مطالعه ترکیبات شیمیایی اسانس گیاه زنجبیل (*Zingiber officinale*) و بررسی اثرات آنتی‌اکسیدانتی و سمیت سلولی آن

حمیدرضا امیری[۱]، مهناز محمدی[۲]*، سارا سعادتمند[۳]، الهه طاهری[۴]

۱- کارشناس ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اسلامشهر، تهران، ایران

۲- استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اسلامشهر، تهران، ایران

۳- استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، تهران، ایران

۴- کارشناس ارشد ، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران

* آدرس مکاتبه: تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اسلامشهر، گروه زیست‌شناسی

تلفن: ۵۶۳۵۸۱۰۵ (۰۲۱)، نمابر: ۵۶۳۵۶۱۷۷ (۰۲۱)

پست الکترونیک: Mh_mohamadi@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۴/۲/۱۸ **تاریخ تصویب:** ۹۴/۷/۲۷

چکیده

مقدمه: ***Zingiber officinale*** **جزء گیاهان دارویی مهم می‌باشد که از دیرباز در زندگی انسان‌ها کاربردهای غذایی و دارویی مختلف داشته است. با توجه به اینکه از اسانس زنجبیل اثرات بیولوژیکی مختلفی گزارش شده است.**

هدف: ارزیابی ترکیبات شیمیایی موجود در اسانس دو گونه زنجبیل چینی و هندی به منظور شناسایی ترکیبات فعال بیولوژیکی آنها مورد مطالعه کیفی و کمی قرار گرفت.

روش بررسی: فرآیند اسانس‌گیری از هر کدام از گیاه‌ها، به روش تقطیر با آب با استفاده از دستگاه کلونجر به انجام رسید. شناسایی ترکیبات موجود در اسانس‌ها و اندازه‌گیری کمی هر کدام از آنها نیز به ترتیب به کمک دستگاه‌های GC-MS و GC صورت گرفت. در ادامه، فعالیت آنتی‌اکسیدانتی و فعالیت سمیت سلولی اسانس زنجبیل چینی مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج: اسانس‌های حاصله، بوسیله دستگاه‌های GC و GC-MS مورد آنالیز قرار گرفتند که در نهایت ۴۶ ترکیب مختلف برای هر دو اسانس شناسایی شد. ترکیبات اصلی اسانس زنجبیل گونه چینی عبارتند از: α-Zingiberene (۲۸/۲۵ درصد)، β-Sesquiphellandrene (۱۵/۶۵ درصد)، α-Curcumene (۱۵/۲۳ درصد) و trans-γ-Cadinene (۱۱/۸۸ درصد). ترکیبات اصلی اسانس در گونه هندی نیز α-Zingiberene (۳۵/۶۷ درصد)، β-Sesquiphellandrene (۱۵/۲۷ درصد)، trans-γ-Cadinene (۹/۲۵ درصد) و E-Citral (۶/۰ درصد) شناسایی شد. میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانتی اسانس گونه چینی، ۸۰/۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر بوده و سمیت سلولی آن نیز در برابر سلول‌های سرطانی رحم انسان ۷۲/۶ میکروگرم بر میلی‌لیتربه دست آمد.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که ترکیبات سسکویی‌ترپنی درصد بیشتری از اجزای اسانس‌ها را به خود اختصاص می‌دهند. فعالیت آنتی‌اکسیدانتی و سمیت سلولی اسانس گونه چینی نیز در مقایسه با داروهای استاندارد، قابل مقایسه بوده است.

گل‌واژگان: اسانس، زنجبیل چینی، زنجبیل هندی، فعالیت آنتی‌اکسیدانتی، فعالیت سمیت سلولی

