

بررسی اجزای اسانس، محتوی فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ی گیاه گل راعی (*Hypericum perforatum* L.) جمع‌آوری شده از شمال ایران

محمدرضا مرشدلو^۱، علی عبادی^۲، محمدرضا فتاحی مقدم^۳، داراب یزدانی^{۴*}

- ۱- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی و اصلاح گیاهان دارویی، گروه علوم باغبانی، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج
 - ۲- استاد، گروه علوم باغبانی، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج
 - ۳- دانشیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج
 - ۴- استادیار، گروه پژوهشی فارماکونوزی و داروسازی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی، کرج
- *آدرس مکاتبه: کرج، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی، تلفن: ۱۷ - ۰۲۶) ۳۴۷۶۴۰۱۰
پست الکترونیک: yazdani@imp.ac.ir

تاریخ تصویب: ۹۰/۱۲/۱۴

تاریخ دریافت: ۹۰/۱/۲۲

چکیده

مقدمه: گل راعی (*Hypericum perforatum* L.) یکی از مهم‌ترین و پرکاربردترین گیاهان دارویی در جهان بوده و کاربرد وسیعی در درمان افسردگی خفیف تا متوسط دارد. این جنس دارای گونه‌های متعددی است که مهم‌ترین گونه‌ی آن *H. perforatum* می‌باشد. هدف: شناسایی اجزای اسانس و بررسی محتوی فنلی و میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ی گیاه گل راعی جمع‌آوری شده از منطقه تنکابن واقع در شمال ایران. روش بررسی: اسانس‌گیری از اندام‌های تازه به روش تقطیر با آب و با استفاده از دستگاه کلونجر صورت گرفت. اجزای اسانس با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC) و کروماتوگرافی متصل به طیف نگارجرمی (GC/MS) شناسایی شد. محتوی فنلی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ی متانولی گیاه به ترتیب با روش‌های فولین - سیوکالتو و رادیکال DPPH مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج: در این مطالعه مونوترپن‌ها بیشترین اجزای اسانس (۲۵/۶۳ درصد) را تشکیل می‌دادند که بیشترین مقدار آن متعلق به آلفا پینن (۲۱/۸۸ درصد) بود. پس از آن آلکان‌ها (۲۴/۷ درصد)، سزکویی‌ترین‌ها (۲۰/۸۸ درصد) و هیدروکربن‌های الکلی (۸/۸۶ درصد) به ترتیب بیشترین جزء اسانس را به خود اختصاص می‌دادند. محتوی کل فنل عصاره‌ی متانولی این گیاه ۵۰ میلی‌گرم در اکی‌والانت اسید گالیک بر گرم ماده‌ی خشک محاسبه شد و همچنین مقدار IC_{50} آن ۳۴/۳۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر به دست آمد. نتیجه‌گیری: آلفا - پینن یکی از مهم‌ترین اجزای اسانس در این گیاه می‌باشد و همچنین عصاره‌ی این گیاه دارای محتوی فنلی بالایی بوده و از خاصیت آنتی‌اکسیدانی مناسبی برخوردار است. گل‌واژگان: *Hypericum perforatum* L. اجزای اسانس، مونوترپن، آلکان‌ها، سزکویی‌ترین‌ها، آلفا - پینن، خاصیت آنتی‌اکسیدانی، محتوی فنلی



مقدمه

جنس *Hypericum* بیش از ۴۶۹ گونه در جهان دارد که ۱۷ گونه‌ی آن تاکنون از ایران گزارش شده است [۱،۲]. گل راعی با نام علمی *H. perforatum* L. از خانواده *Hypericaceae*، گیاهی است علفی و چند ساله که بومی اروپا و آسیا می‌باشد؛ استفاده سنتی از این گیاه به بیش از ۲۰۰۰ سال پیش برمی‌گردد [۳،۴]. *H. perforatum* یکی از پر فروش‌ترین گیاهان دارویی در سطح دنیا به شمار می‌رود که به طور گسترده‌ای در امریکا و اروپا پرورش می‌یابد. طیف گسترده‌ای از ترکیبات فعال بیولوژیکی تاکنون از این گیاه شناسایی و گزارش شده که از آن جمله می‌توان به نفتودیانترون‌ها (هایپرپسین و سودوهاپیرپسین)، آسیل فلورو گلوکوسینول‌ها (هایپر فورین و اد‌هایپر فورین)، زانتون‌ها و فلاونوئیدها اشاره نمود [۵]. بیشترین کاربرد این گیاه مربوط به خاصیت ضدافسردگی خفیف تا متوسط آن می‌باشد. علاوه بر این، عصاره‌ی این گیاه از خاصیت ضدالتهابی، ضد میکروبی، ضدسرطان و ضد ویروسی نیز برخوردار است [۶]. گیاه گل راعی دارای سه نوع ساختار ترش‌چی سازمان یافته و منحصر به فرد که شامل کانال‌ها ترش‌چی، حفرات ترش‌چی نیمه شفاف اسانس و گرهک‌های کوچک تیره رنگ چند سلولی می‌باشد و این ساختارها در برگ‌ها، گلبرگ‌ها، کاسبرگ‌ها و پرچم‌ها حضور دارند [۸،۷].

