با استفاده از منحنی کالیبراسیون آن میزان این ماده در هر یک از نمونه‌ها تعیین شد.

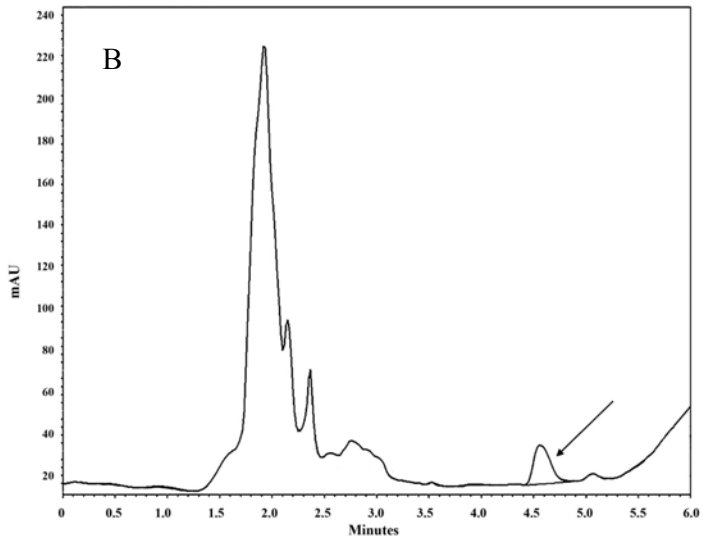
## نتایج

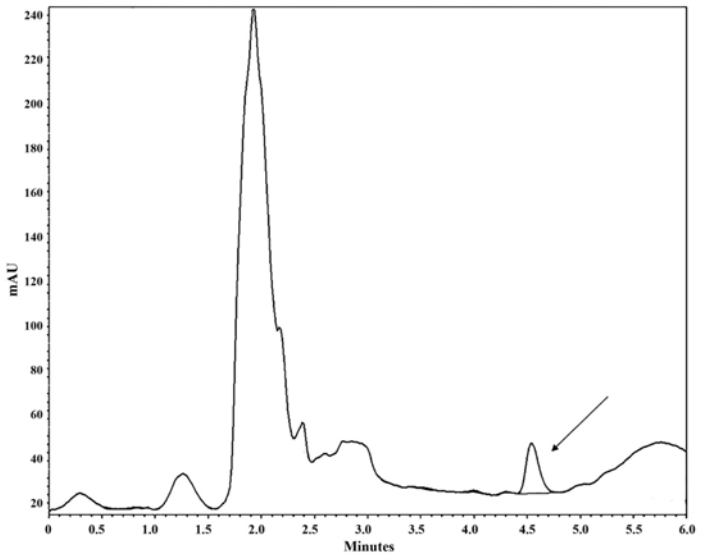
کروماتوگرام‌های HPLC ماده استاندارد آزادیراختین و دانه گیاه *M. indica* (به عنوان نمونه) در شکل شماره ۲ دیده می شوند. همانگونه که مشاهده می‌شود پیک ماده آزادیراختین در زمان بازداری حدود ۴/۷ دقیقه در کروماتوگرام‌ها وجود دارد.

پس از رسم منحنی سطح زیر پیک در برابر غلظت آزادیراختین معادله خط $y=135.7x+57.4$, $R^2=0.998$ به دست آمد. حداقل غلظت قابل تشخیص (LOD) و حداقل غلظت قابل اندازه‌گیری (LOQ) آزادیراختین با استفاده از منحنی کالیبراسیون آن و معادلات $3.3\delta/s$ و $10\delta/s$ به ترتیب ۲/۵۶ /μg/ml و ۷/۷۶ محاسبه شدند.