مقدمه

گیاه *Zingiber officinalis*، گیاهی است چندساله به ارتفاع حداکثر ۱/۳ متر، دارای ریزوم خزنده غده‌ای شکل و برگ‌های بدون دمبرگ، سرنیزه‌ای یا خطی – سرنیزه‌ای که واجد نوک درفشی باریک و فاقد کرک است. گل‌آذین به ارتفاع حداکثر ۲۵ سانتی‌متر، دارای دم گل‌آذین افراشته، سنبله بیضوی با نوک مدور و متراکم است. براکته‌ها تخم‌مرغی با نوک باریک و بلند، به رنگ سبز و با حاشیه روشن که تا ۲/۵ سانتی‌متر طول دارند. اجزای گل عبارتند از: کاسه گل به طول یک سانتی‌متر با حاشیه هلالی، جام گل سبز – زرد با لوله‌ای در حدود ۲ سانتی‌متر، لب‌های جام مساوی، سر نیزه‌ای نوک تیز، پرچم عقیق گلبرگ نما به شکل مستطیلی – واژ تخم‌مرغی و به رنگ ارغوانی با نقاط زرد رنگ، با قطعات جانبی کوتاه، تخم‌مرغی با نوک مدور به طول حدود ۶ میلی‌متر، پرچم‌ها ارغوانی تیره و هم‌اندازه با پرچم عقیم گلبرگ‌نما [۲، ۱]. گیاه زنجبیل به عنوان دارو، ادویه و خوراک لذیذ در دنیا مورد استفاده قرار می‌گیرد. ریزوم‌های ضخیم و کلفت گیاه بخش دارویی آن را تشکیل می‌دهند. انواع تجارتی زنجبیل عبارتند از: زنجبیل جامائیکایی، چینی، آفریقایی، استرالیایی، هندی (کوچین و کالی کوت) [۴، ۳]. زنجبیل سابقه‌ای طولانی در طب دارد و بیش از ۲۵۰۰ سال است که به عنوان ماده ضدالتهاب برای بیماری‌های اسکلتی – عضلانی در طب سنتی چین استفاده می‌شود [۵]. در بعضی منابع یکی از کاربردهای سنتی زنجبیل در درمان دیسمنوره است [۶]. در طب گذشته، زنجبیل در درمان استفراغ، نفخ، سوء هاضمه، کولیک، درد شکم، اسهال، اسپاسم و دیگر اختلالات عضلات صاف، سرماخوردگی، آنفلونزا و به عنوان ضد التهاب در رماتیسم استفاده می‌شده است. همچنین آن را در کمک به افزایش حافظه مؤثر می‌دانسته‌اند [۱]. از زنجبیل در درمان بیماری حرکت و سوء هاضمه استفاده می‌شود. همچنین به عنوان ادویه‌ای مطبوع و اشتهاآور در صنایع غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرد [۷]. مصرف گسترده زنجبیل در فرهنگ غذایی و دارویی بسیاری از ملت‌ها سبب شده است تا مطالعات فارماکولوژیک متعددی بر روی آن صورت گیرد. از تحقیقات مزبور بر روی حیوانات آزمایشگاهی اثرات زیر گزارش شده است: کاهش قند خون، افزایش و نیز کاهش فشار خون، اثر بر قلب و عروق، مهار پروستاگلاندین‌ها و تجمع پلاکتی، کاهش چربی خون، صفراآور، کاهش ترشح اسید معده و حتی ضدانگل نیز هست [۹ – ۷]. این خصوصیات فارماکولوژیک بر روی ترکیبات مختلف موجود در زنجبیل مورد بررسی قرار گرفته است. به عنوان مثال تأثیر جینجرول‌ها بر ممانعت از تکثیر سلول‌های سرطان انسانی از مسیر آپوپتوزیس به اثبات رسیده است [۱۳ – ۱۰]. بسیاری از گیاهان و ادویه‌جات، دارای خواص آنتی‌اکسیدانتی و ضدالتهابی هستند که به نظر می‌رسد در فعالیت‌های آنتی‌کارسینوژنیک و آنتی‌موتاژنیک دخالت دارند. با توجه به اینکه پیشرفت تومور ارتباط بسیار نزدیکی با التهاب و استرس اکسیداتیو دارد، ترکیبی که خواص ضدالتهابی یا آنتی‌اکسیدانتی داشته باشد می‌تواند یک عامل آنتی‌کارسینوژن باشد [۱۴]. تاکنون بیش از ۵۰ نوع آنتی‌اکسیدانت از ریزوم زنجبیل جدا شده است. ۶-جینجرول، عمده‌ترین آنها می‌باشد که مزه تندی داشته و خاصیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی دارد. بر اساس تحقیقات مختلف انجام شده بر روی زنجبیل، خاصیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات مختلف تشکیل‌دهنده آن از قبیل جینجرون، جینجرادیول، زینجیبرن و شاقول به اثبات رسیده است [۱۷ – ۱۵]. در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۳ توسط کمالی روستا و همکاران [۱۸] بر روی روغن اسانسی گیاه زنجبیل صورت گرفت، ۱۷ ترکیب مختلف برای آن شناسایی شد که ترکیب زینجیبرن با ۳۱/۷۹ درصد، جزء اصلی آن را تشکیل داده و ترکیبات آر-کورکومن، بتا- سسکوئی فلاندرن و بتا- بیزابولن به ترتیب با ۱۵/۸۸، ۱۵/۵۷ و ۹/۲۹ درصد در ردیف بعدی اجزای عمده اسانس بودند. در این مطالعه ضمن اینکه رویشگاه اصلی گیاه مشخص نشده، خواص بیولوژیکی اسانس حاصله نیز مورد بررسی قرار نگرفته است.

در سرتاسر جهان گیاهان دارویی برای طیف وسیعی از بیماری‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند. داروهای گیاهی به دلیل اینکه از سمیت کمتری نسبت به معادل سنتزی آنها برخوردار هستند و عوارض جانبی کمتری نیز دارند مورد توجه ویژه‌ای

قرار گرفته‌اند. مواد مؤثره موجود در گیاه یکی از عوامل بسیار مهم در استفاده از داروهای گیاهی است. در گیاهان مختلف بازده اسانس و همچنین نوع ترکیبات موجود در آن به عوامل مختلفی وابسته است که از آن جمله می‌توان به شرایط آب و هوایی، جنس خاکی که گیاه در آن رویش دارد، نحوه جمع‌آوری گیاه و استرس‌های محیطی مختلف از قبیل استرس‌های خشکی و رطوبت و استرس ناشی از حشرات و میکروارگانیسم‌ها اشاره کرد. زمان جمع‌آوری گیاه بسته به اینکه در کدام فصل رویشی آن انجام گیرد، اندام جمع‌آوری شده از گیاه و همچنین نحوه انبارداری و نوع فرآیند اسانس‌گیری از پارامترهای مهم دیگر در بازده اسانس‌های حاصل از گیاهان و نوع ترکیبات موجود در آنها می‌باشند. لذا، میزان و در برخی موارد نوع ترکیبات موجود در اسانس گونه گیاهی خاص که از مناطق مختلف جمع‌آوری شده باشد، تحت تأثیر عوامل ذکر شده متفاوت خواهد بود.