تاکنون مطالعات زیادی در رابطه با شناسایی اجزای اسانس گیاه گل راعی صورت گرفته و نتایج متفاوتی به دست آمده است که می‌تواند به دلیل جمع‌آوری گیاه در مراحل فنولوژیکی مختلف و یا جمع‌آوری از مناطقی با شرایط مختلف محیطی - ادا فیک‌ی باشد. از سوی دیگر، خصوصیات ژنتیکی گیاه، نحوه‌ی فراوری و تغییرات فصلی نیز از جمله عوامل دیگری هستند که می‌تواند بر نوع ترکیبات اسانس مؤثر باشند [۹].

اجزای اسانس گیاه گل راعی نخستین بار در سال ۱۹۶۴ از فرانسه گزارش شده است، در مطالعه‌ی مذکور، ۲- متیل اکتان (۴۵ درصد) و آلفا - پینن (۲۴ درصد) به عنوان اجزای اصلی

اسانس شناسایی شدند. بعد از آن گزارش‌هایی از اجزای اسانس در کشورهای هند، ترکیه و صربستان صورت گرفت. در این مطالعات نیز آلفا پینن به عنوان جزء اصلی اسانس گزارش شده است [۵]. در تحقیقی که در مورد اجزای اسانس زیر گونه *H. perforatum* var. *perforatum* در مراحل مختلف رشدی صورت گرفت، کاربوفیلن اکساید، بتا کاربوفیلن، اسپاتونول و ۱- تترادکانول اجزای اصلی اسانس را تشکیل می‌دادند و گزارش شد که با توسعه‌ی مراحل نموی این گیاه تعداد ترکیبات اسانس آن افزایش می‌یابد [۹].

علاوه بر اسانس، محتوی فنلی این گیاه نیز در طی مراحل رویشی دچار نواسانات زیادی می‌شود، به عنوان مثال، مونوفلاونوئیدها در مرحله قبل از گلدهی و پروفلاونوئیدها در مرحله‌ی گلدهی در حداکثر مقدار خود هستند. از سوی دیگر بی‌آپیزین و هایپروزیدها در جوانه‌های در حال توسعه گل در حداکثر مقدار خود هستند و مقدار این ترکیبات بعد از مرحله‌ی گلدهی سریعاً کاهش می‌یابد [۱۰]. پلی‌فنل‌های گیاهی ترکیبات هیدروکسیله‌ی آروماتیک هستند که بسیاری از آنها برای گیاه ضروری می‌باشند. این ترکیبات در گیاه نقش‌های بارزی همچون فعالیت آنتی‌اکسیدانی، خواص ضد میکروبی و همچنین نقش موثر در برابر گیاه خواری دارا می‌باشند [۱۱]. خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدسرطانی، ضد ویروسی و ضدباکتریایی زیادی برای ترکیبات پلی‌فنلی در گیاهان گزارش شده است. این ترکیبات از مسیر شیکمیک اسید و از متابولیسم فنیل پروپانویید سنتز می‌شوند [۱۲].

