جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

فصلنامهٔ علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران
جلد ۲۷، شمارهٔ ۳، صفحهٔ ۵۳۹-۵۲۹ (۱۳۹۰)

استخراج و اندازه‌گیری ترکیب کوئرستین در اندامهای مختلف سه گونه گیاهی بومادران *Achillea millefolium* L.، *Achillea biebersteinii* Afan. و *Achillea tenuifolia* Lam.

کامکار جایمند[۱]، هلن اهرابی اصلی[۲*] و اعظم منفرد[۳]

۱- دانشیار، بخش تحقیقات گیاهان دارویی و محصولات فرعی، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور
۲*- نویسنده مسئول، کارشناس ارشد، اداره کل استاندارد استان تهران، پست الکترونیک: helenahrabi@yahoo.com
۳- استادیار، دانشگاه پیام نور، تهران

تاریخ دریافت: ۲۶ مهر ۱۳۸۹ تاریخ اصلاح نهایی: دی ۱۳۸۹ تاریخ پذیرش: دی ۱۳۸۹

چکیده

فلاونوییدها طبقه بزرگی از پلی‌فنل‌ها با بیش از ٤٠٠٠ ترکیب هستند، که در گیاه نقش آنتی‌اکسیدانی را در فتوسنتز به‌عهده دارند و در انسان دارای اثرهای آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی، جلوگیری‌کننده سرطان و محافظت‌کننده از قلب می‌باشند. ترکیب کوئرستین در گروه فلاونول قرار دارد و برای مقابله با ویروس‌ها و سلول‌های سرطانی استفاده می‌شود. هدف از این تحقیق، استخراج و اندازه‌گیری ترکیب کوئرستین در سه گونه گیاهی بومادران *Achillea tenuifolia*، *A. biebersteinii* و *A. millefolium* بود. نمونه‌ها در اوایل خردادماه ۱۳۸۹ از مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور جمع‌آوری و سپس از اندام‌های مختلف (گل، برگ و ساقه) با روشهای مختلف استخراج انجام گردید. در روش اول، نمونه با حلال کلروفرم توسط دستگاه سوکسله به مدت ۷۲ ساعت استخراج گردید. در روش دوم، به نمونه قبلی که با حلال کلروفرم استخراج شده بود پس از جدا کردن حلال، متانول اضافه کرده و مجدداً عمل استخراج انجام گردید. در روش سوم، با توجه به میزان ماده خشک از گیاه تازه و با حلال‌های متانول و اسید استیک (به نسبت ۱:۹) توسط دستگاه آسیاب برقی خرد و همزمان صاف گردید. در روش چهارم، ابتدا گیاه تازه با دستگاه آسیاب برقی خرد شد و سپس با حلال‌های متانول و اسید استیک (به نسبت ۱:۹) و به مدت یک هفته خیسانده سپس صاف گردید، بعد همه نمونه‌های بدست آمده به حجم ۳۰ میلی‌لیتر تغلیظ گردیدند. جمعاً ۳٦ نمونه بدست آمدند که میزان ترکیب کوئرستین توسط دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. بیشترین مقادیر ترکیب کوئرستین در گل (۲۱٦٤ ppm) و برگ *A. millefolium* (۲۰٦٤ ppm) به روش استخراج با سوکسله و حلال متانول بدست آمد. بیشترین مقدار کوئرستین در ساقه*A. millefolium* (۲۰۳٤ ppm)، به روش خیساندن با حلال متانول بدست آمد و کمترین مقادیر کوئرستین در روش استخراج با کلروفرم، در برگ *A. millefolium* (۱۲۷ ppm)، در ساقه *A. biebersteinii* (۱۱۰ ppm) و در ساقه *A. tenuifolia* (۲۳ ppm) مشاهده شد.

واژه‌های کلیدی: بومادران، *A. millefolium* L.، *A. biebersteinii* Afan.، *A. tenuifolia* Lam.، فلاونویید، کوئرستین، کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC).

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقدمه

بومادران (Achillea) در ایران ۱۹ گونه گیاه علفی چندساله و اغلب معطر دارد و از خانواده کاسنی (Asteraceae) است. گونه‌های انحصاری آن عبارتند از: *A. aucheri*، *A. callichroa*، *A. eriophora*، *A. kellalensis*، *A. oxydonta*، *A. pachycephala* و *A. talagonica* و دیگر گونه‌های آن علاوه بر ایران در عراق، آناتولی، سوریه، قفقاز، لبنان، فلسطین، روسیه مرکزی، ماورای قفقاز، ترکمنستان، افغانستان، آسیای جنوب غربی و آسیای مرکزی نیز می‌رویند (مظفریان، ۱۳۷۷). گونه‌های دیگری که در ایران مشاهده شده‌اند عبارتند از: *A. aleppica*، *A. aucheri*، *A. biebersteinii*، *A. conferta*، *A. cuneatiloba*، *A. filipendula*، *A. millefolium*، *A. millefolium subsp. Elbursensis*، *A. nobilis*، *A. oligocephala*، *A. setacea*، *A. tenuifolia*، *A. vermicularis*، *A. wilhelmsii* (مظفریان، ۱۳۷۷).