با توجه به اینکه پودر گیاه زنجبیل در مصارف غذایی کاربرد فراوانی دارد و در طب سنتی نیز برای بیماری‌های مختلفی از آن استفاده می‌شود، در این تحقیق، سعی بر این است ضمن بررسی خواص آنتی‌اکسیدانتی و سمیت سلولی اسانس دو گونه زنجبیل چینی و هندی، ترکیبات شیمیایی تشکیل‌دهنده آنها نیز شناسایی شود تا اثر عوامل مختلف بر بازده اسانس، میزان و نوع ترکیبات آن مورد ارزیابی قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

منابع گیاهی مورد استفاده

منابع گیاهی مورد استفاده، ریزوم پودر شده دو گونه زنجبیل شامل زنجبیل‌های چینی و هندی بود که به منظور استخراج و شناسائی ترکیبات اسانس، همچنین تعیین درصد ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس آنها و در مرحله بعد بررسی اثرات آنتی‌اکسیدانتی و سمیت سلولی آنها،به صورت تجاری تهیه شد.

روش استخراج اسانس

روش استفاده شده برای استخراج اسانس در این تحقیق، تقطیر با آب با استفاده از دستگاه Clevenger بود. برای این منظور مقدار ۳۰ گرم از پودر هر کدام از گیاه‌ها توزین شده، داخل بالن‌های ۱۰۰۰ میلی‌لیتری ریخته شد و سپس مقدار ۳۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به محتویات بالن‌ها اضافه شد. پس از به جوش آمدن آب داخل بالن‌ها، عمل اسانس‌گیری به مدت ۳ ساعت ادامه یافته، مایع روغنی به دست آمده توسط مواد جاذب رطوبت (سولفات سدیم) خشک شد.

شناسایی ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس

پس از آماده‌سازی اسانس‌ها، از دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC) برای جداسازی و تعیین درصد هر یک از اجزای اسانس استفاده شد. سپس اسانس‌ها توسط دستگاه کوپل شده کروماتوگرافی گازی با طیف‌سنج جرمی (GC-MS) مورد شناسایی کیفی قرار گرفتند. شناسایی ترکیبات با استفاده از پارامترهای مختلف از قبیل زمان و شاخص بازداری (RI)، مطالعه طیف‌های جرمی و مقایسه این طیف‌ها با ترکیب‌های استاندارد و اطلاعات موجود در کتابخانه رایانه دستگاه GC-MS صورت گرفت [۱۹]. درصد نسبی هر کدام از ترکیبات تشکیل‌دهندهٔ اسانس با توجه به سطح زیر منحنی آن در کروماتوگرام GC به دست آمد.

دستگاه GC-MS

برای آنالیز کیفی اسانس‌های تهیه شده از ریزوم دو گونه زنجبیل چینی و هندی، از دستگاه Thermoquest- Finnigan مدل Trace مجهز به ستون ۵- DB به طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه نازک ۰/۲۵ میکرومتر استفاده شد. دمای آون از ۶۰ درجه سانتی‌گراد تا ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۵ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه افزایش یافت و به مدت ۱۰ دقیقه در این دما نگه داشته شد. از گاز حامل هلیوم با سرعت جریان ۱/۱ میلی‌لیتر بر دقیقه استفاده شد و از انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت استفاده شد.

دستگاه GC

آنالیز کمی اسانس به کمک دستگاه کروماتوگرافی گازی شرکت Agilent Technologies مدل ۷۸۹۰A مجهز به

ستون ۵- DB به طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۰/۳۲ میلی‌متر و ضخامت لایه نازک ۰/۲۵ میکرومتر انجام شد. دمای محفظه تزریق ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد و آشکارساز ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد بود و از گاز ازت با سرعت ۱/۱ میلی‌لیتر بر دقیقه به عنوان گاز حامل استفاده شد. برنامه‌ریزی حرارتی آون به طور صعودی از ۶۰ درجه سانتی‌گراد تا ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۵ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه صورت گرفت و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد نگه داشته شد.

تست آنتی‌اکسیدانت

اثر آنتی‌اکسیدانتی اسانس‌ها از طریق اندازه‌گیری کاهش ظرفیت رادیکالی (RSC) ۲و۲- دی‌فنیل-۱- پیکریل هیدرازیل (DPPH) مورد ارزیابی قرار گرفت [۲۰]. نمونه‌های اسانس با غلظت‌های مختلف با یک میلی‌لیتر از محلول ۹۰ میکرومولار DPPH مخلوط شد و بوسیله متانول ۹۵ درصد به حجم ۴ میلی‌لیتر رسید و به مدت یک ساعت در تاریکی به هم خورد. جذب محلول‌های به دست آمده و شاهد (حاوی مواد شیمیایی یکسان، بجز نمونه) بعد از یک ساعت و در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد. نتایج به دست آمده با بوتیل هیدروکسی تولوئن به عنوان کنترل مثبت مقایسه شد.