امروزه مشخص شده که رادیکال‌های فعال اکسیژن (*Reactive Oxygen Species*) نقش بسیار مهمی را در ایجاد و توسعه‌ی بیماری‌هایی همچون سرطان، گرفتگی عروق، اختلالات عصبی و رماتیسم ایفا می‌نمایند. به منظور کاهش این عوارض سازمان بهداشت جهانی استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی را در رژیم‌های غذایی توصیه می‌کند. این ترکیبات از اکسیداسیون لیپیدها و دیگر مولکول‌ها به وسیله‌ی بازدارنده‌ی آغاز یا گسترش واکنش‌های چرخه‌ی اکسیداتیو، جلوگیری می‌کنند [۱۳]. هدف از این مطالعه در ابتدا شناسایی اجزای اسانس



و همچنین بررسی محتوی فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی گیاه گل‌راعی جمع‌آوری شده از منطقه شمال کشور بود.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی، استخراج اسانس و عصاره‌گیری

این مطالعه روی گیاه خودروی گل‌راعی که در مردادماه سال ۱۳۹۰ از شهرستان تنکابن جمع‌آوری شد، صورت گرفت. نمونه‌ی هرباریومی گیاه در هرباریوم گروه باغبانی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران نگهداری می‌شود. استخراج اسانس از اندام‌های تازه (پیکره‌ی رویشی به همراه سرشاخه‌ی گلدار) به روش تقطیر با آب توسط کلونجر و به مدت ۴ ساعت صورت گرفت و بلافاصله توسط سولفات سدیم خشک‌آبگیری شده و در محل تاریک با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد تا زمان آنالیز نگهداری شد.

به منظور تهیه عصاره متانولی (۸۰ درصد متانول به همراه ۲۰ درصد آب مقطر) ۲ گرم از پودر نمونه‌ی گیاهی درون ارلن ۵۰ میلی‌لیتری ریخته شد و سپس ۲۰ میلی‌لیتر حلال به آن اضافه گردید. مخلوط حاصل به مدت ۲۴ ساعت بر روی شیکر در شرایط تاریکی و دمای اتاق قرار گرفت. عصاره‌ی حاصل با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صاف و در شیشه‌های تیره رنگ در محل تاریک و دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد تا زمان آزمایش نگهداری شد.

مواد شیمیایی

در این مطالعه رادیکال DPPH (دی فنیل پیکریل هیدرازیل) از شرکت سیگمای آمریکا و گالیک اسید، فولین-سیوکالتو (Folin-Ciocalteu)، کربنات سدیم و سولفات سدیم از شرکت مرک آلمان تهیه شدند.

بررسی اجزای اسانس

اسانس گیاه موردنظر پس از آماده‌سازی، به دستگاه گازگروماتوگرافی جرمی (GC/MS) تزریق شد تا نوع ترکیبات آن مشخص شود. دستگاه GC مورد استفاده از نوع



Agilent 6890 با ستون HP-5MS به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه ۰/۲۵ میکرومتر بود. برنامه‌ی دمایی ستون به این نحو تنظیم شد که دمای ابتدایی آن ۵۰ درجه سانتی‌گراد و توقف در این دما به مدت ۵ دقیقه با گرادیان حرارتی ۳ درجه سانتی‌گراد در هر دقیقه صورت گرفت. سپس افزایش دما تا ۲۴۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۱۵ درجه سانتی‌گراد در هر دقیقه و پس از آن افزایش دما به ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد با سه دقیقه توقف در این دما (۳۰۰) صورت گرفت. دمای اتاق تزریق ۲۹۰ درجه سانتی‌گراد و از گاز هلیوم به عنوان گاز حامل با سرعت جریان ۰/۸ میلی‌لیتر در دقیقه استفاده شد.

طیف‌نگار جرمی (MS) مورد استفاده مدل Agilent 5673 با ولتاژ یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت، روش یونیزاسیون EI و دمای منبع یونیزاسیون ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد بود. محدوده‌ی اسکن طیف‌ها از ۵۰ تا ۵۵۰ نانومتر تنظیم شد. نرم‌افزار مورد استفاده Chemstation بود. شناسایی طیف‌ها به کمک شاخص بازداری آنها و مقایسه‌ی آن با شاخص‌های موجود در کتب مرجع [۱۴] و با استفاده از طیف‌های جرمی ترکیبات استاندارد و استفاده از اطلاعات موجود در کتابخانه‌ی کامپیوتری صورت گرفت.