از مصارف عمده بومادران می‌توان به خواص دارویی آن در بند آوردن خون، معرق بودن، محرک رشد، درمان ناراحتی‌های گوارشی، اسهال، نفخ شکم، به‌عنوان آنتی‌بیوتیک، کاهش‌دهنده تب، درمان بی‌خوابی، دارای اثر آرام‌بخش، خواص استروژنیک، داروی تقویتی برای کبد، درمان سیروز، هپاتیت کبدی، درمان التهاب مفاصل، به‌عنوان دهان‌شویه، درمان خونریزی ریه، کاهش سریع سرماخوردگی، دارای خواص اکسپکتورانت، التیام برای زخم‌ها و جراحات قدیمی، درمان مناسب برای کاهش اوره و ترشح مخاط مثانه اشاره کرد (Spriggs, 1998).

فلاونوئیدها ترکیب‌های پلی‌فنولیکی هستند که در همه غذاها با سرچشمه گیاهی وجود دارند. فلاونوئیدها دارای اثرهای مختلفی بر روی سیستم سلولی پستانداران هستند (Melzig, 1996) و در این رابطه اهمیت گروه‌های هیدروکسیل موجود در جایگاه‌های ۵ و ۷ حلقه‌ی A هسته‌ی فلاون ثابت شده‌است. آنها دارای اثرهایی از قبیل خواص ضدالتهابی، ضدزخم، سیتوتوکسیک، خواص آنتی‌اکسیدانی، همچنین دارای اثرهای مختلفی بر روی آنزیم‌ها هستند (Sanchez de Rojas *et al.*, 1996). فلاونوئیدها دارای اثرهای بازدارنده بر روی عملکرد پلاکت‌ها و لوکوسیت‌ها و دارای اثرهای محافظتی بر روی سلول‌های اندوتلیال هستند و به این ترتیب از اثر متقابل بین دیواره‌ی رگ‌ها و خون که باعث شروع ترومبوز می‌شوند جلوگیری می‌کنند. این عمل را از طریق اثر بر روی فاکتور بافتی مونوسیت‌های انسان که خود از عوامل شروع‌کننده‌ی انعقاد خون است انجام می‌دهند (Lale *et al.*, 1996).

از مهمترین اثرهایی که در تحقیقات امروزی برای فلاونوئیدها قائل‌شده‌اند خواص آنتی‌اکسیدانی قوی آنها است (Lale *et al.*, 1996؛ Hertog *et al.*, 1997؛ Haraguchi *et al.*, 1996؛ Ishikawa *et al.*, 1997؛ Katan & Hollman, 1998؛ Sanchez de Rojas *et al.*, 1996).

به این ترتیب فلاونوئیدها می‌توانند دارای آثار درمانی در رابطه با بیماریهایی که در اثر استرس‌های اکسیداتیو تولید می‌شوند مانند آترواسکلروز کرونری، صدمات ایسکمی، دیابت ملیتوس، پروسه‌های پیری و سرطان باشند (Haraguchi *et al.*, 1996). آنها با ممانعت از اکسیداسیون LDL، باعث کاهش خطرات ابتلا به بیماریهای ایسکمی قلبی (IHD) و آترواسکلروز کرونری می‌شوند (Ishikawa *et al.*, 1997؛ Sanchez de Rojas *et al.*, 1996؛ Katan & Hollman, 1998).

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

کوئرستین یک فلاونول است، فلاونوییدی مشتق شده از گیاهان که از آن به‌عنوان مکمل تغذیه‌ای استفاده می‌شود (Stewart *et al.*, 2008). کوئرستین برای جلوگیری از آزادسازی هیستامین (یک ماده شیمیایی التهابی، که در علائم آلرژی مانند عطسه و خارش نقش دارد) در برخی از سلول‌های ایمنی بدن، مؤثر است (Jaber, 2002). در یک مطالعه تحقیقاتی در سال ۲۰۰۷ که بر روی ٤١ بزرگسال صورت گرفت، محققان دریافتند که مصرف ۷۳۰ میلی‌گرم کوئرستین روزانه به مدت ۲۸ روز، کمک به کاهش فشار خون در افراد مبتلا به این بیماری می‌کند (Edwards *et al.*, 2007). تحقیقات بر روی سلول‌ها نشان داده‌است که کوئرستین کمک به کُند شدن رشد برخی از انواع سلول‌های سرطانی می‌کند. همچنین مطالعات نشان می‌دهد که کوئرستین از انواع سرطان، مانند سرطان روده، جلوگیری می‌کند (Shoskes *et al.*, 1999).

Guédon و همکاران (۱۹۹۲) اولین بار تحقیقی را بر روی دو گونه *Achillea millefolium* و *Achillea ceretanum* انجام دادند و ترکیب‌های فلاونوئیدی برگ و گل این گونه‌ها را شناسایی کردند. در این تحقیق، فلاونوئیدهای عمده، آپی‌ژنین و لوتئولین بودند که عمدتاً به‌صورت ۷-O-گلیکوزید و ۷-مالونیل گلیکوزید یافت شدند.