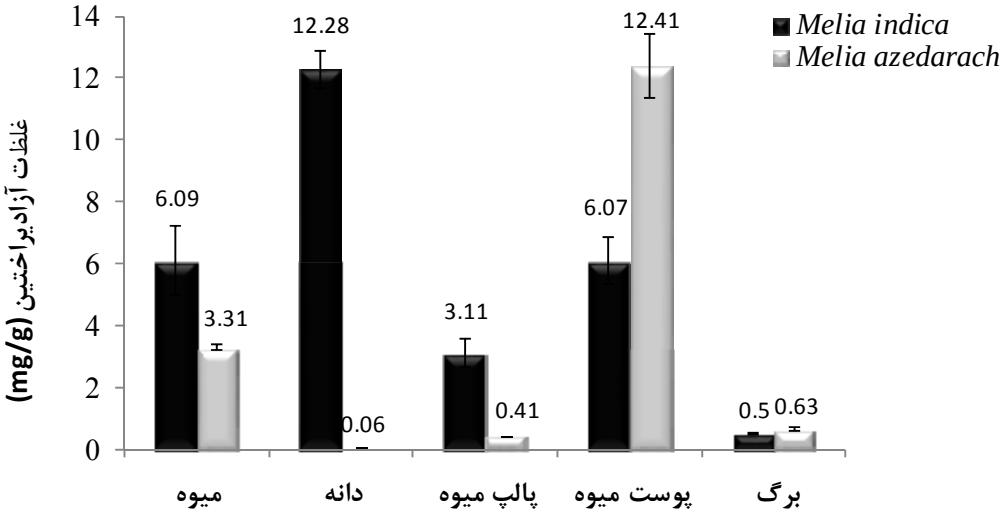
غلظت آزادیراختین در نمونه‌های مختلف *M. indica* و *M. azedarach* در نمودار شماره ۱ و جدول شماره ۱ آورده شده است.






**شکل شماره ۲- کروماتوگرام HPLC استاندارد آزادیراختین (A)، دانه *Melia indica* (B)، پوست میوه *Melia azedarach* (C)**




**نمودار شماره ۱- غلظت آزادیراختین بر حسب میلی‌گرم در هر گرم از وزن خشک گیاه در قسمت‌های مختلف دو گیاه *Melia indica* و *M. azedarach***

**جدول ۱**- غلظت آزادیراختین در قسمتهای مختلف دو گیاه *M. indica* و *M. azedarach*

| ردیف | نام گیاه | قسمت مورد استفاده | غلظت آزادیراختین (mg/g dried weight) | | | میانگین±انحراف استاندارد |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | نمونه ۱ | نمونه ۲ | نمونه ۳ | |
| ۱ | ***Melia indica*** | میوه | ۷/۳۴ | ۵/۸۰ | ۵/۱۴ | ۶/۰۹±۱/۱۳ |
| ۲ | | دانه | ۱۲/۷۹ | ۱۲/۴۳ | ۱۱/۶۳ | ۱۲/۲۸±۰/۵۹ |
| ۳ | | پالپ میوه | ۲/۹۵ | ۳/۶۲ | ۲/۷۵ | ۳/۱۱±۰/۴۶ |
| ۴ | | پوست میوه | ۶/۹۲ | ۵/۴۳ | ۵/۸۵ | ۶/۰۷±۰/۷۷ |
| ۵ | | برگ | ۰/۵۲ | ۰/۴۸ | ۰/۴۹ | ۰/۵۰±۰/۰۲ |
| ۶ | ***Melia azedarach*** | میوه | ۳/۳۳ | ۳/۳۹ | ۳/۲۱ | ۳/۳۱±۰/۰۹ |
| ۷ | | دانه | ۰/۰۶ | ۰/۰۶ | ۰/۰۶ | ۰/۰۶±۰/۰۰ |
| ۸ | | پالپ میوه | ۰/۴۲ | ۰/۴۱ | ۰/۴۱ | ۰/۴۱±۰/۰۱ |
| ۹ | | پوست میوه | ۱۱/۶۴ | ۱۳/۵۹ | ۱۲/۰۰ | ۱۲/۴۱±۱/۰۴ |
| ۱۰ | | برگ | ۰/۵۵ | ۰/۶۷ | ۰/۶۶ | ۰/۶۳±۰/۰۷ |