تعیین محتوی فنلی

محتوی فنلی توسط اسپکتروفتومتر مدل UNICO 2100 در طول موج ۷۲۵ نانومتر، با روش فولین-سیوکالتو و با متد تغییر یافته Chune اندازه‌گیری شد [۱۵]. در این آزمایش ۱۰ میکرولیتر عصاره‌های متانولی به همراه ۴۹۰ میکرولیتر متانول ۸۰ درصد درون فالکون‌های ۱۵ میلی‌لیتری ریخته شد، سپس ۵۰۰ میکرولیتر فولین - سیوکالتو به محتوی فالکون اضافه شد و پس از ۲ دقیقه، ۱ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۷ درصد به مخلوط واکنش اضافه شد و حجم نهایی با استفاده از آب مقطر به ۶ میلی‌لیتر رسانده شد. فالکون‌ها به مدت ۹۰ دقیقه درون حمام بن ماری ۳۰ درجه سانتی‌گراد (شرایط تاریکی) قرار داده شدند و سپس جذب با استفاده از اسپکتروفتومتر و در طول موج ۷۲۵ نانومتر [۱۶]

در این رابطه %RSA بیانگر فعالیت بازدارندگی رادیکال، ab. Control: میزان جذب شاهد و ab. Sample بیانگر میزان جذب نمونه می‌باشد. به منظور بررسی بهتر فعالیت آنتی‌اکسیدانی از شاخص IC₅₀ استفاده شد.

IC₅₀: غلظتی از نمونه که می‌تواند ۵۰ درصد رادیکال‌های آزاد DPPH اولیه موجود در محیط را احیا نماید و برای محاسبه‌ی آن ابتدا نموداری از رابطه‌ی میان مقادیر غلظت عصاره و درصد DPPH باقی‌مانده رسم نموده و با توجه به نمودار حاصل و به صورت ترسیمی غلظتی از عصاره را که قادر است ۵۰ درصد رادیکال‌های آزاد را خنثی بکند، تعیین می‌شود.

نتایج

آنالیز اسانس

در این مطالعه ۴۵ ترکیب از آنالیز اسانس پیکره‌ی رویشی به همراه سرشاخه‌های گلدار گیاه گل راعی شناسایی شد که در مجموع ۹۴/۸۷ درصد از کل اجزای اسانس را شامل می‌شدند (جدول شماره ۱).

در این میان مونوترپن‌ها بیشترین جزء اسانس را تشکیل می‌دادند که بیشترین مقدار آنها مربوط به آلفا پینن (۲۱/۸۸ درصد) بود. پس از این ترکیبات الکان‌ها (۲۴/۷ درصد) با اجزای غالب نونان (۹/۷۷ درصد) و ان - اکتان (۹/۱۳ درصد)، سزکویی ترپن‌ها (۲۰/۸۸ درصد) با جزء غالب گاما‌هیماچالن (۵/۹۹) و الکل‌ها با جزء غالب دودکانول (۶/۸۰ درصد) به عنوان مهم‌ترین ترکیبات اسانس گیاه گل راعی شناسایی شدند.

اندازه‌گیری شد. در این روش گالیک اسید به عنوان استاندارد و برای رسم منحنی کالیبراسیون مورد استفاده قرار گرفت.

بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی با آزمون به دام اندازی رادیکال DPPH

رادیکال DPPH کاربرد بالایی در بررسی‌های خواص آنتی‌اکسیدانی اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی دارد. این روش بر پایه‌ی احیای محلول متانولی رادیکال آزاد DPPH توسط ترکیبات آنتی‌اکسیدانی از جمله فنل‌ها استوار است، این ترکیبات دارای گروه‌های دهنده‌ی هیدروژن (RH) بوده و منجر به شکل‌گیری فرم‌های غیررادیکالی DPPH می‌شوند. در این حالت محلول حاوی رادیکال DPPH از بنفش تیره به زرد تیره تغییر رنگ داده و میزان جذب آن در ۵۱۷ نانومتر کاهش می‌یابد (این رادیکال چربی دوست بوده و حداکثر جذب آن در ۵۱۷ نانومتر می‌باشد) [۱۷،۱۸].

فعالیت بازدارندگی رادیکال‌های آزاد توسط DPPH بر اساس آزمون گزارش شده توسط Kikuzaki و همکاران [۱۹] صورت گرفت. در این آزمایش غلظت‌های مختلفی از عصاره‌ی متانولی تهیه و به هر کدام از این غلظت‌ها ۱۰۰۰ میکرولیتر DPPH ۰/۴ میلی‌مولار اضافه شد و حجم نهایی با استفاده از متانول خالص به ۵ میلی‌لیتر رسانده شد. نمونه‌ی شاهد مثبت نیز حاوی ۱۰۰۰ میکرولیتر DPPH ۰/۴ میلی‌مولار و ۴ میلی‌لیتر متانول خالص بود. سپس محتوی واکنش شدیداً تکان داده شده و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق و شرایط تاریکی قرار داده شد. پس از کالیبره کردن اسپکتروفتومتر با متانول جذب محلول‌ها (شاهد مثبت و محلول‌های حاوی عصاره) در طول موج ۵۱۷ نانومتر اندازه‌گیری شدند. درصد بازدارندگی رادیکال‌های آزاد DPPH با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$\% \text{ RSA (Radical Scavenging Activity)} = [1 - (\text{ab} / (\text{ab. Sample} - \text{ab. Control})) / \text{ab. Control} \times 100]$$



