

بررسی ترکیبات شیمیایی اسانس و فعالیت آنتی اکسیدانی و آنتی میکروبی ترکیبات روغنی گیاه *Mentha longifolia*

مریم اخباری^۱، زهرا آقا جانی^{۲*}، الهام کریمی^۳، اسما مازوچی^۱

۱- پژوهشکده اسانس های طبیعی، دانشگاه کاشان، کاشان، ایران

۲- گروه شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قم، قم، ایران

۳- گروه شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ساوه، ساوه، ایران

چکیده

سابقه و هدف: *Mentha longifolia* با نام عمومی پونه، یکی از قدیمی ترین دارو های گیاهی است که کاربرد فراوانی در مصارف غذایی و طب سنتی ایران دارد. این مطالعه به منظور استخراج روغن اسانسی این گیاه و آنالیز اجزای تشکیل دهنده آن و هم چنین استخراج ترکیبات روغنی و غیر قطبی و بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی و ضد باکتری این عصاره انجام شد.

مواد و روش ها: در این مطالعه، برای اولین بار، روغن اسانسی گیاه با تکنیک SDE استخراج و با استفاده از دستگاه GC-Mass آنالیز و اجزاء آن شناسایی گردید. سنجش اثر آنتی اکسیدانی از طریق مهار رادیکال آزاد DPPH، هم چنین سنجش میزان اثرات ضد باکتری بر روی چهار سویه باکتری به روش دیسک دیفیوژن و از طریق اندازه گیری هاله عدم رشد بر روی عصاره استخراج شده با هگزان انجام شد.

یافته ها: اجزای عمده اسانس، دی-کارون (۵۷/۲ درصد) و لیمونن (۱۵/۷ درصد) می باشند؛ برخی ترکیبات اسانسی شناسایی شده در این مطالعه در گزارش های مشابه به آن ها اشاره نشده است. نتایج نشان می دهد که عصاره هگزانی با وجود غیر قطبی بودن حلال، دارای قدرت مهار قابل ملاحظه ای برای DPPH می باشد. هم چنین خاصیت ضد میکروبی بسیار بالایی نسبت به برخی باکتری های گرم مثبت و گرم منفی نشان داد.

نتیجه گیری: نتایج تحقیق حاضر نشان می دهد که اجزاء استخراج شده توسط حلال هگزان علی رغم قطبیت پایین و ماهیت روغنی ترکیبات، علاوه بر دارا بودن فعالیت آنتی اکسیدانی، دارای قدرت ضد میکروبی چشم گیری می باشند که تاکنون برای این گیاه در منابع علمی گزارش نشده است.

کلمات کلیدی: پونه، *Mentha longifolia*، SDE، فعالیت آنتی اکسیدانی، DPPH، خواص ضد باکتریایی

مقدمه

گیاهان دارویی جزء ذخایر و منابع طبیعی هستند و بسیاری از کشور ها کم یا زیاد از یک چنین منبعی برخوردارند که نوع، تعداد و تنوع گونه های گیاهی براساس شرایط و موقعیت جغرافیایی هر منطقه متفاوت است. استفاده از دارو ها و درمان های گیاهی و به طور کلی فرآورده های طبیعی به ویژه در طی سال های اخیر رو به افزایش بوده و مهم ترین علت آن، اثبات اثرات مخرب و جانبی دارو های

شیمیایی و ایجاد آلودگی های زیست محیطی که کره زمین را تهدید می کند بوده است.

مسئله و دغدغه در درمان آنتی بیوتیکی، مقاومت دارویی و پس از آن عوارض جانبی می باشد. بر این اساس پس از انجام تحقیقات بر روی اثرات گیاهان، بشر اقدام به بهره گیری از آن ها در این مورد نموده است (۶). ترکیبات ضد میکروبی به دست آمده از گیاهان با مکانیسم هایی متفاوت از آنتی بیوتیک ها، باکتری ها را حذف می کنند که این مسئله در درمان عفونت های ناشی از سویه های مقاوم میکروبی از نظر بالینی حائز اهمیت است (۸). باتوجه به رویکرد دوباره برای مصرف دارو ها و فرآورده های گیاهی، بررسی خواص دارویی گیاهان اندمیک هر منطقه از اهمیت خاصی برخوردار می

* نویسنده مسئول:

گروه شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قم، قم، ایران
پست الکترونیکی: Haj_aghajani@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۷/۱

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۴/۱۴

باشد.