بررسی سمیت سلولی

از روش MTT به منظور تعیین سمیت سلولی اسانس‌ها در برابر سلول‌های سرطان رحم انسان (Hela) استفاده شد. آزمایش MTT یک روش رنگ‌سنجی است که بر اساس احیا شدن و شکسته شدن کریستال‌های زرد رنگ تترازولیوم به وسیله آنزیم سوکسینات دهیدروژناز و تشکیل کریستال‌های آبی رنگ نامحلول انجام می‌شود. در این آزمایش ابتدا تعداد مناسبی سلول (ترجیحاً ۵۰۰۰ سلول در هر چاهک) را در هر یک از چاهک‌ها کشت داده، اجازه داده شد تا سلول‌ها به کف پلیت چسبیده و به حالت پایدار خود درآیند. سپس چاهک‌های کنترل و آزمایش انتخاب شده و مقدار مناسبی از ماده میتوژن یا داروی موردنظر، به چاهک‌های تست اضافه شد و پلیت تا زمان موردنیاز جهت تأثیر ماده موردنظر، انکوبه شد. پس از اتمام زمان انکوباسیون محیط کشت روئی دور ریخته شده به هر چاهک ۲۰۰ میکرولیتر محیط کشت حاوی نیم میلی‌گرم در میلی‌لیتر محلول MTT اضافه نموده، به مدت ۲ تا ۴ ساعت در انکوباتور CO_2 در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. در طی زمان انکوباسیون، MTT توسط سیستم سوکسینات دهیدروژناز که یکی از آنزیم‌های چرخه تنفسی میتوکندری‌ها است، احیا می‌شود. احیا و شکسته شدن این حلقه موجب تولید کریستال‌های آبی رنگ فورمازان می‌شود که در زیر میکروسکوپ به راحتی قابل تشخیص هستند. میزان رنگ تولید شده با تعداد سلول‌هایی که از نظر متابولیک فعال هستند رابطه مستقیم دارد. کریستال‌های فورمازان در آب غیرمحلول بوده و بایستی قبل از رنگ‌سنجی توسط ماده حلالی نظیر DMSO به حالت محلول درآیند. در نهایت جذب نوری محلول به دست آمده را می‌توان در طول موج ۵۷۰ نانومتر قرائت کرده و به کمک منحنی استاندارد تعداد سلول‌ها را محاسبه نمود [۲۱].

نتایج

در این تحقیق، اسانس ریزوم‌های دو گونه زنجبیل چینی و هندی که به صورت پودر شده بودند، از نظر کیفی و کمی مورد بررسی قرار گرفت. اسانس‌ها به روش تقطیر با آب بوسیله دستگاه کلونجر استخراج شد، که در نتیجه مایع روغنی با رنگ تیره و بوی تند و سوزاننده به دست آمد. بازده اسانس نسبت به وزن خشک گیاه برای گونه چینی w/w ۱/۳ درصد و برای گونه هندی w/w ۱/۴۵ درصد محاسبه شد. اسانس‌های حاصله، بوسیله دستگاه‌های GC و GC-MS مورد آنالیز قرار گرفتند که در نهایت ۴۶ ترکیب مختلف برای هر دو اسانس شناسایی شد. فهرست کامل ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس‌ها همراه با شاخص بازداری و درصد نسبی آنها در جدول شماره ۱ دیده می‌شود. ترکیبات اصلی اسانس زنجبیل گونه چینی عبارتند از: آلفا- زینجیبرن (۲۸/۲۵ درصد)، بتا- سسکوئی فلاندرن (۱۵/۶۵ درصد)، آلفا- کورکومن (۱۵/۲۳ درصد)، ترانس- گاما- کادینن (۱۱/۸۸ درصد)، سیس- گاما- کادینن

(۵/۲۴ درصد)، بورنئول (۲/۹۲ درصد)، اسپاتولنول (۲/۸۹ درصد)، ترانس- سیترال (۱/۶۶ درصد)، ترانس- نوکیفرال (۱/۵ درصد)، لینالول (۱/۳۱ درصد)، هینسول (۱/۲ درصد)، آلفا- ترپینئول (۱/۱۸ درصد)، سیس- سیترال (۱/۱۱ درصد)، ۱۰- اپی- گاما- یودسمول (۱/۰۶ درصد). ترکیبات اصلی اسانس زنجبیل گونه هندی نیز شامل موارد زیر می‌باشند: آلفا- زینجیبرن (۳۵/۶۷ درصد)، بتا- سسکوئی فلاندرن (۱۵/۲۷ درصد)، ترانس- گاما- کادینن (۹/۲۵ درصد)، ترانس- سیترال (۶/۰ درصد)، بورنئول (۴/۴۹ درصد)، اسپاتولنول (۴/۲۹ درصد)، آلفا- کورکومن (۴/۲۷ درصد)، سیس- گاما- کادینن (۳/۲۴ درصد)، بتا- یودسمول (۲/۱۳ درصد)، بتا- سلینن (۱/۷۱ درصد)، گاما- یودسمول (۱/۵۲ درصد)، ۱۰- اپی- گاما- یودسمول (۱/۳۸ درصد). در ادامه، فعالیت آنتی‌اکسیدانتی و سمیت سلولی اسانس گونه چینی نیز مورد مطالعه قرار گرفت. میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانتی اسانس (IC_{50})، ۸۰/۷ µg/mL بوده که در مقایسه با IC_{50} ترکیب استاندارد بوتیل هیدروکسی تولوئن (۵۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر)، فعالیت آنتی‌اکسیدانتی اسانس قابل توجه بوده است. سمیت سلولی آن نیز در برابر سلول‌های سرطانی رحم انسان ۷۲/۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر به دست آمد. با مقایسه IC_{50} اسانس و داروی پاکلی تاکسل ($۳/۴ \times ۱۰^{-۶}$ میکروگرم بر میلی‌لیتر)، این نتیجه را می‌توان گرفت که فعالیت سمیت سلولی اسانس در حد متوسطی می‌باشد. در جدول شماره ۲، میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانتی و سمیت سلولی اسانس گونه چینی و استانداردهای استفاده شده آورده شده است.