جدول شماره ۱- ترکیبات تشکیل دهنده‌ی اسانس *H. perforatum* جمع‌آوری شده از تنکابن

شماره ترکیبات	نوع ترکیب	میزان (درصد)	شاخص بازدارندگی
۱	<i>n- octane</i>	۹/۱	۸۴۲
۲	<i>Norbornene</i>	۰/۴	۸۵۸
۳	<i>Nonane</i>	۹/۷	۹۰۰
۴	<i>Alpha- pinene</i>	۲۱/۸	۹۳۳
۵	<i>5-methyl-3- heptanone</i>	۵/۱	۹۷۰
۶	<i>Beta- pinene</i>	۱/۴	۹۷۲
۷	<i>Myrcene</i>	۱/۴	۹۸۹
۸	<i>n- decane</i>	۰/۱	۹۹۷
۹	<i>Para cymene</i>	۰/۱	۱۰۲۰
۱۰	<i>Limonene</i>	۰/۷	۱۰۲۵
۱۱	<i>Allylhexanoate</i>	۱/۳	۱۰۶۳
۱۲	<i>Undecane</i>	۴/۶	۱۱۰۱
۱۳	<i>Tetrahydrolavandulol</i>	۰/۲	۱۱۳۱
۱۴	<i>Tridecane</i>	۰/۳	۱۲۹۸
۱۵	<i>Alpha-longipinene</i>	۰/۱	۱۳۴۸
۱۶	<i>Ylangene</i>	۰/۲	۱۳۷۰
۱۷	<i>Alpha copaene</i>	۰/۱	۱۳۷۲
۱۸	<i>Nepetalactone</i>	۱/۵	۱۳۸۶
۱۹	<i>Beta-elemene</i>	۲/۴	۱۳۹۱
۲۰	<i>Dodecanal</i>	۰/۱	۱۴۰۵
۲۱	<i>Beta- funebrene</i>	۱/۳	۱۴۱۲
۲۲	<i>E- caryophyllene</i>	۳/۰	۱۴۲۰
۲۳	<i>Gamma- Elemene</i>	۰/۵	۱۴۳۶
۲۴	<i>Alpha- humulene</i>	۰/۲	۱۴۵۲
۲۵	<i>E- beta- farnesene</i>	۰/۵	۱۴۵۶
۲۶	<i>Alpha- acroadiene</i>	۰/۶	۱۴۶۶
۲۷	<i>N- dodecanol</i>	۶/۸	۱۴۷۷
۲۸	<i>Gamma- Himachalene</i>	۵/۹	۱۴۸۵
۲۹	<i>Beta- selinene</i>	۲/۱	۱۴۸۸
۳۰	<i>Delta- selinene</i>	۰/۶	۱۴۹۳
۳۱	<i>Alpha- selinene</i>	۱/۸	۱۴۹۶
۳۲	<i>E,E-alpha-farnesene</i>	۰/۸	۱۵۰۶
۳۳	<i>Gamma cadinene</i>	۰/۲	۱۵۱۳
۳۴	<i>Delta cadinene</i>	۰/۴	۱۵۲۲
۳۵	<i>E- Nerolidol</i>	۱/۱	۱۵۶۳
۳۶	<i>Caryophyllene oxide</i>	۰/۳	۱۵۸۲



ادامه جدول شماره ۱- ترکیبات تشکیل دهنده اسانس *H. perforatum* جمع‌آوری شده از تنکابن