مسئله دیگر نیاز بدن به ترکیبات آنتی اکسیدان است، زیرا آنتی اکسیدان ها ترکیباتی هستند که مانع فعالیت رادیکال های آزاد شده و یا سبب حذف آن ها می شوند و سلول های بدن را از اثرات مخرب این ترکیبات مصون نگاه می دارند، از این رو با روند پیری و ابتلا به بیماری های مختلف مبارزه می کنند. این مواد می توانند از تشکیل رادیکال های آزاد در بدن جلوگیری کنند و در صورت تشکیل، تاثیر آن ها را بر بدن کاهش دهند. در حقیقت آنتی اکسیدان ها ترکیباتی هستند که برای پیش گیری و یا کند نمودن آسیب های ناشی از واکنش های اکسیداسیون در بدن به کار می روند و به عنوان خنثی کننده رادیکال های آزاد عمل نموده و از این رو باعث پیش گیری از آسیب ناشی از این ترکیبات در بدن می شوند. این ترکیبات از یک طرف باعث کاهش خطر ابتدا به بیماری های قلبی عروقی و سکتته می شوند و از طرف دیگر از پیشرفت سرطان ها که موجب آسیب به DNA می شوند جلوگیری می کنند (۱۹). علیرغم وجود آنتی اکسیدان های مختلف در پلاسما، سیستم دفاعی بدن به تنهایی قادر به از بین بردن رادیکال های آزاد ایجاد شده در بدن نیست به همین جهت نیاز به تأمین آنتی اکسیدان از منابع خارجی دارد که از طریق منابع غذایی تأمین می شود (۲۳). شواهد بسیار زیادی وجود دارد که سمی بودن و اثرات سوء تغذیه ای آنتی اکسیدان های ساختگی اضافه شده به مواد غذایی را تأیید می کند. علاوه بر این خطر آسیب کبدی و ایجاد سرطان در حیوانات آزمایشگاهی از معایب استفاده از آنتی اکسیدان های ساختگی است (۲۵، ۱۱). بنابراین نیاز به آنتی اکسیدان های قوی با سمیت کم تر و اثر بخشی بیش تر یک ضرورت اجتناب ناپذیر است. آنتی اکسیدان های طبیعی باعث افزایش قدرت آنتی اکسیدان های پلاسما و کاهش ابتلا به بعضی بیماری ها مانند سرطان، بیماری های قلبی و سکتته مغزی می شوند (۲۰). آنتی اکسیدان ها در صنعت نیز به عنوان نگه دارنده مواد غذایی در جلوگیری از فساد و تغییر رنگ غذا ها به کار می روند، از این رو طول عمر مواد غذایی و مدت زمان نگه داری آن ها را افزایش می دهند.

نعنا یکی از قدیمی ترین دارو های گیاهی به شمار می آید. از دو هزار سال قبل تا کنون از گونه های مختلف نعنا به عنوان دارو و ادویه استفاده می شود. از برگ ها، پیکر رویشی و اسانس این گیاه در اکثر فرماکوپه های معتبر به عنوان دارو یاد شده است. گونه های مختلف نعنا، از جمله منابع غنی ترکیبات پلی فنلی بوده و لذا دارای خواص آنتی اکسیدانی می باشد.

آزمون مهار رادیکال آزاد DPPH، یکی از مهمترین آزمون ها جهت سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره های گیاهی می باشد. DPPH یک رادیکال آزاد پایدار است که می تواند یک الکترون و یا

رادیکال هیدروژن قبول کند و به یک مولکول خنثی و پایدار تبدیل شود. این ماده به دلیل داشتن الکترون منفرد دارای جذب قوی در طول موج ۵۱۷ نانومتر می باشد که در این مرحله، محلول متانولی آن بنفش رنگ است. در حضور آنتی اکسیدان این تک الکترون می تواند به جفت الکترون تبدیل شود. نسبت به تعداد الکترون دریافتی، جذب به صورت وابسته به غلظت کاهش می یابد. رنگ محلول در این مرحله به زرد یا بی رنگ تغییر می کند. با استفاده از این تغییر جذب می توان توانایی مولکول های مختلف را به عنوان مهارکننده رادیکال آزاد سنجید. در واقع میزان تغییر در جذب هر نمونه به قدرت و توانایی جذب رادیکال بستگی دارد.