## بحث

جنس *Melia* در ایران دارای دو گونه است که یکی در شمال ایران رویش دارد و دیگری در جنوب کاشته می‌شود [۱]. ایندو گونه به خاطر خاصیت حشره‌کشی آنها به صورت سنتی مورد استفاده قرار می‌گیرند [۳]. یکی از ترکیباتی که خاصیت حشره کشی آن اثبات شده است ماده آزادیراختین است که ساختار لیمونوئیدی دارد. این ماده در هر دوگونه وجود داشته و یکی از شاخص‌های کنترل کیفیت این دو گیاه محسوب می‌شود [۲۶]. در این تحقیق، مقدار این ماده در قسمت‌های برگ و میوه دو گیاه زیتون تلخ و چریش تعیین شده به علاوه مقدار این ماده در قسمت‌های مختلف میوه شامل پوست، پالپ و دانه نیز به طور جداگانه بررسی شده است.

از مقایسه نتایج به دست آمده چنین برمی آید که میزان ماده آزادیراختین در میوه دو گیاه بیشتر از برگ آنهاست (۶/۰۹ mg/g و ۳/۳۱ در برابر ۰/۵ mg/g و ۰/۶۳) که این افزایش مقدار قابل توجه می‌باشد. از میان میوه دو گیاه نیز میوه گیاه چریش مقدار آزادیراختین بیشتری در مقایسه با میوه زیتون تلخ دارد (حدود دو برابر). نگاهی به تحقیقات گذشته نشان می‌دهد که بیشترین مطالعات روی دانه‌های این گیاهان صورت گرفته و اثرات ضد لارو حشرات مثل لارو پشه آنوفل [۵]، لارو پشه حامل تب دانگ [۲۸] و نیز اثرت ضد تغذیه حشرات [۲۹] از دانه گزارش شده است. همچنین اثبات شده است که بیشتر این اثرات مربوط به لیمونوئیدهای گیاه به خصوص آزادیراختین موجود در آن است [۳۰، ۶]. زیادتر بودن میزان آزادیراختین در میوه دو گیاه مذکور نسبت به برگ آن علت کاربرد دانه این گیاه به عنوان حشره‌کش می‌باشد. به طور معمول غلظت لازم جهت بروز اثرات حشره‌کشی آزادیراختین ppm ۱۰-۱ است [۳۱]. با توجه به مقادیر بالای آزادیراختین در میوه زیتون تلخ و چریش می‌توان محصول مناسبی را از این دو گیاه به صورت صنعتی تهیه نمود. نگاهی به نتایج آشکار می‌سازد که گرچه میزان آزادیراختین در دانه زیتون تلخ کمتر از چریش است ولی مقدار این ماده در میوه گیاه قابل توجه می‌باشد. از میان قسمت های مختلف میوه گیاه زیتون تلخ، دانه آن دارای حداقل مقدار آزادیراختین (۰/۰۶ mg/g) و پوست آن دارای حداکثر مقدار این لیمونوئید می‌باشد (۱۲/۴۱ mg/g). مقایسه میزان آزادیراختین در قسمت‌های مختلف میوه گیاه چریش نشان می دهد که در این گیاه میزان این ماده در دانه حداکثر (۱۲/۲۸ mg/g) و در پالپ میوه حداقل (۳/۱۱ mg/g) است. پس میزان آزادیراختین در قسمت‌های مختلف میوه دو گیاه کاملاً با یکدیگر متفاوت است. به طوری که دانه چریش دارای

حداکثر میزان آزادیراختین و تقریباً برابر با میزان آن در پوست میوه زیتون تلخ می‌باشد. در حالی که دانه زیتون تلخ تقریباً فاقد آزادیراختین است. از آنجایی که میزان این ماده در زیتون تلخ در پوست میوه بسیار زیاد و در پالپ و دانه ناچیز می‌باشد می‌توان گفت که جهت استفاده از گیاه برای اثرات حشره‌کشی بهتر است تنها از پوست میوه استفاده شود زیرا استفاده از کل میوه بازدهی استخراج آزادیراختین را کم می‌کند. ولی در مورد چریش با توجه به اینکه هر سه قسمت میوه دارای مقادیر خوبی از آزادیراختین هستند بهتر است از کل میوه برای عصاره گیری استفاده شود.