شماره ترکیبات	نوع ترکیب	میزان (درصد)	شاخص بازدارندگی
۳۷	<i>Beta-eudesmol</i>	۱/۲	۱۶۳۷
۳۸	<i>Selin-11-en-4-alpha-ol</i>	۰/۹	۱۶۵۴
۳۹	<i>Beta-bisabolol</i>	۰/۲	۱۶۷۰
۴۰	<i>N-tetradlecanol</i>	۱/۳	۱۶۷۵
۴۱	<i>5-iso cedranol</i>	۰/۲	۱۶۷۷
۴۲	<i>Epi-alpha bisabolol</i>	۰/۵	۱۶۸۲
۴۳	<i>Ethyl tetradecanoate</i>	۰/۳	۱۹۶۲
۴۴	<i>Isophytol</i>	۱/۱	۲۱۱۰
۴۵	<i>Nonacosane</i>	۰/۳	۲۸۹۷
	<i>Monoterpenes</i>	۲۵/۶۳	
	<i>Oxygenate monoterpene</i>	۱/۸۷	
	<i>Sesquiterpenes</i>	۲۰/۸۸	
	<i>Oxygenated sesquiterpenes</i>	۴/۶۶	
	<i>Alkans</i>	۲۴/۷	
	<i>Alcohols</i>	۸/۹۹	
	<i>Others</i>	۸/۱۴	

محتوی فنلی

در این آزمایش منحنی خطی با استفاده از گالیک اسید با غلظت ۲۵ - ۷۰۰ میکرولیتر در میلی‌لیتر با محدوده ضریب تشخیص $r^2 = 0.998$ به دست آمد. محتوی فنلی عصاره متانولی گیاه در این آزمایش ۵۰ میلی‌گرم در اکی‌والانت اسید گالیک بر گرم ماده خشک به دست آمد.

فعالیت آنتی‌اکسیدانی

در این تحقیق ظرفیت بازدارندگی رادیکال DPPH بعد از ۳۰ دقیقه زمان واکنش برای ۵ غلظت مختلف عصاره مورد محاسبه قرار گرفت. پارامتر مورد استفاده برای اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره بر پایه IC_{50} بود و مقدار آن با ضریب تشخیص $r^2 = 0.995$ معادل ۳۴/۳۷ میکروگرم در هر میلی‌لیتر عصاره به دست آمد.

بحث

همان‌طور که اشاره شد گزارش‌های متفاوتی در رابطه با اجزای اسانس گیاه گل راعی در مناطق مختلف جهان وجود دارد که می‌تواند نتیجه عواملی چون شرایط محیطی، زمان برداشت، ژنوتیپ گیاه، نحوه فراوری و غیره باشد. در تحقیقی که روی اجزای اسانس این گیاه در جنوب فرانسه و ترکیه صورت گرفت مونوترپن‌ها (آلفا-پینن) به عنوان مهم‌ترین اجزای اسانس شناسایی شدند که با نتایج این گزارش مطابقت دارد [۹،۲۰]. در گزارشی که از شناسایی اجزای اسانس این گیاه از منطقه‌ی کاشان وجود دارد، جزء غالب اسانس را آلفا - پینن تشکیل می‌داد و نونان و ان - اکتان که در مجموع ۱۸/۹ درصد کل اجزای اسانس تحقیق حاضر را تشکیل می‌دادند، در این گزارش وجود نداشتند [۲۱]. بررسی اجزای اسانس گیاه گل راعی در یوگسلاوی نشان داد که بتا کاریوفیلن



فنلی دارد. در واقع ترکیبات فنلی متابولیت‌های ثانویه گیاهی هستند که در اغلب گیاهان و فرآورده‌های حاصل از آنها وجود داشته و بسیاری از این ترکیبات فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی دارند [۲۳]. عصاره‌ی *H. perforatum* محتوی ترکیبات فنلی زیادی از جمله فلاونوئیدها و اسیدهای فنلی می‌باشد که بیانگر خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ی این گیاه می‌باشد. در تحقیقی که روی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره حاوی مقادیر بالای فلاونوئید (FCHP) (Flavonoid-rich extract of *Hypericum perforatum* L.) گیاه گل راعی در کشور چین صورت گرفت [۲۵] مشخص شد که FCHP توانایی بالایی در بازدارندگی رادیکال‌های DPPH و سوپر اکسید دارد. IC_{50} به دست آمده در این مطالعه با استفاده از آزمون رادیکال DPPH معادل $10/63$ میکروگرم بر میلی‌لیتر به دست آمده بود. در حالی که IC_{50} حاصل از عصاره‌ی متانولی گیاه گل راعی به دست آمده در تحقیق حاضر معادل $34/37$ میکروگرم بر میلی‌لیتر محاسبه شد که این اختلاف می‌تواند بیانگر اهمیت فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فلاونوئیدی در این گیاه باشد. به عبارتی کمتر بودن فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ی کل می‌تواند بیانگر وجود سایر ترکیبات با خاصیت آنتی‌اکسیدانی ضعیف یا بدون فعالیت آنتی‌اکسیدانی در عصاره باشد.