عمل احیا شدن DPPH و کاهش جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر، در دمای اتاق و پس از گذشت ۵ دقیقه از شروع واکنش صورت می گیرد. مزیت معرف DPPH، این است که در زمان کوتاهی می توان تعداد زیادی نمونه را اندازه گیری نمود و نیز از حساسیت کافی برخوردار است.

گزارش های مشابه موجود در منابع در مورد گیاه نعنا از کشور های مختلف نشان می دهد اسانس و عصاره های تهیه شده از بعضی از گونه های آن دارای اثرات آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی قابل توجه بوده است (۱۳، ۱۵). گونه های مختلف این جنس، از جمله گیاهان پر اسانس بوده و بنابراین به عنوان یک گیاه صنعتی در تعدادی از کشور های دنیا کشت می شوند (۲۲). *Mentha longifolia* با نام عمومی پونه، یکی از گونه های مهم نعنا است که خواص ضد آسم، ضد اسپاسم، ضد نفخ و حشره کشی آن به اثبات رسیده است (۷، ۱۰). بسیاری از مطالعه ها جدید اثرات مختلف دارویی و درمانی این گیاه را نشان می دهد مانند خصوصیات آنتی موتاژنیک یک فلاونوئید جدا شده از نعنا (۱۲) و یا فعالیت ضد اسهالی این گیاه (۱۴).

گزارش هایی از اجزاء اسانس این گیاه، استخراج شده با روش معمول تقطیر با بخار آب از مناطق مختلف جهان (ایران، تاجیکستان و تونس) وجود دارد که در آن ها ترکیبات سیس پی پریتون اپوکسید، پی پریتون، کارون، پولگون، آلفا ترپین ال و منتون به عنوان ترکیبات اصلی موجود در اسانس این گیاه معرفی شده اند (۲۱، ۱۷، ۹).

با توجه به اینکه روش و نوع حلال به کار رفته، در استخراج ترکیبات فرار گیاهان دارویی بسیار موثرند، در این تحقیق اجزاء اسانس گیاه *Mentha longifolia* به روش تقطیر و استخراج با بخار همزمان با حلال آلی (SDE) استخراج شده و با استفاده از دستگاه GC-MS آنالیز و خواص آنتی باکتریال و آنتی اکسیدانی عصاره n-هگزانی آن بررسی گردیده است.

روش کار

الف: تهیه گیاه و استخراج اسانس

گیاه *Mentha longifolia* در تابستان ۱۳۹۰ از مزارع اطراف تهران برداشت شد، بعد از جدا کردن پوسیدگی ها و آلودگی ها خشک گردید و پس از پودر شدن، ۵۰ گرم از آن با حلال هگزان به مدت ۳ ساعت به روش SDE استخراج شد. پس از آب گیری از محصول توسط سولفات سدیم بدون آب، تبخیر حلال در دمای ۳۰°C صورت گرفت و اسانس حاصل تا زمان تزریق به دستگاه GC در فریزر نگه داری شد.

ب: تجزیه اسانس

نمونه اسانس با استفاده از یک دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC) مدل Agilent HP-6890 مجهز به آشکارساز FID (یونیزاسیون با شعله هیدروژن) و یک دستگاه GC-MS^۲ از نوع Hewlett-Packard 6890-5972 با سیستم مجهز به ستون مویینه HP-5MS (به طول ۳۰ متر، قطر ۰/۲۵ میلی متر و ضخامت لایه داخلی ۰/۲۵ میکرون) تجزیه شد. گاز حامل هلیوم با جریان ۵/۱ میلی لیتر در دقیقه و نسبت شکافت نمونه ۱ به ۱۰ بود. برنامه دمایی ستون از ۶۰ تا ۲۴۶ درجه سانتی گراد با سرعت ۳ درجه در دقیقه تنظیم شد و در انت ها به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۲۵۰ درجه به عنوان پست ران قرار گرفت. طیف های جرمی در ۷۰ الکترون ولت تهیه شدند. شناسایی اجزای اسانس در نتیجه مقایسه طیف جرمی آن ها با بانک طیفی و مقایسه ضرایب بازداری آن ها با مقادیر مرجع صورت گرفت (۲). ضرایب بازداری با استفاده از زمان های بازداری آلکان های نرمال که با همان دستگاه و تحت همان شرایط تزریق شد، محاسبه شدند. مقادیر نسبی اجزا از روی سطح کل پیک ها توسط نرم افزار دستگاه محاسبه شد.

