

بررسی ترکیبات شیمیایی عصاره هگزانی گیاه جعفری معطر

(*Tagetes minuta* L.) و اثر ضدلارو پشه آنوفل استفنسی (*Anopheles stephensi*)

سیداسماعیل سادات ابراهیمی^۱، عباس حاجی آخوندی^{۲*}، شمسعلی رضازاده^۳، نوید فریدونیان^۴، حسن وطن دوست^۵، محمدرضا عبایی^۵

- ۱- دانشیار، گروه شیمی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران
- ۲- دانشیار، گروه فارماکوگنوزی و مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تهران
- ۳- دستیار شیمی دارویی، گروه فارماکوگنوزی و داروسازی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی
- ۴- داروساز، گروه فارماکوگنوزی و مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تهران
- ۵- عضو هیأت علمی، دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

*آدرس مکاتبه: تهران، خیابان انقلاب اسلامی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

تلفن: ۶۶۹۵۹۰۹۰ (۰۲۱)، نمابر: ۶۶۴۶۱۱۷۸ (۰۲۱)

پست الکترونیک: abbhadji@sina.tums.ac.ir

تاریخ تصویب: ۸۴/۹/۱۹

تاریخ دریافت: ۸۳/۸/۲۴

چکیده

مقدمه: گیاه جعفری معطر (*Tagetes minuta* L.) یکی از اعضای خانواده Asteraceae می باشد که بومی آمریکای جنوبی بوده و از آنجا به سایر نقاط جهان گسترش یافته است و هم اکنون در هر پنج قاره جهان یافت می شود. این گیاه دارای استفاده های فراوانی در فرهنگ مردم بومی آمریکای جنوبی و آفریقای شرقی دارد که از جمله این استفاده ها دورکنندگی حشرات، طعم دهنده و چاشنی می باشد. مطالعات زیادی بر روی این گیاه گزارش شده است ولی مطالعه روی اثرات ضدلارو و پشه ناقل مالاریا گزارش نگردیده است. روش بررسی: در این مطالعه عصاره هگزانی گیاه با استفاده از روش خیساندن تهیه و سپس ترکیبات تشکیل دهنده عصاره حاصل توسط دستگاه GC/MS شناسایی و تعیین گردید. همچنین اثر ضد لارو پشه آنوفل استفنسی عصاره هگزانی گیاه مورد بررسی قرار گرفت.

یافته ها: بازده کار عصاره گیری با روش خیساندن با حلال هگزان ۲/۶ درصد وزنی - وزنی بود. شانزده ترکیب که شامل ۹۳/۴ درصد کل عصاره بود شناسایی گردید. سیس - بتا - اوسیمین با ۴۳/۳۹ درصد کل عصاره، عمده ترین ترکیب بود. LC₅₀ و LC₉₀ عصاره بر علیه لارو پشه آنوفل استفنسی به ترتیب ۳/۱۵۱۷ میلی گرم بر لیتر و ۱۱/۹۱۶۷ میلی گرم بر لیتر تعیین گردید. نتیجه گیری: بازده میزان روغن فرار حاصل از روش استخراج با هگزان بالاتر از روش تقطیر با آب جوش و غلظت ترکیب عمده آن (سیس - بتا - اوسیمین) نیز بیشتر است. LC₅₀ و LC₉₀ عصاره هگزانی از مشابه مربوط به روغن فرار حاصل از تقطیر با آب داغ بیشتر است و با غلظت بیشتری دارای اثر مشابه می باشد.