در بررسی دیگر که روی خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ی اتانولی این گیاه در کشور پرتغال صورت گرفت IC_{50} معادل 21 میکروگرم در اکیوالنت بیوماس وزن خشک بر میلی‌لیتر به دست آمد. نتایج به دست آمده از این مطالعه و دیگر مطالعات صورت گرفته در این گیاه بیانگر فعالیت بالای آنتی‌اکسیدانی گیاه گل راعی می‌باشد [۲۶].

۲- متیل اکتان اجزای غالب اسانس را تشکیل می‌دهند [۲۲] ولی در تحقیقی که در لیتوانی روی ارقام مختلف *H. perforatum* صورت گرفت سزکونی ترین‌های اکسیژنه (مانند کاریوفیلن اکساید در برگ‌ها $29/5 - 7/7$ درصد) و گل‌ها $25/9 - 9/3$ درصد) اجزای غالب اسانس در تمامی جمعیت‌ها را تشکیل می‌دادند و تعداد کمی از مونوترپن‌های اکسیژنه در اسانس آنها گزارش شد (حداکثر مقدار آلفاپینن گزارش شده $1/5$ درصد بود) [۵] در حالی که سزکویی‌ترین‌های اکسیژنه در نمونه‌ی مورد بررسی دارای مقدار بسیار پایینی بود و مقدار کاریوفیلن اکساید تنها $0/31$ درصد اسانس را تشکیل می‌داد.

علاوه بر اسانس، این گیاه حاوی ترکیبات فنلی زیادی چون فلاونوئیدها، هایپریسین و هایپرفورین است که عمده شهرت این گیاه به دلیل وجود این ترکیبات است. مکانیسم عمومی ترکیبات فنلی در جهت فعالیت آنتی‌اکسیدانی خنثی کردن رادیکال‌های آزاد لیپید و جلوگیری از تجزیه هیدروپروکسیدازها به رادیکال‌های آزاد می‌باشد [۱۶]. در تحقیقی که در ترکیه روی محتوی فنلی با استفاده از ۲ حلال استون: آب (۷:۳) و آب صورت گرفت محتوی فنلی در روش اول $150/44$ میلی‌گرم در اکیوالنت اسید گالیک بر گرم ماده‌ی خشک و در روش استخراج با آب $33/01$ به دست آمد [۲۴]. در تحقیق حاضر همان‌طور که اشاره شد محتوی فنلی با استفاده از عصاره متانولی 80 درصد، 50 میلی‌گرم در اکیوالنت اسید گالیک بر گرم ماده‌ی خشک به دست آمد. تحقیقات مختلفی که روی محتوی فنلی با حلال‌های مختلف صورت گرفته بیانگر این است که نوع حلال نقش مؤثری بر محتوی

منابع

1. Crockett S. Essential Oil and volatile components of the genus *Hypericum* (Hypericaceae). *Nat. Prod. Commun.* 2010; 5 (9): 1493 – 506.
2. Lebaschy MH, Matin A and Sharifi E. Comparison of hypericin between natural and agroecosystems. *Pajouhesh and Sazandegi J.* 2003; 59: 48 – 54.
3. Avato P and Guglielmi G. Determination of major constituents in St. John's wort under different extraction conditions. *Pharm. Biology* 2004; 42: 83 – 9.