ج: استخراج ترکیبات روغنی و غیر قطبی

به منظور استخراج ترکیبات روغنی و غیر قطبی از گیاه، عصاره گیری از برگ خشک شده گیاه توسط حلال هگزان با استفاده از دستگاه سوکسله به مدت ۸ ساعت انجام شد. پس از تبخیر حلال توسط دستگاه تبخیرکننده چرخان در ۳۰°C و سپس آون تهویه، عصاره به آون خلاء انتقال یافت و به مدت ۷ ساعت در دمای ۲۵°C تحت خلاء قرار گرفت تا عصاره جامد خمیری به دست آید.

د: سنجش میزان اثر آنتی اکسیدانی

به منظور بررسی اثرات آنتی اکسیدانی عصاره، آزمون مهار رادیکال آزاد DPPH انجام شد و نتایج حاصله مورد بررسی قرار گرفت. محلول عصاره با غلظت معین ساخته شد، سپس محلول عصاره با

حجم برابر از محلول DPPH با غلظت ۱ mg/ml مخلوط و پس از خواندن جذب محلول ها توسط دستگاه UV-Vis در طول موج ۵۱۷ نانومتر، درصد مهار رادیکال DPPH (I) ، محاسبه گردید (۳).

I مطابق این رابطه محاسبه می شود:

$$I = [A_b - A_s / A_b] \times 100$$

جذب شاهد: A_b , جذب نمونه: A_s

ه: سنجش میزان فعالیت ضد میکروبی

میزان فعالیت ضد میکروبی از طریق اندازه گیری هاله

عدم رشد بر روی چهار سوبه باکتری

(*Escherichia coli* (ATCC 10536), *Staphylococcus aureus*

(ATCC 29737), *Staphylococcus epidermidis* (ATCC

(12228), *Proteus vulgaris* (PTCC 1182),

به روش دیسک دیفیوژن با استفاده از دیسک های استاندارد به قطر ۶ میلیمتر، در محیط کشت آگار انجام شد (۴).

میکرو ارگانیسم های مورد استفاده برای تعیین خصلت ضد میکروبی که تعدادی از باکتری های پاتوژن می باشند، توسط Iranian Research Organization for Science and Technology (IROST) فراهم شدند.

یافته ها

در اسانس گیاه *Mentha longifolia* ۲۹ ترکیب شامل ۹۶/۹ درصد کل اجزا شناسایی شدند (جدول ۱).

این اسانس دارای مواد عمده دی-کارون (۲/۵۷ درصد) و لیمونن (۷/۱۵ درصد) می باشد. سایر اجزای مهم، ۱ و ۸ سینئول (۴/۷ درصد) و دی هیدرو کارون (۳/۴ درصد) هستند.

ترپنوییدی (۱/۳ درصد) بود (جدول ۲).

جدول ۲- طبقه بندی ترکیبات شیمیایی اسانس اندام های هوایی. M.

جدول ۱ - ترکیبات اسانس گونه M. longifolia به دست آمده به روش

longifolia		
نوع ترکیبات غلظت ()		
۲۰/۱	Saibnene, α -Pinene, Camphene, β -Pinene, β - Myrcene, Limonene, β -Ocimene	منوترپین های هیدروکربنی
۷۲/۱	1,8 Cineol, Menthofuran, Linalool, Pulegone, D-Carvone, Piperitenone, Borneol, Terpinen-4-ol, Dihydrocarvone, Dihydrocarvyl acetate, Trans-Carvyl acetate	منوترپین های اکسیژن دار
۳/۴	Caryophyllene, Germacrene, β -Bourbonene, α -Humulene, γ -Elemene, β -Cubebene	سسکوئی ترین های هیدروکربنی
۱/۳	2-Hexenal, 3-Octanol, 3-Octyl acetate, Acetic acid, Dihydroedulan	سایر ترکیبات