گزارش‌های متعددی مبنی بر فعالیت ضد نماتودی عصاره های چریش جود دارد [۳۳، ۳۲] اما مکانیسم دقیق آزادیراختین و سایر ترکیبات مؤثره هنوز ناشناخته است [۳۴]. این باور وجود دارد که آزادیراختین به تنهایی برای از بین بردن نماتودها کافی نیست و سینرژی بین ترکیبات مختلف سمیت گیاه را روی نماتودها افزایش می‌دهد. عصاره چریش حاوی لیمونوئیدهای متعددی مانند سالانین، نیمبین و آزادیراختین و نیز ترکیبات بای پروداکتی چون آمونیاک، فرمالدئید، فنل‌ها، اسیدهای چرب و تانن‌هاست که برخی اثر سمیت زیادی دارند [۳۶، ۳۵] ولی از آنجا که سمیت آزادیراختین کاملاً شناخته شده است تعیین میزان ماده در گیاه و حشره‌کش‌های حاوی این گیاه از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است.

## نتیجه‌گیری

با توجه به مقادیر مختلف آزادیراختین در قسمت‌های مختلف برگ و میوه دو گیاه *M. azedarach* و *M. indica* می‌توان نتیجه گرفت که برگ گیاه برای مصارف حشره‌کشی مناسب نبوده و در مورد زیتون تلخ باید از پوست میوه استفاده نمود در حالی که در مورد چریش بهتر است عصاره‌گیری از میوه کامل انجام شود.

## تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تهران بابت حمایت مالی طرح تشکر می‌نمایند.

## منابع

**1.** Mozaffarian V. A dictionary of Iranian plant names. Farhang Moaser. Tehran. 2007, p: 343 (in Persian).

**2.** Zargari A. Medicinal plants. Vol. 1.Tehran university. Tehran. 1996, pp: 530-531 (in Persian).

**3.** Treas GE and Evans WC. Pharmacognosy .15th ed. Harcourt Publishers. London. 2002, p: 511.

**4.** Vishnukanta ACR. *Melia azedarach*: A phytopharmacological review. *Phcog. Rev.* 2008; 2 (3): 173-179.

**5.** Hadjiakhoondi A, Vatandoost H, Khanavi M, Sadeghipour Roodsari HR, Vosoughi M, Kazemi M and Abai MR. Fatty acid composition and toxicity of *Melia azedarach* L. fruits against malaria vector *Anopheles stephensi*. *Iran. J. Pharm. Res.* 2006; 2 (2): 97-102.

**6.** Mulla MS, Tianyun SU. Activity and biological effects of neem products against arthropods of medical and veterinary importance. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 1999; 15 (2): 133-152.

**7.** Khanavi M, Hadjiakhoondi A, Sadeghipoor Roodsari H, Vosooghi M and Arbabi R. effects of alcoholic extract of *Melia indica* and *M. azedarach* fruits on reproductive indices in rat. *J. Fertil. Infertil.* 2006; 86: 86-87 (in Persian).

**8.** Sharanabasappa A and Saraswati BP. Spermicidal activity of *Melia azedarach* in vitro and in vivo studies. *Chem. Biol. Interface: Synergistic New Frontiers* 2004; 25 (2): 21-26.

**9.** Carpinella MC, Herrero GG, Alonso RA and Palaciosb MS. Antifungal activity of *Melia*

*azedarach* fruit extract. *Fitoter.* 1999; 70 (3): 296-298.

**10.** Ghimeray AK, Jin C, Ghimire BK and Cho DH. Antioxidant activity and quantitative estimation of azadirachtin and nimbin in *Azadirachta indica* A. Juss grown in foothills of Nepal. *Afr. J. Biotechnol*. 2009; 8 (13): 3084-3091.