جدول شماره ۱- نام و درصد ترکیب‌های تشکیل دهندهٔ اسانس دو گونه زنجبیل چینی و هندی

ردیف	نام ترکیب	شاخص بازداری	زمان بازداری (دقیقه)	درصد نمونه چینی	درصد نمونه هندی
۱	Camphene	۹۴۸	۴/۸۳	۰/۸۸	۰/۴۱
۲	Linalool	۱۱۰۰	۸/۱۱	۱/۳۱	۰/۶۱
۳	Borneol	۱۱۷۲	۹/۹۱	۲/۹۲	۴/۴۹
۴	α-Terpineol	۱۱۹۶	۱۰/۵۲	۱/۱۸	۰/۱۲
۵	Z-Citral	۱۲۴۴	۱۱/۸	۱/۱۱	۰/۲
۶	E-Citral	۱۲۷۳	۱۲/۵۷	۱/۶۶	۶
۷	2-Undecanone	۱۲۹۴	۱۳/۱۲	۰/۷۷	۰/۵۳
۸	β-Caryophillene	۱۴۲۵	۱۶/۴۸	۰/۷۶	۰/۲۱
۹	α-Curcumene	۱۴۸۹	۱۸/۱	۱۵/۲۳	۴/۲۷
۱۰	β-Selinene	۱۴۹۱	۱۸/۱۶	۰/۴۱	۱/۷۱
۱۱	α-Zingiberene	۱۵۰۰	۱۸/۳۷	۲۸/۲۵	۳۵/۶۷
۱۲	cis-γ-Cadinene	۱۵۰۵	۱۸/۵	۵/۲۴	۳/۲۴
۱۳	trans-γ-Cadinene	۱۵۱۴	۱۸/۷	۱۱/۸۸	۹/۲۵
۱۴	β-Curcumene	۱۵۱۷	۱۸/۷۷	۰/۳۲	۰/۱۷
۱۵	Zonarene	۱۵۱۹	۱۸/۸۳	۰/۴۸	۰/۷۲
۱۶	β-Sesquiphellandrene	۱۵۳۲	۱۹/۱۳	۱۵/۶۵	۱۵/۲۷
۱۷	trans-γ-Bisabolene	۱۵۳۷	۱۹/۲۴	۰/۴۱	۰/۱۶
۱۸	β-Vetivenene	۱۵۴۷	۱۹/۴۶	۰/۰۶	۰/۰۵
۱۹	Elemol	۱۵۵۴	۱۹/۶۴	۰/۰۵	۰/۰۷

ادامه جدول شماره ۱-

ردیف	نام ترکیب	شاخص بازداری	زمان بازداری (دقیقه)	درصد نمونه چینی	درصد نمونه هندی
۲۰	Z-Nerolidol	۱۵۵۶	۱۹/۶۹	۰/۰۷	۰/۱۱
۲۱	Spatulenol	۱۵۶۶	۱۹/۹۱	۲/۸۹	۴/۲۹
۲۲	Tumerol	۱۵۸۳	۲۰/۳	۰/۳۴	۰/۶۶
۲۳	Viridiflorol	۱۵۹۰	۲۰/۴۶	۰/۰۸	۰/۱۸
۲۴	α-Cedrol	۱۵۹۴	۲۰/۵۵	۰/۳	۰/۵۴
۲۵	β-Atlantol	۱۶۰۴	۲۰/۷۸	۰/۲۱	۰/۴۳
۲۶	10-epi-γ-Eudesmol	۱۶۱۸	۲۱/۱	۱/۰۶	۱/۳۸
۲۷	γ-Eudesmol	۱۶۲۷	۲۱/۳۱	۰/۰۴	۱/۵۲
۲۸	Valerianol	۱۶۳۲	۲۱/۴۲	۰/۰۳	۰/۲۵
۲۹	Hinesol	۱۶۳۵	۲۱/۴۹	۱/۲	۰/۷۱
۳۰	Agarospirol	۱۶۳۹	۲۱/۵۶	۰/۰۹	۰/۰۵
۳۱	β-Eudesmol	۱۶۵۹	۲۲/۰۱	۰/۵	۲/۱۳
۳۲	α-Eudesmol	۱۶۶۱	۲۲/۰۷	۰/۵	۰/۳۷
۳۳	Khusinol	۱۶۷۰	۲۲/۲۵	۰/۰۸	۰/۱۷
۳۴	α-Bisabolol	۱۶۷۴	۲۲/۳۶	۰/۰۸	۰/۶۷
۳۵	epi-α-Bisabolol	۱۶۹۳	۲۲/۷۸	۰/۲	۰/۴۷
۳۶	E-Nuciferal	۱۷۰۲	۲۲/۹۷	۱/۵	۰/۵۹
۳۷	Guaiol acetate	۱۷۰۶	۲۳/۰۶	۰/۳۲	۰/۰۹
۳۸	trans-Farnesol	۱۷۱۸	۲۳/۳۲	۰/۱۴	۰/۴۹
۳۹	Z-Nuciferol	۱۷۲۴	۲۳/۴۵	۰/۱	۰/۱۱
۴۰	cis-Lanceol	۱۷۳۳	۲۳/۶۳	۰/۱	۰/۱۲
۴۱	β-Bisabolen-12-ol	۱۷۵۰	۲۴/۰۱	۰/۱۶	۰/۲
۴۲	Cuparophenol	۱۷۵۵	۲۴/۱۱	۰/۸۵	۰/۳۹
۴۳	Benzyl salicylate	۱۸۷۷	۲۶/۶۳	۰/۱۵	۰/۱
۴۴	Palmitic acid	۱۹۵۹	۲۸/۲۵	۰/۱۹	۰/۳۸
۴۵	α-Springene	۱۹۸۶	۲۸/۷۷	۰/۱۵	۰/۱۸
۴۶	Shogaol	۲۲۹۸	۳۴/۳۵	۰/۱	۰/۲۷
	مونوترپن‌های هیدروکربنی			۰/۴۱	۰/۸۸
	مونوترپن‌های اکسیژن‌دار			۱۱/۴۲	۸/۸۸
	سسکوئی‌ترپن‌های هیدروکربنی			۷۰/۷۲	۷۸/۶۹
	سسکوئی‌ترپن‌های اکسیژن‌دار			۱۵/۶	۱۰/۰۴
	دی‌ترپن‌ها			۰/۱۸	۰/۱۵
	سایر ترکیبات			۱/۶۷	۲/۰۶
	مجموع			**۱۰۰**	**۱۰۰**