SDE				
ردیف	نام ترکیبات	زمان بازداری	ضریب بازداری (RI)	مقدار (درصد)
۱	2-Hexenal	۵/۴۴	۸۴۹	۰/۲
۲	α -Pinene	۷/۵۷	۹۳۶	۰/۹
۳	Camphen	۸/۰۳	۹۵۲	۰/۲
۴	Sabinene	۸/۸۰	۹۷۷	۰/۵
۵	β -Pinene	۸/۹۵	۹۸۲	۱/۳
۶	β -Myrcene	۹/۳۳	۹۹۵	۱/۲
۷	3-Octanol	۹/۴۸	۱۰۰۰	۰/۳
۸	Limonene	۱۰/۹۸	۱۰۳۹	۱۵/۸
۹	1,8-Cineole	۱۱/۰۴	۱۰۴۱	۴/۷
۱۰	β -Ocimene	۱۱/۴۱	۱۰۵۱	۰/۲
۱۱	Linalool	۱۳/۴۵	۱۱۰۴	۰/۳
۱۲	3-Octyl acetate	۱۴/۳۶	۱۱۲۶	۰/۲
۱۳	Menthofuran	۱۶/۲۳	۱۱۷۱	۲/۷
۱۴	Borneol	۱۶/۳۰	۱۱۷۳	۰/۷
۱۵	Terpinen-4-ol	۱۶/۷۴	۱۱۸۳	۰/۴
۱۶	Dihydrocarvone	۱۷/۶۲	۱۲۰۴	۳/۴
۱۷	Pulegone	۱۹/۴۸	۱۲۴۹	۱/۷
۱۸	D-Carvone	۲۰/۱۱	۱۲۶۳	۵۷/۲
۱۹	Acetic acid	۲۱/۴۵	۱۲۹۵	۰/۲
۲۰	Dihydroedulan	۲۱/۸۰	۱۳۰۴	۰/۴
۲۱	Dihydrocarvyl acetate	۲۳/۱۳	۱۳۳۶	۰/۴
۲۲	Piperitenone	۲۳/۷۰	۱۳۵۰	۰/۲
۲۳	Trans-Carvyl acetate	۲۴/۵۳	۱۳۷۰	۰/۴
۲۴	β -Bourbonene	۲۵/۵۰	۱۳۹۳	۰/۶
۲۵	Caryophyllene	۲۶/۹۴	۱۴۲۹	۱/۴
۲۶	α -Humulene	۲۸/۲۳	۱۴۶۲	۰/۲
۲۷	Germacrene	۲۸/۵۹	۱۴۷۱	۰/۲
۲۸	β -Cubebene	۲۹/۳۴	۱۴۹۰	۰/۸
۲۹	γ -Elemene	۲۹/۹۰	۱۵۰۴	۰/۲
جمع کل ۹۶/۹				

نتایج حاصل از ارزیابی قدرت مهار رادیکال آزاد عصاره هگزانی و استاندارد BHT در جدول ۳ ارائه شده است. نتایج نشان می دهد که عصاره مذکور دارای قدرتی بیش تر از ۳۰ قدرت مهار استاندارد BHT در غلظت ۵۰۰ g/ml می باشد که این میزان با توجه به غیر قطبی بودن ترکیبات استخراج شده بسیار مطلوب است.

نتایج حاصل از سنجش میزان اثرات ضد باکتری بر روی چهار سویه باکتری شامل باکتری های گرم مثبت و گرم منفی (جدول ۴) نشان می دهد که ترکیبات روغنی استخراج شده توسط n-هگزان با دارا بودن قطر هاله بین ۱۱ تا ۲۹ نسبت به همه باکتری ها اثر مهارکنندگی قابل ملاحظه ای داشته است.

بنابراین اسانس گیاه، شامل ۷ ترکیب منوترپین هیدروکربنی (۲۰/۱ درصد)، ۱۱ ترکیب منوترپین اکسیژن دار (۷۲/۱ درصد)، ۶ ترکیب سزکویی ترین هیدروکربنی (۳/۴ درصد) و ۵ ترکیب هیدروکربن غیر

(۱۸ و ۲۴)، نشان می دهد که این ترکیبات می توانند اجزاء مهمی در تعیین نوع شیمیایی این گونه باشند.