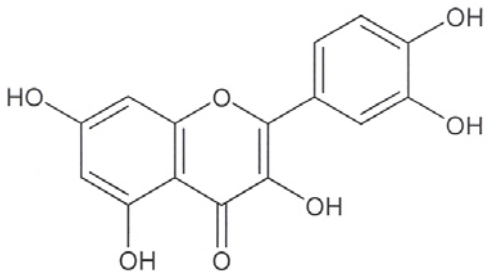
Ivancheva و همکاران (۲۰۰۲) مطالعه‌ای را روی ۷ گونه از *Achillea* (*A. millefolium*؛ *A. setacea* W.K.؛ *A. abrotanoides*؛ *A. clavenae*؛ *A. fraasii*؛ *A. lingulata* و *A. clasiana*) انجام دادند و ترکیب‌های عمده‌ای مانند 6-hydroxyflavonol 3, 6, 4′-trimethyl ethers و 6-hydroxyflavones گلیکوزید لوتئین، کمفرول و کوئرستین و C-گلیکوزیل فلاون‌های آپی‌ژنین و لوتئولین را شناسایی و اندازه‌گیری کردند. در این روش گیاه خشک ابتدا با کلروفرم مخلوط شده، سپس کلروفرم جدا و باقیمانده گیاه در متانول حل می‌شود و توسط دستگاه HPLC شناسایی و اندازه‌گیری می‌شود. با این روش میزان کوئرستین به مقدار بالایی شناسایی گردیده‌است.

در تحقیقی که Dadáková و همکاران (۲۰۱۰) بر روی *Achillea millefolium* و گیاهان دیگر انجام دادند به دو روش استخراج متانولی و تهیه عصاره چای اقدام نمودند. در روش استخراج متانولی ترکیب‌های فلاونوئیدی بعد از هیدرولیز با اسید کلریدریک توسط متانول استخراج شده و سپس با دستگاه HPLC شناسایی و اندازه‌گیری شدند که میزان کوئرستین mg/kg (۲۱٦۰±۱۰۸) گزارش شده‌است. در روش دیگر یعنی تهیه عصاره چای، نمونه با آب داغ ۹۰ درجه ترکیب شده و پس از سرد شدن صاف گردیده و بعد مایع زیر صافی سانتریفوژ شده و در دمای یخچال نگهداری و جهت شناسایی و اندازه‌گیری به دستگاه HPLC تزریق می‌شود که در این روش میزان کوئرستین mg/g ۱/۷۵ گزارش شده‌است.

هدف از این تحقیق، استخراج و اندازه‌گیری ترکیب فلاونوییدی کوئرستین (Quercetin) در سه گونه بومادران جمع‌آوری شده از باغ گیاه‌شناسی ملی ایران می‌باشد. با توجه به این‌که تحقیقی در این زمینه در ایران انجام نشده و با توجه به خواص دارویی ترکیب فلاونوییدی کوئرستین که برای مقابله با ویروس‌ها و سلول‌های سرطانی استفاده می‌شود، بررسی میزان این ترکیب در این گیاهان از اهمیت خاصی برخوردار است (Middleton & Kandaswami, 1986).

خصوصیات شیمیایی ترکیب کوئرستین

ترکیب کوئرستین (Quercetin) با نام‌های 2-(3,4-Dihydroxyphenyl)-3,5,7-trihydroxy-4H-1-benzopyran-4-one و 3,3′,4′,5,7-pentahydroxyflavone و نام‌های معمول دیگری چون meletin، sophoretin، cyanidenolon 1522 دارای فرمول مولکولی $C_{15}H_{10}O_7$ جرم مولکولی ۳۰۲/۲٤ به فرم ساختمانی نشان داده شده در شکل ۱ است. از نظر فیزیکی به صورت سوزن‌های زرد از الکل غلیظ، در ۹۵ تا ۹۷ درجه آب‌گیری شده قابل تهیه است. حداکثر جذب آن در طیف UV در ۲۵۸ و ۳۷۵ نانومتر است. یک گرم آن در ۲۹۰ میلی‌لیتر الکل خالص و در ۲۳ میلی‌لیتر الکل جوش، حل می‌گردد. در اسید استیک گلاسیال محلول و در آب غیرمحلول است. در محلول قلیایی به رنگ زرد می‌باشد. مزه محلول الکلی آن خیلی تلخ است (Merck Index, 2001).



شکل ۱- فرمول ساختمانی کوئرستین

مواد و روشها

جمع‌آوری نمونه‌های مورد آزمایش

با توجه به فصل رویش، نمونه‌های بومادران از باغ گیاه‌شناسی ملی ایران در اوایل خردادماه ۱۳۸۹ جمع‌آوری گردیده‌است.