**11.** Gogati SS and Marathe AD. Anti-viral effect of Neem leaf (*Azadirachta indica*) extracts on Chinkugunga and Measles viruses. *J. Res. Edu. Ind. Med.* 1989; 8: 1-5.

**12.** Singh N and Sastry MS. Antimicrobial activity of Neem oil. *Ind. J. Pharmaciol*. 1997; 13: 102-106.

**13.** Kher A and Chaurasia SC. Antifungal activity of essential oils of three medical plants. *Ind. Drug.* 1997; 15: 41-42.

**14.** Okpanyi SN and Ezeukwu GC. Anti-inflammatory and antipyretic activities of *Azadirachta indica. Planta Med.* 1981; 4 (1): 34-39.

**15.** Sultana B, Anwar F and Przybylski R. Antioxidant activity of phenolic components present in barks of *Azadirachta indica, Terminalia arjuna, Acacia nilotica,* and *Eugenia jambolana* Lam. trees. *J. Food Chem.* 2007; 104: 1106-1114.

**16.** Bandyopadhyay U, Biswas K, Chatterjee R, Bandyopadhyay D, Chattopadhyay I, Ganguly CK, Chakraborty T, Bhattacharya K and Banerjee RK. Gastroprotective effect of neem (*Azadirachta indica*) bark extract: possible involvement of H+-K+-ATPase inhibition and scavenging of hydroxyl radical. *Life Sci.* 2002; 71: 2845-2865.

**17.** Akhila A and Rani K. Chemistry of the neem tree (*Azadirachta indica* A. Juss.). *Prog. Chem. Org. Nat. Prod.* 1999; 78: 147-149.

**18.** Siddiqui BS and Rasheed M. Three new triterpenoids from *A. indica*. *Helv. Chim. Acta.* 2001; 84: 1962-1968.

**19.** Ali MH, Rahman MS, Ahmed GM, Hossain MA and Uddin MM. Studies on the fatty acid and glyceride compositions of nim seed oil. *Bangladesh J. Assoc. Sci. Ind. Res.* 1996; 31: 99-106.

**20.** Sharma V, Bali A and Singh M. Two non-terpenoidalbenzenoid constituents from leaves of *Azadirachta indica*. *Phytochem.*1998; 49: 2121-2123.

**21.** Siddiqui BS, Afshan F, Ghiasuddinet A. New insect growth regulator meliacinbutenolide from the leaves of *Azadirachta indica* A. Juss. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I.* 1999; 16: 2367-2370.

**22.** Mordue AJ, Morgan ED, and Nisbet AJ. In *Comprehensive Molecular Insect Science*, Gilbert LI, Iatrou K, and Gill SS (eds.). Elsevier. UK. 2005, pp: 117-135.

**23.** Morgan ED. Azadirachtin, a scientific gold mine. *Bioorg. Medic. Chem.* 2009; 17: 4096-4105.

**24.** Copping LG and Duke SO. Natural products that have been used commercially as crop protection agents. *Pest. Manag. Sci.* 2007; 63: 524-554.

**25.** Schmutterer H. Properties and potential of natural pesticides from the neem tree, *Azadirachta indica*. *Ann. Rev. Entomol.* 1990; 35: 271-297.

**26.** Sidhu O, Vishal Kumar P and Hari MB. Variability in triterpenoids (Nimbin and Salanin) composition of neem among different provenances of India. *Ind. Crops Prod.* 2004; 19: 69-75.

**27.** Satdive RK, Fulzele DP and Eapen S. Enhanced production of azadirachtin by hairy root cultures of *Azadirachta indica* A. Juss by elicitation and media optimization. *J. Biotechnol.* 2007; 128 (2): 281-289.

**28.** Wandscheer CB, Duque JE, da Silva MA, Fukuyama Y, Wohlke JL, Adelmann J and Fontana JD. Larvicidal action of ethanolic extracts from fruit endocarps of *Melia azedarach* and *Azadirachta indica* against the dengue mosquito *Aedesa egypti. Toxicon* 2004; 44 (8): 829-835.