کل واژگان: *Tagetes minuta* L.، جعفری معطر، آنوفل استفنسی، عصاره هگزانی، GC/MS

مقدمه

گیاه *Tagetes minuta* L. در مناطق جنوب غربی ایران (استان کهگیلویه و بویر احمد) می‌روید. این گیاه از خانواده Asteraceae است [۹]. نام‌های معروف آن عبارتند از: Southern Wild marigold, mexican marigold و marigold [۷]. نام فارسی آن جعفری معطر است [۲]. جعفری معطر گیاهی است بوته‌ای که طول آن به نیم الی یک متر می‌رسد و در شرایط مساعد حتی تا دو متر هم طولش افزایش می‌یابد. دارای برگ‌های سبز روشن براق است. حاشیه برگ‌ها دارای دندانه‌های ظریف می‌باشد. زیر برگ‌ها نقطه‌های نارنجی رنگی وجود دارد که شامل غده‌های چند سلولی مترشحه است. این غده‌ها روی ساقه و گریبانه و برگچه‌ها نیز یافت می‌شوند. کاپیتول شامل ۳-۵ پره گل زرد متمایل به نارنجی بوده که دارای ۱۰-۱۵ دیسک است. بلندی آن به ۱۰-۱۵ میلی‌متر می‌رسد که قطرش حدود ۱۰-۲۰ میلی‌متر می‌باشد. طول آن ۱۰-۱۲ میلی‌متر است که ۱-۴ پوسته به همراه ۲-۰ خار واژگون به طول ۱-۳ میلی‌متر آن را در بر می‌گیرد [۳].

این گیاه بومی آمریکای جنوبی است و از آنجا به سایر نقاط جهان گسترش یافته است. هم اکنون گیاه مذکور در هر پنج قاره جهان وجود دارد. جعفری معطر استفاده‌های فراوانی در فرهنگ مردم بومی آمریکای جنوبی و آفریقا شرقی دارد. از جمله این استفاده‌ها، دورکنندگی حشرات، نوشیدنی، چاشنی، زینتی، استفاده‌های پزشکی و مراسم مذهبی می‌باشد [۱۱]. اسانس گیاه جعفری معطر تاکنون مورد بررسی‌های فراوانی قرار گرفته است و استفاده‌های فراوانی در صنایع مختلف دارد [۱۰].

مواد و روش‌ها

سرشاخه‌های گلدار گیاه جعفری معطر در تاریخ ۸۲/۷/۱۵ از ابتدای جاده لشکرک (زردبند) واقع در استان تهران جمع‌آوری گردید. نمونه‌های مزبور در دانشکده داروسازی علوم پزشکی تهران شناسایی گردید و با شماره هرباریومی 6540 TEH به ثبت رسید.

عصاره هگزانی گیاه با استفاده از حلال هگزان و به روش خیساندن استخراج گردید. به این منظور ۵۰۰ گرم از اندام

گیاهی تازه در یک بشر ۲۰۰۰ میلی‌لیتری قرار داده شد و روی آن با هگزان پوشانده شد و به مدت ۷۲ ساعت باقی ماند. سپس عصاره هگزانی خارج شده، در یک ظرف در بسته نگهداری گردید. این عمل دوبار دیگر تکرار شد (مجموعاً ۳ بار). سپس عصاره حاصل با دستگاه تقطیر در خلا تغلیظ شده و هگزان از عصاره جدا شد. دمای مورد استفاده ۴۷-۴۰ درجه سانتی‌گراد و سرعت چرخش ۶۰-۷۰ rpm بود. عصاره حاصل توسط سولفات سدیم انیدر، آبگیری شد. برای شناسایی ترکیبات شیمیایی موجود در عصاره هگزانی گیاه از دستگاه GC/MS استفاده شد.

مشخصات دستگاه GC

(Shimadzu 9A, Data processor, chromatopac C-R₃A, column: DB-1, 60m, 0.25 mm, I.D. micron film thickness)

گاز حامل هلیوم بود. برنامه حرارتی ۵۰ تا ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد با ۴°C/min افزایش دما.

مشخصات دستگاه Finnigan-Mat, model Incos GC/MS

طیف‌های جرمی مربوط به پیک‌های GC در پتانسیل یونیزاسیون ۷۰ eV اسکن شد. برنامه حرارتی مانند آنچه در بالا آمده است، بود.

اندیس بازداري ترکیبات با استفاده از سری آلکان‌های نرمال و بر اساس روش کوتاس تعیین گردید [۵]. ماهیت اجزای عصاره هگزانی با استفاده از نرم‌افزار کامپیوتری wiley library و نیز مطابقت اندیس‌های بازداري با اندیس‌های اعلام شده در منابع علمی موثق و بررسی و مقایسه الگوی شکست ترکیبات مجزا شده با الگوی شکست ترکیبات استاندارد مشخص شد [۴]. مشخصات هر یک از اجزای موجود در روغن‌های فرار در جدول شماره ۱ نشان داده شده است.