استخراج

استخراج ترکیب‌های گیاهی به چهار روش زیر انجام شده‌است:

روش اول- مقدار ۲ گرم از اندام‌های خشک شده سه گونه گیاه (گل، برگ و ساقه) به روش سوکسله با ۸۰ سی‌سی کلروفرم به مدت ۷۲ ساعت مورد استخراج قرار گرفت. سپس حلال جدا شده و باقیمانده به حجم ۳۰ میلی‌لیتر رسانده شد. هدف از استفاده از حلال کلروفرم جدا کردن کلروفیل از نمونه بود که وقتی در مرحله بعد از حلال متانول استفاده می‌شود اندازه‌گیری با دتکتور UV دستگاه HPLC بهتر انجام شود، ولی هدف از اندازه‌گیری در این مرحله مشخص نمودن استخراج کوئرستین با حلال کلروفرم نیز بود.

روش دوم- بعد از مرحله اول (استخراج با کلروفرم) از ۸۰ سی‌سی متانول بر روی همان نمونه اول با روش سوکسله به مدت ۷۲ ساعت انجام گردیده، سپس نمونه را به حجم ۳۰ میلی‌لیتر می‌رسانیم.

روش سوم- در این روش با توجه به میزان ماده خشک هر قسمت از گیاه، حدود ۵-٤ گرم از اندام‌های گیاه تازه (گل، برگ و ساقه) را باحلال متانول- اسید استیک (۱:۹) توسط همزن برقی، مخلوط کرده و بلافاصله با کاغذ صافی عصاره را صاف کرده و سپس نمونه را به حجم ۳۰ میلی‌لیتر می‌رسانیم. هدف از استفاده از اسید استیک به مقدار کم، جدا کردن بهتر ترکیب‌های فلاونوییدی بود. Daigle و Conkerton (۱۹۸۲) بر روی ۳٦ گونه کار کردند و حلال مورد استفاده جهت جداسازی ترکیب‌های فلاونوئیدی از فاز متحرک متانول: آب: اسید استیک (۵۰: ٤۵: ۵) استفاده نمودند.

روش چهارم- حدود ۵-٤ گرم (بسته به میزان ماده خشک) از اندام‌های گیاه تازه (گل، برگ و ساقه) را با حلال متانول- اسید استیک (۱:۹) توسط همزن برقی، مخلوط کرده و به مدت یک هفته خیسانده بعد با کاغذ صافی عصاره را صاف کرده و سپس نمونه را به حجم ۳۰ میلی‌لیتر می‌رسانیم.

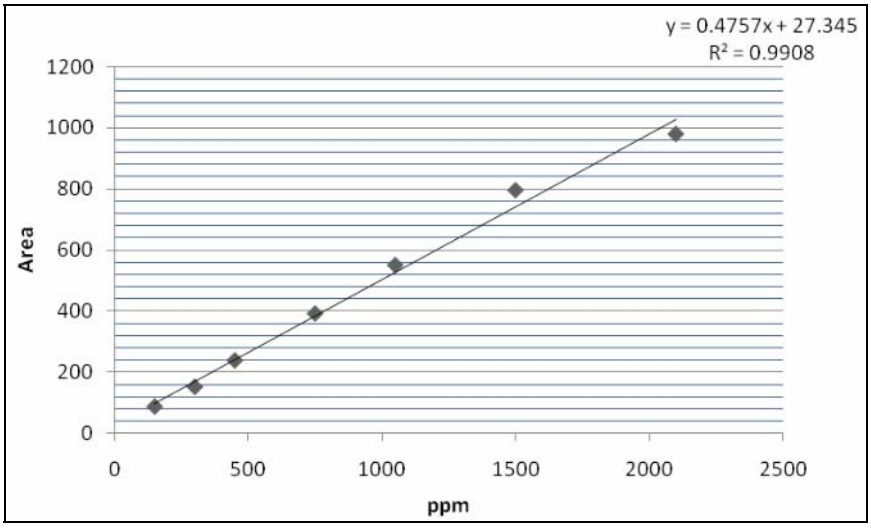
سپس ۳٦ نمونه با روشهای ذکر شده تهیه و در یخچال نگهداری و برای تعیین میزان ترکیب کوئرستین، به دستگاه HPLC تزریق گردید و طبق روش Daigle و Conkerton (۱۹۸۲) تجزیه انجام گردید.

شرایط دستگاهی HPLC

کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) تکنیک مناسبی برای جداسازی و اندازه‌گیری محصولات طبیعی، مواد دارویی و بیوشیمیایی می‌باشد. یکی از روشهای دقیق جهت اندازه‌گیری ترکیب‌های کوئرستین استفاده از HPLC است. دستگاه مورد استفاده ساخت شرکت Knauer مدل Well Chrom 2000، دارای پمپ مدل Maxi-star K-1000 و دتکتور uv-vis مدل Spectrophotometer K-2500 بود که در ۲۹۰ نانومتر تنظیم گردید. ستون مورد استفاده Eurospher $100C_{18}$ به طول ۲۵ سانتی‌متر و قطر ٤ میلی‌متر بود. به‌عنوان فاز متحرک از: متانول: آب: اسید استیک (۵۰: ٤۵: ۵) با شدت جریان یک میلی‌لیتر در دقیقه استفاده شد. مقدار نمونه تزریق شده ۲۰۱μ بود و انجام آزمایش ۲۰ دقیقه به طول انجامید.