اما در گزارش دیگری ترکیبات اصلی اسانس این گیاه را سیس پیپریتون اپوکسید، پولگون و پیپریتون اکسید گزارش کرده اند (۵). در راستای ارزیابی فعالیت بیولوژیک گیاه، خاصیت آنتی اکسیدانی و فعالیت ضد میکروبی مد نظر قرار گرفت. هم چنان که گفته شد آزمون سنجش مهار رادیکال آزاد DPPH به علت سهولت، سرعت و دقت بالا جهت سنجش خواص آنتی اکسیدانی و آزمون ارزیابی مهار رشد میکروب از طریق اندازه گیری هاله عدم رشد در روش دیسک دیفیوژن جهت سنجش خواص ضد میکروبی انتخاب شدند.

هم چنان که در جدول ملاحظه می شود، ترکیبات روغنی و غیر قطبی استخراج شده از این گیاه، حتی در غلظت ۱۰۰ g/ml هم خاصیت آنتی اکسیدانی معناداری را نشان می دهد اگر چه این مقدار در مقایسه با میزان فعالیت مربوط به آنتی اکسیدان استاندارد BHT بسیار کم تر است. میزان فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره مورد مطالعه، قابل مقایسه با عصاره های قطبی گونه های مختلف نعنا گزارش شده در منابع علمی می باشد (۱۵، ۱۷، ۲۱، ۲۲) این در حالی است که به طور معمول از ترکیبات روغنی و غیر قطبی گیاهان چنین انتظاری نمی رود.

گزارش های فراوانی در منابع علمی در مورد خاصیت ضد میکروبی اسانس و عصاره های استخراج شده با حلال های قطبی مانند آب و الکل ها برای گونه های مختلف نعنا وجود دارد (۱۷، ۱۶، ۱۳، ۶). به عنوان مثال در گزارش عزیزخانی و عطایی (۵) آمده که اسانس نعنا فعالیت ضد میکروبی قابل توجهی در برابر باکتری های مورد آزمایش نشان داده در حالی که عصاره متانولی تقریباً غیرفعال بوده است از سوی دیگر عصاره متانولی نعنا فعالیت آنتی اکسیدانی بیش تری نسبت به اسانس نعنا در بازداری سیستم رادیکال آزاد DPPH و بتا- کاروتن/لینولئیک اسید نشان داده است. ، اسانس و عصاره متانولی نعنا فعالیت آنتی اکسیدانی ضعیف تری نسبت به BHT نشان دادند. اما در مورد خواص بیولوژیکی عصاره های غیر قطبی این گونه ، اطلاعات چندانی در دست نیست. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که عصاره هگزانی گیاه *M. longifolia* از نظر ضد میکروبی دارای فعالیت قابل توجهی نسبت به هر چهار سویه باکتری مورد مطالعه می باشد که قابل مقایسه با آنتی بیوتیک های استاندارد است.

نتیجه گیری

علی رغم وجود گزارش های فراوان در مورد اجزاء اسانسی و فعالیت بیولوژیکی گونه های مختلف نعنا و اثبات ارزش ترکیبات روغنی موجود در آن، تا کنون گزارشی از فعالیت بیولوژیک ترکیبات روغنی فرار و غیر فرار استخراج شده توسط حلال های غیر قطبی، در مورد این گیاه از ایران در منابع علمی ارائه نشده است. نتایج تحقیق حاضر

جدول ۳- نتایج حاصل از آزمون مهار رادیکال آزاد DPPH ترکیبات روغنی

استخراج شده توسط حلال هگزان از گیاه *M. longifolia*

I (mg/ml) (۰/۱)	I (mg/ml) (۰/۵)	نتایج آزمون DPPH نمونه
۱۱/۷۹	۳۲/۴۶	عصاره n-هگزانی
۵۳/۷۹	۹۰/۴۷	استاندارد BHT