مطالعه بیولوژیک: براساس توصیه WHO غلظت‌های

مختلف عصاره هگزانی گیاه جعفری معطر تهیه گردید. حلال اتانول مطلق بود. در هر بشر ۶۰۰ میلی‌لیتری، ۲۵ عدد لارو آخر سن سه و اول سن ۴ آنوفل استفنسی در معرض این غلظت‌ها، در دو تکرار قرار گرفتند. LC₅₀ و LC₉₀ با استفاده از خط رگرسیون و با به کار بردن برنامه Finney تعیین شد [۶]. برای کنترل تنها ۱ میلی‌لیتر از حلال به بشر اضافه شد. مرگ و میر بعد از ۲۴ ساعت شمارش شد. اگر

۱۶ ترکیب که شامل ۹۳/۴ درصد کل عصاره بود، تشخیص داده شد. ایزومرهای اوسیمن (۳ ایزومر) تقریباً ۶۰ درصد بخش تشخیص داده شده عصاره را تشکیل می‌دادند.

در بخش بیولوژیک مطالعه، نتایج زیر به دست آمد. LC_{50} و LC_{90} به ترتیب ۳/۱۵۱۷ mg/l و ۱۱/۹۱۶۷ mg/l بودند. سایر پارامترهای مربوط به بخش بیولوژیک، در جدول شماره ۲ آمده است.

مرگ و میر بین ۲۰ - ۵ درصد بود، تمام مرگ و میرهای دیگر با فرمول Abbott تصحیح گردید [۸].

نتایج

عصاره‌گیری هگزانی از جعفری معطر بازده ۲/۶ w/w درصد داشت. ترکیبات عصاره در جدول شماره ۱ آمده است.

جدول شماره ۱- ترکیبات درصد عصاره هگزانی جعفری معطر

درصد	استاندارد KI	اندیس بازداری	زمان بازداری	ترکیب
۰/۲۱۱	۹۷۶	۹۶۷	۷/۷۹	Sabinene
۲/۵۳۰	۱۰۳۱	۱۰۲۷	۹/۹۸	Limonene
۴۶/۳۹۰	۱۰۲۷	۱۰۳۵	۱۰/۲۳	Cis-β-Ocimene
۶/۴۰۶	۱۰۲۷	۱۰۴۴	۱۰/۵۴	δ-Ocimene
۱/۴۰۸	۱۰۵۷	۱۰۴۸	۱۱/۱۰	Dihydrotagetone
۶/۹۳۸	۱۱۴۰	۱۱۳۸	۱۵/۳۳	Trans-β-Ocimene
۲/۳۹۳	۱۱۵۳	۱۱۵۰	۱۵/۹۵	Trans- Tagetone
۰/۵۶۳	۱۲۰۴	۱۲۰۲	۱۸/۵۴	Verbenone
۰/۴۲۲	۱۲۳۵	۱۲۲۹	۱۸/۸۸	Trans- Chrysanthenyl acetate
۴/۷۱۶	۱۲۴۲	۱۲۲۸	۱۹/۸۹	Carvone
۹/۷۴۴	—	۱۲۵۱	۲۰/۳۴	Unknown
۰/۹۱۵	۱۴۹۰	۱۴۸۹	۳۲/۷۸	Bicyclogermacrene
۳/۲۳۸	۱۹۷۲	۱۹۷۷	۵۳/۲۹	Hexadecanoic acid
۰/۹۱۵	۲۰۰۰	۲۰۰۴	۵۷/۶۱	Eicosane
۶/۱۹۲	۲۰۹۲	۲۰۹۷	۵۹/۶۸	Methyl linoleate
۰/۴۹۲	۲۱۷۸	۲۱۷۲	۶۰/۲۸	Stearic acid
۹۳/۳۸۵	مجموع			

جدول شماره ۲ - پارامترهای مربوط به مرگ و میر لاروهای پشه آنوفل استغنی در معرض غلظت‌های متفاوت عصاره هگزانی گیاه جعفری معطر

a	b±SE	$LC_{50} \pm 95\% C.L.$	$LC_{90} \pm 95\% C.L.$	λ^2 table (df)	P-Value
		۲/۶۲۷۸	۹/۳۲۴۹		
-۱/۱۰۶۲	۰/۱۸۳± ۲/۲۱۸۸	۳/۱۵۱۷	۱۱/۹۱۶۷	۱۱/۰۷(۵)	۰/۰۵
		۳/۷۶۰۶	۱۶/۴۱۴۲		