آماده‌سازی استانداردها و رسم منحنی کالیبراسیون

استانداردهای مورد استفاده در این طرح ترکیب کوئرستین Quercetin dehydrate با نام علمی 3, 3′, 4′, 5, 6-Pentahydroxyflavonel با فرمول مولکولی $C_{15}H_{10}O_7, 2H_2O$ و با جرم مولکولی 338.27 M به مقدار ۲۵ گرم از شرکت Fluka خریداری گردید. میزان ترکیب کوئرستین با تهیه منحنی استانداردها به‌صورت زیر بررسی شد. برای رسم منحنی خط کالیبراسیون جهت ترکیب کوئرستین با غلظت‌های متفاوتی از هفت نمونه استاندارد با غلظت‌های ppm (۱۵۰، ۳۰۰، ٤۵۰، ۷۵۰، ۱۰۵۰، ۱۵۰۰ و ۲۱۰۰) تهیه و بعد به دستگاه تزریق گردید. سپس میزان ترکیب کوئرستین در اندام‌های مختلف سه گونه بومادران محاسبه شدند.



شکل ۲- منحنی کالیبراسیون ترکیب کوئرستین

نتایج

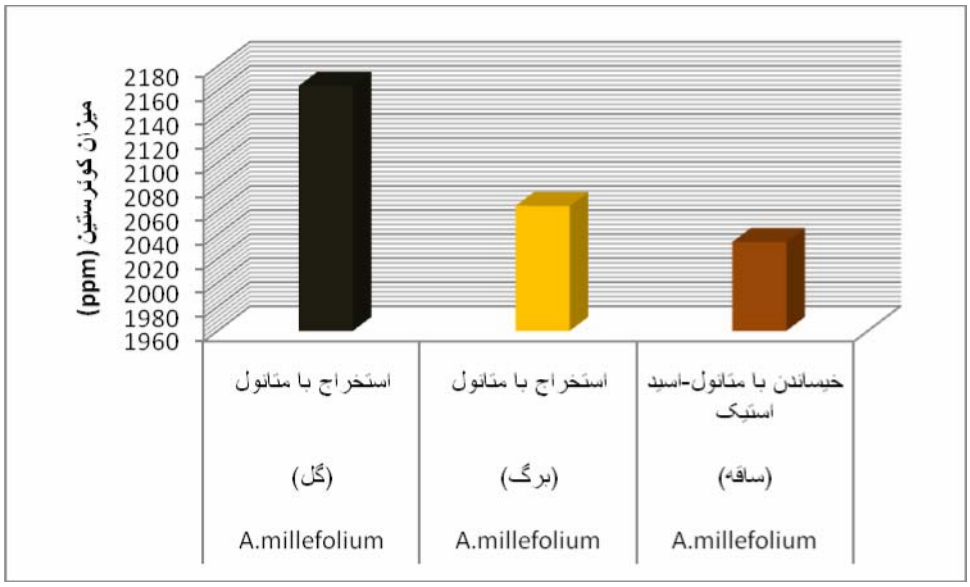
بررسی‌های انجام شده بر روی سه گونه بومادران نشان دادند که اندام هر گونه با توجه به روش مورد استفاده دارای میزان متفاوتی از ترکیب کوئرستین می‌باشد (جدول ۱). از آنجا که حضور این ترکیب در اندام‌های مختلف (گل، برگ و ساقه) سه گونه برای ما ارزشمند می‌باشد، انتخاب اندام گونه و روش بهینه برای صنایع، جهت استخراج ترکیب فوق از اهمیت خاصی برخوردار است.

با توجه به نتایج بدست آمده در جدول ۱، در این بررسی سه گونه بومادران *A. millefolium*، *A. biebersteinii* و *A. tenuifolia* از باغ گیاه‌شناسی ملی ایران جمع‌آوری گردیدند. نتایج بدست آمده در شکل ۲ نشان می‌دهد که در شرایط کشت یکسان بیشترین مقادیر کوئرستین بدست آمده به روش استخراج با سوکسله با حلال متانول در گل *A. millefolium* (۲۱٦٤ ppm)، و در برگ *A. millefolium* (۲۰٦٤ ppm)، در ساقه *A. millefolium* (۲۰۳٤ ppm)، به روش خیساندن با حلال متانول و کمترین مقادیر کوئرستین بدست آمده مربوط به روش استخراج با کلروفرم است که در برگ *A. millefolium* (۱۲۷ ppm)، در ساقه *A. biebersteinii* (۱۱۰ ppm)، و در ساقه *A. tenuifolia* (۲۳ ppm)، بدست آمد.