جدول شماره ۲- فعالیت آنتی‌اکسیدانتی و سمیت سلولی اسانس گونه چینی

ترکیب	خاصیت آنتی‌اکسیدانتی (µg/mL)	خاصیت سمیت سلولی (µg/mL)
اسانس	۸۰/۷	۷۲/۶
بوتیل هیدروکسی تولوئن•	۵۶/۰	---
پاکلی تاکسل••	---	$۳/۴ \times ۱۰^{-۶}$

• استاندارد استفاده شده برای فعالیت آنتی‌اکسیدانتی، •• استاندارد استفاده شده برای فعالیت سمیت سلولی

بحث

بررسی ترکیبات اسانس هر دو گونه نشان می‌دهد که سسکویی‌ترپن‌های هیدروکربنی بیشترین درصد ترکیبات اسانس‌ها را تشکیل می‌دهد. میزان این ترکیبات در گونه چینی ۷۸/۶۹ درصد و در گونه هندی نیز ۷۰/۷۲ درصد بود. سسکوئی‌ترپن‌های اکسیژن‌دار و مونوترپن‌های اکسیژن‌دار دو دسته دیگری هستند که درصد بالایی از ترکیبات اسانس‌ها را به خود اختصاص داده‌اند که میزان این ترکیبات در گونه چینی به ترتیب ۱۰/۰۴ و ۸/۱۸ درصد و در گونه هندی ۱۱/۴۲ و ۱۵/۶ درصد به دست آمد. با وجود اینکه ترکیبات مونوترپنی هیدروکربنی درصد بالایی از اسانس گیاهان مختلف را شامل می‌شوند، ولی میزان این ترکیبات در اسانس زنجبیل خیلی کم می‌باشد، به طوری که فقط ۰/۸۸ درصد اسانس گونه چینی و ۰/۴۱ درصد اسانس گونه هندی را ترکیبات مونوترپنی هیدروکربنی تشکیل می‌دهند. بررسی بیشتر جدول شماره ۱ و مقایسه درصد ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس دو گونه نشان می‌دهد که ترکیب آلفا- زینجیبرن در هر دو گونه درصد بالایی از اسانس را به خود اختصاص می‌دهد. مقدار این ترکیب در گونه هندی (۳۵/۶۷ درصد) بیشتر از گونه چینی (۲۸/۲۵ درصد) است. ترانس- سیترال، بورنئول، اسپاتولنول، بتا- سلینن، گاما- یودسمول و بتا- یودسمول از دیگر ترکیباتی هستند که در گونه هندی درصد بالاتری نسبت به گونه چینی داشتند. مقدار این ترکیبات در گونه هندی به ترتیب معادل ۶/۰، ۴/۴۹، ۴/۲۹، ۱/۷۱، ۱/۵۲ و ۲/۱۳ درصد اجزای اسانس بوده و در گونه چینی نیز این ترکیبات، ۱/۶۶، ۲/۹۲، ۲/۸۹، ۰/۴۱، ۰/۰۴، و ۰/۵ درصد اجزای اسانس را شامل می‌شدند. ترکیبات آلفا- کورکومن، آلفا- ترپینئول، سیس- سیترال، هینسول، سیس- گاما- کادینن و لینالولنیز در گونه چینی درصد بالاتری نسبت به گونه هندی داشتند. درصد این ترکیبات در اسانس گونه چینی به ترتیب ۱۵/۲۳، ۱/۱۸، ۱/۱۱، ۱/۲، ۵/۲۴ و ۱/۳۱ درصد به دست آمد و برای گونه هندی نیز ۴/۲۷، ۰/۱۲، ۰/۲، ۰/۷۱، ۳/۲۴ و ۰/۶۱ درصد محاسبه شد. علت این متفاوت بودن درصد ترکیبات مختلف در دو گونه زنجبیل را می‌توان به شرایط متفاوت اکولوژیکی و جغرافیایی که حاکم بر رویشگاه طبیعی گونه‌های مورد مطالعه، واقع در چین و هند است، نسبت داد. مطالعات متعددی بر روی اسانس گیاه زنجبیل در مناطق مختلف جهان صورت گرفته است. اکوندایو و همکاران در نیجریه اسانس گیاه زنجبیل را به روش تقطیر با آب استخراج کرده ترکیبات آنرا توسط دستگاه GC-MS مورد شناسایی قرار دادند [۲۲]. این گروه، ترکیبات مونوترپنی و سسکویی‌ترپنی ژرانیول، نرال، ۱،۸- سینئول، زینجیبرن، بتا- بیزابولن و بتا- سسکوئی فلاندرن را به عنوان اجزای اصلی اسانس معرفی کردند. ژان و همکاران اجزای اصلی اسانس زنجبیل را آلفا- زنجیبرن، ۶- جینجرول، بتا- سسکویی فلاندرن، ۶- شاقول، آلفا- فارنزن، بتا- بیزابولنو، آلفا- کورکومنبه ترتیب با درصدهای ۲۲/۲۹، ۹/۳۸، ۸/۵۸، ۷/۵۹، ۳/۹۳، ۳/۸۷ و ۲/۶۳ درصد گزارش کردند [۲۳]. در سال ۲۰۱۲ وانگ و همکاران، اسانس گونه *Zingiber officinale* را مورد آنالیز فیتوشیمیایی قرار دادند که در نهایت ۷ ترکیب مختلف که نشان‌دهنده ۹۰/۰۶ درصد