**29.** Carpinella C, Ferrayoli C, Valladares G, Defago M and Palacios S. Potent limonoid insect antifeedant from *Melia azedarach*. *Biosci. Biotech. Boichem.* 2002; 66 (8): 1731-1736.

**30.** Han J, Lin WH, Xu RS, Wang WL and Zhao SH. Studies on the chemical constituents of *Melia azedarach* L. *Yao Xue Xue Bao.* 1991; 26 (6): 426-429.

**31.** Govindachari TR and Gopalakrishnan G. Supermolecules for insect control. *J. Indian Chem. Soc.* 1998; 75: 655-661.

**32.** Akhtar M. Nematicidal potential of the neem tree *Azadirachta indica* (A. Juss). *Integ. Pest. Manag. Rev.* 2000; 5: 57-66.

**33.** Elbadri GAA, Lee DW, Park JC, and Choo HY. Nematicidal efficacy of herbal powders on *Meloidogyne incognita* (Tylenchida: Meloidogynidae) on potted watermelon. *J. Asia-Pac. Entomol.* 2009; 12: 37-39.

**34.** Lynn OM, Song WG, Shim JK, Kim JE and Lee KY. Effects of azadirachtin and neem-based formulations for the control of sweetpotato whitefly and rot-knot nematode. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* 2010; 53 (5): 598-604.

**35.** Khan AM, Alam MM, and Ahmad R. Mechanism of the control of plant-parasitic nematodes as a result of the application of oil-cakes to the soil. *Indian J. Nematol.* 1974; 4: 93-96.

**36.** Alam MM, Ahmed M and Khan AM. Effect of organic amendment on the growth and chemical composition of tomato, egg plants and chilli and their susceptibility to attack by *Meloidogyne incognita*. *Plant Soil.* 1980; 57: 231-236.

# Quantitative Determination of Azadirachtin in *Melia indica* and *M. azedarach*

**Khanavi M (Ph.D.)[1], Hasanloo T (Ph.D.)[2], Hajimehdipoor H (Ph.D.)[3*]**

1- Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
2- Department of Plant Molecular Physiology, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Karaj, Iran
3- Traditional Medicine and Materia Medica Research Center and Department of Traditional Pharmacy, School of Traditional Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
*Corresponding author: Traditional Medicine and Materia Medica Research Center and Department of Traditional Pharmacy, School of Traditional Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
Tel: +98-21-88773521
Email: hajimehd@sbmu.ac.ir

## Abstract

**Background:** ***Melia indica* and *M. azedarach* (Meliaceae) are widely used in traditional medicine. These species are considered as natural pesticides. Their major compound is azadirachtin (AZD) which is considered as the marker for quality control of these species.**

**Objective: In the present investigation, AZD content of the leaves and fruits (comprising the whole fruit, peel, pulp and seeds) of *M. indica* and *M. azedarach* have been determined.**

**Methods: The leaves and fruits of *M. indica* and *M. azedarach* were collected from Bandar Abbas and Gorgan, respectively and identified. The peel, pulp and seeds were separated from each other. One gram of each sample was extracted using methanol. AZD content of each extract was determined by HPLC with following condition: $C_{18}$ column, mobile phase: acetonitrile: $H_2O$ (60:40), flow rate: 1 mL/min, wave length: 227 nm and run time: 6 min.**

**Results: The results revealed that the fruits of the species contained higher amounts of AZD compared to the leaves. Comparing the species, AZD content of *M. indica* fruits was about two folds in comparison with *M. azedarach* fruits; also, the content of AZD in the seeds of *M. indica* was more than peel and pulp of the plant fruits. AZD content was high in peel of *M. azedarach* and was trace in pulp and seeds of the plant fruits.**

**Conclusion: It is concluded that *M. azedarach* peel could be suggested to be used regarding pesticide properties while it is better to use the whole fruits of *M. indica* for insecticidal effects.**

**Keywords:** ***Melia azedarach*, *Melia indica*, Azadirachtin, HPLC**