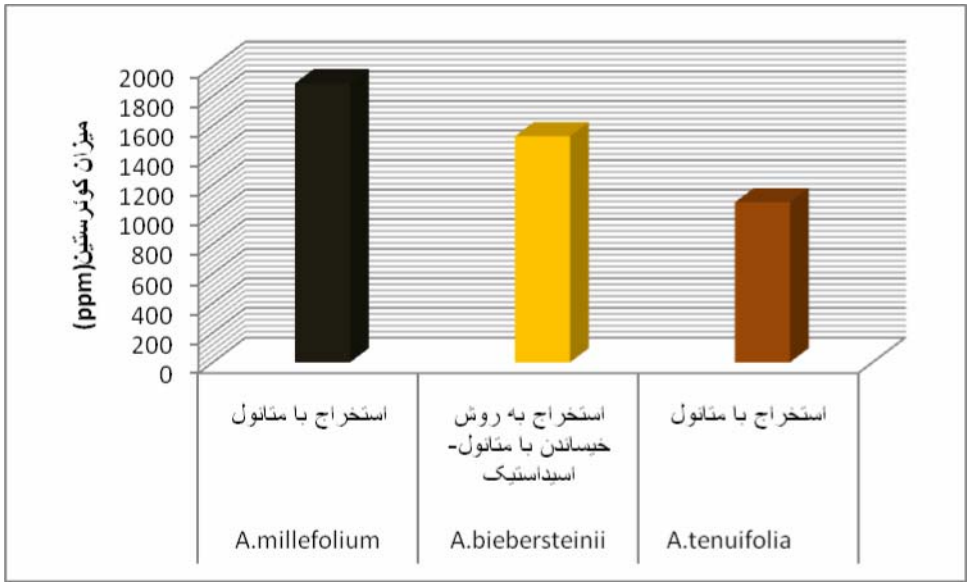
با توجه به میانگین مقادیر بدست آمده از کل گیاه در سه گونه گیاهی بومادران، مطابق جدول ۱ بیشترین مقدار کوئرستین مربوط به *A. millefolium* (۱۸۸۸ ppm) به روش متانول، در *A. biebersteinii* (۱۵۲۹ ppm) به روش خیساندن با حلال متانول- اسید استیک، و در *A. tenuifolia* (۱۰۸۳ ppm) به روش متانولی مطابق شکل ٤ می‌باشد.

جدول ۱- میزان ترکیب کوئرستین در سه گونه گیاهی بومادران

نام گیاه	اندام مورد استفاده	روش اول (استخراج با حلال کلروفرم)	روش دوم (استخراج با حلال متانول)	روش سوم (استخراج همزمان با حلال متانول- اسید استیک)	روش چهارم (خیساندن با حلال متانول- اسید استیک)
		کوئرستین (ppm)			
A. millefolium (بومادران هزاربرگ)	گل	۳۲۶	۲۱۶٤	۸٦۷	۱۱۲۵
	برگ	۱۲۷	۲۰٦٤	۱٦٦۹	۱۰۸۷
	ساقه	۲٤۲	۱٤۳۷	۱۰۲۷	۲۰۳٤
میانگین		۲۳۲	۱۸۸۸	۱۱۸۸	۱٤۱۵
A. biebersteinii (بومادران زرد)	گل	۱۸٦	۱٦۵۳	۵۸٤	۱۹۰۱
	برگ	۱٤۳	۷۲۲	۱٦٦۸	۱۸٦۸
	ساقه	۱۱۰	۹۵۱	۳۵۳	۸۱۷
میانگین		۱٤٦	۱۱۰۸	۸٦۸	۱۵۲۹
A. tenuifolia (بومادران بیابانی)	گل	۷٦۳	۱٦۳۱	۲٦۹	۹۱٤
	برگ	۹۰۷	۱۲۷۵	۱۲۵۹	۱۷۵۷
	ساقه	۲۳	۳٤۳	۲۷۹	۵۱۱
میانگین		۵٦٤	۱۰۸۳	٦۰۲	۱۰٦۰



شکل ۳- بیشترین مقادیر کوئرستین بدست آمده در اندام‌های مختلف



شکل ٤- مقایسه میانگین کوئرستین در سه گونه گیاهی بومادران

بحث

ترکیب فلاونوییدی کوئرستین دارای خواص دارویی بوده و برای مقابله با ویروس‌ها و سلول‌های سرطانی استفاده می‌شوند (Middleton & Kandaswami, 1986). اصولاً استخراج ترکیب کوئرستین به‌عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی یا به‌عنوان افزودن رنگ بکار می‌روند. این ترکیب رادیکال‌های آزاد در بدن را که باعث سرطان و بیماریهایی از قبیل اترواسکلروز می‌شوند، پاک‌سازی نموده و در پیشگیری از بیماریهای قلبی و عروقی سودمند می‌باشد (Rice-Evans *et al.*, 1996). بررسی میزان این ترکیب‌ها در گیاه به‌دلیل اثرهای دارویی، از اهمیت خاصی برخوردار است.

در مطالعه حاضر، استخراج و اندازه‌گیری ترکیب فلاونوییدی کوئرستین از سه گونه بومادران *A. millefolium*، *A. biebersteinii* و *A. tenuifolia* با توجه به بررسی منابع مورد نظر انجام شد. این روش براساس مقاله‌ای که توسط Daigle و Conkerton (۱۹۸۲) روی ۳٤ فلاونویید توسط دستگاه HPLC انجام گرفته بود و شامل ترکیب کوئرستین نیز می‌شد، انجام گردید.