کل اجزای اسانس بودند را برای آن شناسایی کردند [۲۴]. ترکیبات آلفا- زینجیبرن (۵۲/۳۵ درصد)، بتا- پینن (۱۴/۲ درصد) و بتا- سسکویی فلاندرن (۱۲/۱۱ درصد) اجزای اصلی اسانس را تشکیل می‌دادند. این گروه خاصیت آنتی‌اکسیدانتی اسانس را با روش DPPH، مورد بررسی قرار دادند. غلظتی از اسانس که توانایی فرونشانی ۵۰ درصد رادیکال‌های آزاد را داشت (IC_{50})، ۰/۰۱۴۴ درصد وزنی- وزنی به دست آمد. همچنین، خاصیت سمیت سلولی اسانس در برابر دو رده از سلول‌های سرطانی انسان شامل سلول‌های سرطانی تخمدان (HO-8910) و سلول‌های سرطانی کبد (Bel-7402) مورد مطالعه قرار گرفت. مقادیر IC_{50} حاصل در برابر این دو سلول سرطانی که به ترتیب معادل ۰/۰۰۶۴۳ و ۰/۰۰۲۵۶ درصد وزنی- وزنی بود، نشان از فعالیت سمیت سلولی بالای اسانس گونه زنجبیل مورد مطالعه داشت. بارگاوا و همکاران، بعد از استخراج عصاره‌های متانولی و اتانولی گیاه زنجبیل، ترکیبات موجود در آنها را با استفاده از دستگاه‌های GC و GC-MS مورد اندازه‌گیری کیفی و کمی قرار داده، دو ترکیب آلفا- زینجیبرن و بتا- سسکویی فلاندرن را به عنوان اجزای اصلی هر کدام از عصاره‌ها معرفی کردند [۲۵]. بایالا و همکاران در سال ۲۰۱۴، ترکیبات شیمیایی اسانس اندام هوایی چند گونه مختلف شامل: *Ocimum basilicum*، *Ocimum americanum*، *Hyptis spicigera*، *Lippia multiflora*، *Ageratum conyzoides*، *Eucalyptus camaldulensis* و *Zingiber officinalis* و همچنین فعالیت آنتی‌اکسیدانتی، آنتی‌قارچی و سمیت سلولی آنها را بررسی کردند [۲۶]. اجزای اصلی ترکیبات شیمیایی شناسایی شده برای اسانس زنجبیل عبارت بودند از: آرکورکومن (۱۶/۶۷ درصد)، کامفن (۱۲/۷ درصد)، آلفا- زینجیبرن (۸/۴ درصد)، بتا- بیزابولن (۷/۸۳ درصد) و بتا- سسکوئی فلاندرن (۵/۳۴ درصد). فعالیت آنتی‌اکسیدانتی اسانس‌ها با روش DPPH انجام گرفت که درصد بازدارندگی اسانس گیاه زنجبیل در برابر رادیکال‌های آزاد ۳۲/۱ درصد به دست آمد. اسانس این گیاه فعالیت آنتی‌اکسیدانتی متوسطی را نسبت به سایر اسانس‌ها نشان داد. فعالیت آنتی‌قارچی اسانس‌ها با اندازه‌گیری میزان بازدارندگی فعالیت لیپواکسیژنازها بررسی شد که اسانس زنجبیل در بین تمامی اسانس‌ها، فعال‌ترین بود. درصد بازدارندگی این اسانس در برابر فعالیت لیپواکسیژنازها، ۵۰/۹ درصد محاسبه شد. سمیت سلولی اسانس‌ها در برابر دو رده‌ی سلول سرطانی پروستات انسان شامل LNCaP و PC-3 و دو رده‌ی سلول سرطان انسانی glioblastoma شامل SF-763 و SF-767 با روش MTT بررسی شد. IC_{50} اسانس زنجبیل در مقابل سلول‌های سرطانی LNCaP، PC-3، SF-763 و SF-767 بر اساس میلی‌گرم اسانس حل شده در میلی‌لیتر حلال (mg/ml) به ترتیب ۰/۳۸، ۰/۴۲، ۰/۴۸ و ۰/۴۴ محاسبه شد. بر اساس نتایج به دست آمده برای سایر اسانس‌ها، اسانس زنجبیل فعالیت سمیت سلولی بالایی از خود نشان داد. مقایسه نتایج حاصل از این تحقیق با تحقیقات قبلی، همسویی قابل توجهی را بین فعالیت‌های مختلف انجام شده نشان می‌دهد، به طوری که در اکثر فعالیت‌های صورت گرفته، ترکیب آلفا- زنجبیرن به عنوان جزء اصلی اسانس معرفی شده است.

نتیجه‌گیری

هدف از انجام این تحقیق، بررسی و مقایسه ترکیبات شیمیایی اسانس گیاه زنجبیل در دو رویشگاه طبیعی آن واقع در چین و هند و هچنین بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانتی و فعالیت سمیت سلولی گونه چینی بوده است تا که شاید این امر، زمینه‌ساز تحقیقات بعدی در علم داروسازی و دیگر علوم مرتبط با آن، جهت استفاده بهینه از اسانس این گیاه و ترکیبات آن و جایگزین نمودن آنها با داروهای شیمیایی شود.