جدول ۴- فعالیت ضد باکتری ترکیبات روغنی استخراج شده توسط حلال هگزان

از گیاه *M. longifolia*

DD (mm)				قطر هاله عدم رشد
<i>S. epidermidis</i>	<i>P. vulgaris</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	
۲۹	۱۲	۱۶	۱۱	نمونه
۳۸	۱۱	۱۰	۱۲	استاندارد ریفاپیمین
۴۱	۲۰	۲۱	۱۹	استاندارد جنتامایسین

بحث

اسانس گیاه مورد مطالعه شامل ۷۲/۱ درصد ترکیبات مونوترپن اکسیژن دار می باشد. این گونه ترکیبات از اجزاء ارزشمند اسانسی هستند که به طور عمده خواص فیزیکی شامل رنگ، عطر و طعم و هم چنین فعالیت شیمیایی و بیولوژیکی اسانس ها به خصوص در اسانس گونه های مختلف نعنا، بیش از همه به این ترکیبات مربوط می شود. بنابراین وجود درصد بالایی از مشتقات اکسیژن دار ترپنی نشان دهنده کیفیت بالای این اسانس می باشد. هم چنین شاید بتوان احتمال وجود میزان زیاد این ترکیبات در روغن استخراج شده از برگ های گیاه توسط حلال هگزان را عاملی برای فعالیت مشاهده شده آنتی اکسیدانی (جدول ۳) و به خصوص میکروبی (جدول ۴) دانست.

ترکیبات عمده اسانس (دی-کارون و لیمونن) که از روش SDE استخراج شده است با گزارش ارائه شده در مورد اسانس استخراج شده از این گیاه از ایران به روش معمول تقطیر با آب توسط کلونجر تشابه دارد (۱۸) اما تعداد ترکیبات استخراج شده در این روش بیش تر است.

در اسانس نمونه مورد مطالعه، علی رغم وجود تفاوت هایی از نظر تعداد و نوع ترکیبات استخراج شده که بیش تر ناشی از نوع روش به کار رفته می باشد، شاخص بودن اجزاء دی-کارون و لیمونن که در تطابق با تعدادی از گزارش ها در مورد اسانس این گیاه است

تازه های بیو تکنولوژی سلولی - مولکولی دوره ششم . شماره بیست و یکم زمستان ۱۳۹۴ بررسی ترکیبات ...

علاوه بر شناسایی برخی ترکیبات اسانسی استخراج شده با تکنیک جدید SDE، که در گزارش های مشابه به آن ها اشاره نشده است، نشان می دهد که اجزاء استخراج شده توسط حلال هگزان علاوه بر دارا بودن فعالیت آنتی اکسیدانی، دارای خواص ضد میکروبی چشم گیری می باشند.

بنابراین نتایج، لزوم توجه بیش تر به روش و نوع حلال مصرفی در استخراج ترکیبات طبیعی به منظور استفاده بهینه از منابع غنی ارزشمند نهفته در گیاهان دارویی بیش از پیش محرز می گردد.

سپاسگزاری:

بدین وسیله از زحمات آقای علی اصغر انگاشته واحد که در انجام این تحقیق ما را یاری فرمودند تقدیر و تشکر به عمل می آید.