با توجه به میانگین مقادیر بدست آمده از کل گیاه در سه گونه گیاهی بومادران، بیشترین مقدار کوئرستین مربوط به *A. millefolium* (۱۸۸۸ ppm) به روش متانول، در *A. biebersteinii* (۱۵۲۹ ppm) به روش خیساندن با حلال متانول- اسید استیک، و در *A. tenuifolia* (۱۰۸۳ ppm) به روش استخراج با متانول مطابق شکل ٤ می‌باشد. با توجه به این‌که سه گونه مورد نظر در باغ گیاه‌شناسی ملی مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور در سال ۱۳۸۹ نمونه‌برداری شدند، نتایج بدست آمده در یک شرایط محیطی یکسان بدست آمده‌است.

Dadáková و همکاران (۲۰۱۰) مقدار کوئرستین در *A. millefolium* در روش استخراج متانولی را حداکثر ۱۰۸ ppm ± ۲۱٦۰ گزارش نمودند. در تحقیق کنونی میانگین مقادیر کوئرستین، در (گل، برگ و ساقه) و به

روش استخراج با متانول (۱۸۸۸ ppm) بدست آمد که تقریباً مشابه نتایج تحقیق گذشته می‌باشد. قابل ذکر است که در گزارش Dadáková و همکاران (۲۰۱۰) نتایج ارائه شده از سرشاخه‌های هوایی گیاه بوده‌است، در حالی‌که در تحقیق حاضر نتایج مربوط به سه قسمت از اندام‌های گیاهی است. برخی تفاوتها هم می تواند ناشی از تفاوت در زمان برداشت و شرایط اقلیمی محل جمع‌آوری نمونه باشد.

بنابراین از نکات قابل‌توجه در این تحقیق، می‌توان به میزان بالای ترکیب کوئرستین در ساقه بومادران اشاره کرد که برای اولین بار در این تحقیق استخراج و اندازه‌گیری شد. از موارد دیگر این تحقیق می‌توان به نوع روش مناسب جهت دستیابی به بیشترین مقدار کوئرستین در این گونه‌ها توجه کرد که در گونه *A. millefolium* روش استخراج با حلال متانول، در گونه *A. biebersteinii* به روش استخراج به‌وسیله خیساندن با حلال متانول و در گونه *A. tenuifolia* به روش استخراج با حلال متانول می‌باشد.

بنابراین شرکت‌های دارویی که این نوع مواد را در محصولات خود استفاده می‌نمایند می‌توانند با استفاده از نتایج بدست آمده نسبت به استحصال صنعتی این ترکیب برای محصولات خود اقدام نمایند.

سپاسگزاری

این طرح با حمایت‌های مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور و سازمان استاندارد و تحقیقات صنعتی استان تهران انجام شده‌است. از زحمات کلیه عزیزانی که در این طرح ما را یاری نمودند تشکر و قدردانی می‌نماییم.

منابع مورد استفاده

- مظفریان، و.، ۱۳۷۷. فرهنگ نامهای گیاهان ایران. فرهنگ معاصر، ۶۷۰ صفحه.
- Daigle, D.J. and Conkerton, E.J., 1982. High-performance liquid chromatography of 34 selected flavonoids. Journal of Chromatography, 240: 202-205.
- Dadáková, E., Vrchotová, N. and Tříska, J., 2010. Content of selected biologically active compounds in tea infusions of widely used European medicinal plants. Journal of Agrobiology, 27(1): 27-34.
- Guédo, D., Abbe, P. and Lamaison, J.L., 1993, Leaf and flower head flavonoids of Achillea millefolium L. subspecies, Biochemical Systematics and Ecology, 21(5): 607-611.
- Edwards, R.L., Lyon, T., Litwin, S.E., Rabovsky, A., Symons, J.D. and Jalili, T., 2007. Quercetin reduces blood pressure in hypertensive subjects. The Journal of Nutrition, 137(11): 2405-2411.
- Hertog, M.G.I., Sweetnam, P.M. and Fehily, A.M., 1997. Antioxidant flavonols and ischemic heart disease in a Welsh population of men: the Caerphilly study. American Journal of clinical Nutrition, 65(5): 1489-1494.
- Haraguchi, H., Saito, T., Ishikawa, H., Date, H., Kataoka, S., Tamura, Y. and Mizutani, K., 1996. Antiperoxidative components in Thymus vulgaris. Planta Medica, 62(3): 217-220.
- Ishikawa,T., Suzukawa, M., Ito, T., Yoshida, H., Ayaori, M., Nishiwaki, M., Yonemura, A., Hara, Y. and Nakamura, H., 1997. Effect of tea flavonoid supplementation on the susceptibility of low-density lipoprotein to oxidative modification. American Journal of clinical Nutrition, 66(2): 261-266.
- Ivancheva. S., Tomas-Barberan. F. and Tsvetkova. R., 2002. Comparative analysis of flavonoids in *Achillea* Sp. Sect. Millefolium and Sect. Ptarmica. Comptes Rendus de l'Academie Bulgare des Sciences, 55: 43-46.
- Jaber, R., 2002. Respiratory and allergic diseases: from upper respiratory tract infections to asthma. Primary Care, 29(2): 231-261.
- Katan, M.B. and Hollman, P.C.H., 1998. Dietary flavonoids and cardiovascular disease. Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases, 8: 1-4.
- Lale, A., Herbert, J.M., Augereau, J.M., Billon, M., Leconte, M. and Gleye, J., 1996. Ability of different flavonoids to inhibit the procoagulant activity of adherent human monocytes. Journal Natural Products, 59(3): 273-276.
- Melzig, M.F., 1996. Inhibition of adenosine deaminase activity of aortic endothelial cells by selected flavonoids. Planta Medica, 62(1): 20-21.