تفاوت عمده در ترکیبات و درصد آنها می‌شویم [۱]. در حالی که در مطالعه حاضر ۱۶ ترکیب شناسایی شد در مطالعه قبلی ۴۴ ترکیب به دست آمد. سیس - بتا - اوسیمن در مطالعه

در مقایسه با مطالعه گزارش شده قبلی روی جعفری معطر که به وسیله گروه ما به روش تقطیر با آب انجام شد، متوجه

بحث



فعلی و قبلی به ترتیب با ۴۶/۳۹ درصد و ۳۹/۱ درصد بالاترین درصد را دارا بود.

بازده تحقیق قبلی کمتر از تحقیق حاضر است (۱/۰۱ W/W). مقایسه‌ای بین دو مطالعه روی جعفری معطر در جدول شماره ۳ انجام گرفته است. این جدول بیان می‌کند که عصاره‌گیری هگزانی بازده بالاتر، همراه با تعداد ترکیبات کمتر، نسبت به تقطیر با آب نتیجه می‌دهد.

مقایسه بخش بیولوژیک دو کار انجام شده روی گیاه جعفری معطر

در کار قبلی گروه ما که روی پشه آنوفل استغنی انجام شد، نتایج به دست آمده (که در جدول شماره ۴ منعکس شده است) نشان می‌دهد که سمیت اسانس جعفری معطر حاصل از تقطیر با آب بیشتر از سمیت عصاره هگزانی گیاه می‌باشد.

جدول شماره ۳ - مقایسه بین بازده و تعداد ترکیبات حاصل در دو مطالعه اخیر روی جعفری معطر

جعفری معطر		
تعداد ترکیبات حاصل	بازده (W/W)	
۱۷	۲/۶۰ درصد	عصاره‌گیری هگزانی
۴۴	۱/۰۱ درصد	تقطیر با آب

جدول شماره ۴ - مقایسه LC_{50} و LC_{90} دو کار انجام شده بر روی گیاه جعفری معطر با دو روش عصاره‌گیری هگزانی و تقطیر با آب

LC_{90} (mg/l)	LC_{50} (mg/l)	
۱۱/۹۱۶۷	۳/۱۵۱۷	عصاره‌گیری هگزانی
۵/۰۷۱۹	۱/۳۰۱۵	تقطیر با آب

منابع

- عبدی لیلا. بررسی فیتو شیمیایی و بیولوژیک (اثر ضدلارو) اسانس *Tagetes minuta* (جعفری معطر)، پایان‌نامه دکتری داروسازی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، ۸۲-۱۳۸۱، ۷۸-۳۰.
- قهرمان احمد. گیاه شناسی پایه، جلد دوم، انتشارات دانشگاه تهران، تهران، ۱۳۷۹، ۱۵۴-۱۵۳.
- مظفریان ولی الله. رده‌بندی گیاهی. کتاب دوم. دو لپه‌ای‌ها. نشر دانش امروز، تهران. ۱۳۷۳، صفحات ۵-۲۴۲.
- Adams RP. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy, Allured publishing corporation, Illinois, 1995, PP: 122-5.
- Eight peak index of mass spectra, the Royal society of chemistry, Nottingham, 1983, PP: 211-3.
- Finney DJ. probit analysis, Cambridge university press, Cambridge, 1971, 42-46.
- Kadriya SEI-Deeb, Fawkeya A Abbas, Ablam EI Fishawy and Jaber S. Mossa. 2004, chemical composition of *Tagetes minuta* growing in Saudi Arabia, Saudi pharmaceutical. J., 12(1): 51-53.

Oxford. 1991, PP: 154-6.

9. Senatore F., et al, 2004, antibacterial activity of *Tagetes minuta* L. (Asteraceae) essential oil with different chemical composition, *Flavour frag. J.*, 5:51-55.

10. Soule JA. A potential new herb from south

8. Knell AJ. malaria. oxford university press. America, in: Janick J. and Simon J.E. (eds). new crops. wiley press. New York. 2002, PP: 649-54.

11. Vasudevan P, kashyap S and sharma S. *Tagetes*: A multipurpose plant, *Bioresource Technology*. 1997; 62: 35-92.