1. Abu-shanab B, Adwan G, jarrar N, Abu- hijleh A, Adwan K. Antibacterial Activity of Four Plant Extracts Used in Palestine in Folkloric Medicine against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Turk J Biol*, 2006; 30: 195-198.
2. Adams RP. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography /Mass Spectroscopy. Allured Publishing Co. IL. 1995.
3. Akhbari M, Batooli, H, Mozdianfard M. Comparative study of composition and biological activity of SDE prepared essential oil from flowers and fruits of two *Hypericum* species from central Iran. *Nat Prod Res*, 2012; 26(3): 193-202.
4. Akhbari M, Jookar kashi F, Batooli, H. Composition of essential oil and biological activity of extracts of *Viola odorata* L. from central Iran. *Nat Prod Res*, 2012; 26(9): 802-809.
5. Azizkhani M and Ataee M. Antibacterial and antioxidant effects of the essential oil and extract from *Mentha longifolia* Hudson from north of Iran, *J Food Res*, 2012; 22(1), 22-29.
6. Blumenthal M, Goldberg A, Brinckmann J. Sage leaf. In: Blumenthal M, Goldberg A, Brinckmann J, Eds. Herbal medicine. Newtown: Integrative Medicine Communications; 2000; 330-32.
7. Bounds, Gwendolyn Death by Mint Oil: Natural Pesticides, *The Wall Street Journal*, July 30, 2009, accessed December 6, 2010.
8. Eloff JN. It is possible to use herbarium specimens to screen for antibacterial components in some plants. *J Ethnopharmacol*, 1999; 67(3): 355-60.
9. Farukh S, Sharopov Vasila A. S, William N. S. Essential Oil Composition of *Mentha longifolia* from Wild Populations Growing in Tajikistan. *J Med A Plants*, 2012; 1(2): 5-6
10. Foster S, Duke J A. A Field Guide to Medicinal Plants. Boston: Houghton Mifflin Company, 1990.
11. Gao JJ, Igalashi K, Nukina M. Radical scavenging activity of phenylpropanoid glycosides in *Caryopteris incana*. *Biosci Biotechnol Biochem*, 1999; 63: 983-988.
12. Gulluce M, Orhan F, Adiguzel A, Bal T, Guvenalp Z, Dermirezer LO. Determination of antimutagenic properties of apigenin-7-O-rutinoside, a flavonoid isolated from *Mentha longifolia* (L.) Huds. ssp. *longifolia* with yeast DEL assay. *Toxicol Ind Health*. 2013; 29:534-40.
13. Gulluce M, Sahin F, Sokmen M, Ozer H, Daferera D, Sokmen A, et al. Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from *Mentha longifolia* L. ssp. *longifolia*. *Food Chem*, 2007; 103: 1449-1456.
14. Jalilzadeh-Amin G and Maham M. Antidiarrheal activity and acute oral toxicity of *Mentha longifolia* L. essential oil. *Avicenna J Phytomed*, 2015; 5(2):128-37.
15. Kamkar A, Asadi F, Jebelli Javan A, Jamshidi R. Antioxidant capacity of essential oil and extract of Iranian *Mentha spicata*. *J Vet Med Sci Lab*, 2008; 1: 64-72.
16. Mimica-Dukić N, Bozin B, Soković M, Mihajlović B, Matavulj M. Antimicrobial and antioxidant activities of three *Mentha* species essential oils. *Planta Med*, 2003; 69: 413-419.
17. Mkaddem M, Bouajila J, Ennajar M, Lebrihi A, Mathieu F, Romdhane M. Chemical composition and antimicrobial and antioxidant activities of *Mentha (longifolia* L. and *viridis*) essential oils. *J Food Sci*, 2009; 74(7): 358-63.

18. Monfared A, Nabid MR, Rustaiyan A. Composition of a Carvone Chemotype of *Mentha longifolia* (L.) Huds. from Iran. J Essent Oil Res, 2002; 14(1): 51-52.
19. Noguchi N, Niki E. Phenolic antioxidants: A rationale for design and evaluation of novel antioxidant drug for atherosclerosis. Free Rad Biol Med, 2000; 28 (10):1538-1546 .
20. Prior RL, Cao G. Antioxidant phytochemicals in fruits and vegetables. Diet and health implications. Hort Sci, 2000; 35: 588-592.
21. Shariatifar N, Sadeghi T, Zghim-Monfared MM, Kamkar A , Jebelli Javan A, Jamshidi R. In vitro Evaluation of Antioxidant Activity of Iranian *Mentha longifolia* Essential Oil and Extracts. J Med Plants, 2011; 41: 185-194.
22. Sweetie R, Kanatt RC, Arun S. Antioxidant potential of mint (*Mentha spicata* L.) in radiation –processed lamb meat. Food Chem, 2007; 100: 451-458.
23. Young IS, Woodside J. Antioxidants in health and disease. J Clin Pathol, 2001; 54: 176-186.
24. Younis Y.M.H, Beshir S.M. Carvone-rich essential oils from *Mentha longifolia* (L.) Huds. ssp. *schimperi* Briq. and *Mentha spicata* L. grown in Sudan. J Essent Oil Res, 2004; 16: 539–541.
25. Williams GM, Iatropoulos MJ, Whysner J. Safety assessment of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene as antioxidant food additives. Food Chem Toxicol, 1999; 37: 1027-1038.