منابع

1. Schumann K and Engler A. Das pflanzenreichregnivegetabilis conspectus (Heft 20, Zingiberaceae). 1904, Weinheim/Bergstrasse: Verlag Von HR. Engeimann (J. Cramer), 1966, pp: 170 - 73.

2. Ghazanfar Sh and Smith RM. *Zingiber aceae* In Nasir, E.; Ali, J. I. (ed). Flora of pakistane. Karachi. University of Karachi. 1982, pp: 1 - 6.

3. British pharmacopeia Londdon: HMSO, 1982, pp: 305.

4. Trease GE and Evans WC. Pharmacognosy. 14th ed. London. Saunders. 1996, pp: 281 - 4.

5. Altman RD and Marcussen KC. Effects of a ginger extract on knee pain in patients with osteoarthritis. *Arthr. Rheumat*. 2001; 44: 2531 - 8.

6. Milles B and Bone K. Principles and practice of phytotherapy. 1st ed. Churchill Livingston. Edinburgh. 2000, pp: 394 - 400.

7. Bisset NG. Herbal drugs and phytopharmaceuticals.Medpharm scientific publishers. Stuttgart. 1994, pp: 537 - 9.

8. Mitchel HW. British herbal pharmacopeia. London. British herbal medicine association. 1983, pp: 239 - 40.

9. Newall CA, Anderson L and Philipson JD. Herbal medicine, a guide for health-care professionals. London. The pharmaceutical press. 1966, pp: 135 - 7.

10. Lee E, Surh YJ. Induction of apoptosis in HL-60 cells by pungent vanilloids, [6]-gingerol and [6]-paradol.*Cancer Lett*. 1998; 134: 163 - 8.

11. Surh Y. Molecular mechanisms of chemopreventive effects of selected dietary and medicinal phenolic substances. *Mutat. Res*. 1999; 428: 305 - 27.

12. Bode AM, Surh YJ and Dong Z. Inhibition of epidermal growth factor-induced cell transformation and activator protein 1 activation by [6]-Gingerol. *Cancer Res*. 2001; 61: 850 - 3.

13. Keum YS, Kim J, Lee KH, Park KK, Surh YJ and Lee JM.Induction of apoptosis and caspase-3 activation by chemopreventive [6]-paradol and structurally related compounds in KB cells. *Cancer Lett*. 2002; 177: 41 - 7.

14. Shukla Y and Singh M.Cancer preventive properties of ginger: A brief review. *Food Chem. Toxicol*. 2007; 45: 683 - 90.

15. Kamtchouing P, Mbongue FGY, Dimo T and Jatsa HB. Evaluation of Zingiberofficinale and Pentadiplandrabrazzeana in male rats. *Asian J. Androl*. 2002; 4: 299 - 301.

16. Zancan KC, Marques MO, Petenate AJ and Meireles MA. Extraction of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) oleoresin with CO_2 and co-solvents: a study of the antioxidant action of the extracts. *J. Supercrit. Flu*. 2002; 24: 57 - 76.

17. Chen CY, Liu TZ, Liu YW, Tseng WC, Liu RH, Lu FJ, Lin YS, Kuo SH and Chen CH.6-Shogaol (alkanone from ginger) induces apoptotic cell death of human hepatoma p53 mutant mahlavusubline via an oxidative stress-mediated caspase-dependent mechanism. *J. Agric. Food Chem*. 2007; 55: 948 - 54.

18. Kamaliroosta Z, Kamaliroosta L and Elhamirad AH. Isolation and Identification of Ginger Essential Oil. *Journal of Food Biosciences and Technol*. 2013; 3: 73 - 80.

19. Shibamoto T. Retention indices in essential oil analysis, in capillary gas chromatography in essential oil analysis. Sandra P. Bicchi C (ed). HuethingVerlag. New York. 1987, pp: 259 - 74.

20. Mimica-Dukic N, Bozin B, Sokovic M and Silmin N. Antimicrobial and antioxidant activities of *Melissa officinalis* L. (Lamiaceae) essential oil. *J. Agric. Food Chem*. 2004; 52: 2485.

21. Tim M. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *J. Immunol. Methods*

1983; 65: 55.

22. Ekundayo O, Laakso I and Hiltunen R. Composition of ginger (*Zingiber offcinale* Roscoe) volatile oils from Nigeria. *Flavour Frag. J*. 1988; 3: 85 - 90.

23. Zhan K, Wang C, Xu K and Yin H. Analysis of volatile and non-volatile compositions in ginger oleoresin by gas chromatography-mass spectrometry. *China J. Chromatography* 2008; 26: 692 - 6.

24. Wang W, Zhang L, Li N and Zu Y. Chemical composition and in vitro antioxidant, cytotoxicity activities of *Zingiber officinale* roscoe essential oil. *Afr. J. Biochem. Res.* 2012; 6: 75 - 80.

25. Bhargava S, Dhabhai K, Batra A, Sharma A and Malhotra B. *Zingiber officinale*: Chemical and phytochemical screening and evaluation of its antimicrobial activities. *J. Chem. Pharm. Res*. 2012; 4: 360 - 4.

26. Bayala B, Bassole IHN, GnoulaCh, Nebie R, Yonli A, Morel L, Figueredo G, Nikiema JB, Lobaccaro JMA and Simpore J. Chemical composition, antioxidant, anti-inflammatory and anti-proliferative activities of essential oils of plants from Burkina Faso. *PLOS One* 2014; 9: e92122.