4. Zobayed S. M. A, Afreen F and Kozai T. Temperature stress can alter the photosynthetic efficiency and secondary metabolite concentrations in St. John'swort. *Plant Physiol. Biochem.* 2005; 43: 977 – 84.
5. Radusienea J, Judzentieneb A and Bernotieneb G. Essential oil composition and variability of *Hypericum perforatum* L. growing in Lithuania. *Biochem Syst Ecol.* 2005; 55: 113 – 24.
6. Glisic S, Popadic S and Skala D. St. John's Wort (*Hypericum perforatum* L.) -Supercritical extraction, antimicrobial and antidepressant activity of extract and their components. *Chem. Industry* 2006; 60: 61 - 72.
7. Ciccarelli D, Andreucci A.CandPagni A.M. Translucent glands and secretary canals in *Hypericum perforatum* L. (Hypericaceae): morphological, anatomical and histochemical studies during the course of ontogenesis. *Ann. Bot.* 2001; 88: 637 – 44.
8. Renato B and Gianni S. Factors affecting polyphenol biosynthesis in wild and field grown St. John's Wort (*Hypericum perforatum* L. Hypericaceae/Guttiferae). *Molecules* 2009; 14, 682 - 725.
9. Schwob I, Bessiere J. M, Masotti V. R and Viano J. Changes in essential oil composition in SaintJohn'swort (*Hypericum perforatum* L.) aerialparts during its phenological cycle. *Biochem. Syst. Ecol.* 2004; 32: 735 – 45.
10. Cirak C, Radusiene J, Karabuk B, Janulis VandIvanauskas L. Variation of bioactive compounds in *Hypericum perforatum* growing in Turkey during its phenological cycle. *J. Integr. Plant Biol.* 2007; 49: 615 - 20.
11. Bennick A. Interaction of plant polyphenols with salivary proteins. *Crit. Rev. Oral Biol. Med.* 2002; 13: 184 - 96.
12. Robards K and Antolovich M. Analytical chemistry of fruit bioflavonoids. A review. *Analyst.* 1997; 122: 11 - 34.
13. Rainha N, Lima E, Baptista J and Rodrigues C. Antioxidant properties, total phenolic, total carotenoidand chlorophyll content of anatomical parts of *Hypericum foliosum*. *JMPR.* 2011; 5 (10): 1930 - 40.
14. Adams R.P. Identification of essential oils by gas chromatography quadrupole mass spectroscopy. Allured Publishing Corporation, Carol Stream, USA. 2001.
15. Chun O. K, Kim D. O and Lee CY. Superoxideradical scavenging activity of the major polyphenols infreshplums. *J. Agric. Food Chem.* 2003; 51: 8067 - 72.
16. Rohman A, Riyanto S, Yuniarti N, Saputra W. R, Utami R and Mulatsih W. Antioxidant activity, total phenolic, and total flavaonoid of extracts and fractions of red fruit (*Pandanus conoideus* Lam). *IFRJ.* 2010; 17: 97 - 106.
17. Paixao N, Perestrelo R, Marques J. C. and Camara J. S. Relationship between antioxidant capacity and total phenolic content of red, rose´ and white wines. *Food Chem.* 2007; 105: 204 – 14.
18. Demirci B, Kosar M and Demirci F. Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil of *Chaerophyllum libanoticum* Boiss. Kotschy. *Food Chem.* 2007; 105: 151 - 7.
19. Kikuzaki H, Hisamoto M, Hirose K, Akiyama K and Taniguchi H. Antioxidants properties of ferulicacid and its related compounds. *J. Agric. Food Chem.* 2002; 50: 2161 - 8.
20. Cakir A, Duru M. E, Harmandar M, Ciriminna R, Passannanti S and Piozzi F. Comparison of the Volatile Oils of *Hypericum scabrum* L. and *Hypericum perforatum* L. from Turkey. *Flav. and Frag. J.* 1997; 12: 285 - 7.
21. Akhbari M and Batooli H. Composition of *Hypericum perforatum* L. Volatile Oil from



Kashan. *America-Eurasia. J. Sustain. Agric.* 2009; 3 (1): 107 - 10.

22. Gudzic B, Dordevic S, Palic R and Stojanovic G. Essential oils *Hypericum olympicum* L. and *Hypericum perforatum* L. *Flav. and Frag. J.* 2001; 16: 201 – 3.

23. Razali N, Razab R, Mat Junit S and Abdulaziz A. Radical scavenging and reducing properties of extracts of cashew shoots (*Anacardium occidentale* L.). *Food Chem.* 2008; 111: 38 – 44.

24. Elen G, Zkan S and Ayhan F. The phenolic

compounds from *Hypericum Perforatum* and their antimicrobial activities. *Hacettepe J. Biol. & Chem.* 2008; 36 (4): 339 - 45.

25. Zou Y, Lu Y and Wei D. Antioxidant Activity of a Flavonoid-Rich Extract of *Hypericum perforatum* L. in Vitro. *J. Agric. Food Chem.* 2004; 52: 5032 – 9.

26. Silva B. A, Ferreres F, Malva J. O, Dias A. C. P. Phytochemical and antioxidant characterization of *Hypericum perforatum* alcoholic extracts. *Food Chem.* 2005; 90: 157 – 67.