- Merck Index, 2001. An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals, Quercetin, page1438-1439, Thirteenth Edition, Published by Merck Research Laboratories Division of Merck and Co., Inc. Whitehouse Station, NJ, USA.
- Middleton, E.Jr. and Kandaswami, C., 1986. The impact of plant flavonoids on mammalian biology implications for immunity, in flammation and cancer: 619-652. In: Harborne, J.B. (Ed.).The flavonoids, Advances in Research Since. Chapman and Hall, London, 676p.
- Rice-Evans, C.A., Miller, N.J. and Pagange, G., 1996. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. Free Radical Biology and Medicine, 20(7): 933-956.
- Sanchez de Rojas, V.R., Somoza, B., Ortega, T. and Villar, A.M., 1996. Isolation of vasodilatory active flavonoids from the traditional remedy *Satureja obovata*. Planta Medica, 62(3): 272-274.
- Shoskes, D.A., Zeitlin, S.I., Shahed, A. and Rajfer, J.,1999. Quercetin in men with category III chronic prostatitis: a preliminary prospective, double-blind, placebo-controlled trial. Urology, 54(6): 960-963.
- Spriggs, D., 1998. Selected flavonoids, Journal of Chromatography, 240: 202 -205.
- Stewart, L.K., Soileau, J.L., Ribnicky, D., Wang, Z.Q., Raskin, I., Poulev, A., Majewski, M., Cefalu, W.T. and Gettys, T.W., 2008. Quercetin transiently increases energy expenditure but persistently decreases circulating markers of inflammation in C57BL/6J mice fed a high-fat diet. Metabolism Clinical and Experimental, 57: S39-S46.

Extraction and Determination of Quercetin in *Achillea millefolium* L., *Achillea bieberstinuii* Afan. and *Achillea tenuifolia* Lam.

K. Jaimand[1], H. Ahrabi Asli[2*] and A. Monfared[3]

1- Department of Medicinal Plants, Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, Iran
2*- Corresponding author, Institute and Reaserch of Tehran Standard, Tehran, Iran, E-mail: helenahrabi@yahoo.com
3- Accademic member of Payam-e-Nor University, Tehran, Iran

Received: November 2010 Revised: January 2011 Accepted: January 2011

Abstract

Flavonoids, are a large class of polyphenols, with more than 4000 combinations. They have a antioxidant role in plant photosynthesis and in human body have such as antioxidant, anti-inflammatory, anticancer and profection of the heart. Quercetin is in flavonol group, is used to fight with viruses and cancer cells. In this study, extraction and measurement of quercetin were carried out in *A. millefolium* L., *A. biebersteinii* Afan. and *A. Tenuifolia* Lam. species. Samples were collected in early June 2010 from experiment farms, in Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, Iran. Various extraction methods were tested using different organs (flowers, leaves and stems) performed. The extraction from stem is reported for the first time. In the first extraction was performed soxhlet apparatus using with chloroform solvent for 72 hours. In the second method the previous sample with chloroform solvent extraction had been performed after separating the solvent, adding methanol extraction surgery was performed again. The third method, depending on the amount of plant matter with solvents methanol and acetic acid (ratio 9:1) by small electric mill and was filtered, in the end a new method with solvents, methanol and acetic acid (ratio 9:1) by electric mill crushed and then soaked for a week and was filtered. Then all samples were concentrated into 30 ml. Totally 36 samples were obtained by the amount quercetin contents in 36 obtained samples were measured combined with High-Performance Liquid Chromatography (HPLC). The highest amount of quercetin (2164 ppm) obtained in flower of *A. millefolium*. In second method with methanol by soxhlet apparatus were 2064 ppm in leaves, and was 2034 ppm in stem, in fourth method Macerated with methanol related to first method in *A. millefolium* was lowest 127 ppm amount, in stem of *A. biebersteinii* was 110 ppm and 23 ppm was btained from *A. tenuifolia* stem.

Key words: Achillea, *A. millefolium* L., *A. biebersteinii* Afan., *A. tenuifolia* Lam., flavonoid, quercetin, High-Performance Liquid Chromatography (HPLC).