DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.4.14.4
مقاله پژوهشی

ارزیابی فعالیت آنتی باکتریال، آنتی قارچی، آنتی اکسیدانی و شناسایی ترکیبات شیمیایی اسانس گیاه داروئی *Narcissus tazetta* L. بومی بهبهان

نظام آرمند[۱] و حسن مروتی[۲*]

[۱] ایران، کرج، دانشگاه علوم پزشکی البرز، مرکز تحقیقات گیاه درمانی و طب مکمل مبتنی بر شواهد

[۲] ایران، تهران، دانشگاه تهران، دانشکده دامپزشکی، گروه علوم پایه

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۶/۲۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۱/۲۵

چکیده

اوایل قرن بیستم، کشف سیستمهای پیچیده سنتز آلی منجر به توسعه صنعت داروسازی و جای گزینی داروهای صناعی به جای داروهای گیاهی شد. اما همزمان با پیشرفت در تولید داروهای شیمیایی جدید و آنتی بیوتیکهای مختلف، به تدریج اثرات مضر این داروها ظاهر شدند. مقاومت باکتریایی و قارچی یکی از دغدغه ها و نگرانی ها در علوم زیستی و پزشکی گردید. و باعث شد در جهت یافتن ترکیبات ضد میکروبی جدید، گیاهان نیز مجددا مورد استفاده قرار گیرند. از طرفی به دلیل عوارض جانبی بالای اسانس مصنوعی، سالانه در دنیا بیش از بیست میلیون کیلوگرم انواع اسانس از گیاهان دارویی مختلف استخراج می گردد. این مقاله فعالیت ضد قارچی، ضد باکتریایی، آنتی‌اکسیدانی و استخراج و شناسایی ترکیبات موثره اسانس گونه نرگس *Narcissus tazetta* L. بومی بهبهان را به روش میکرو استخراج فاز جامد در فضای فوقانی (Head space) بررسی نموده است. پودر گل نرگس با حلال متانول و با روش پرکولاسیون حل و با استفاده از دستگاه تقطیر در خلاء تغلیظ و عصاره بدست آمده است. اندازه‌گیری ظرفیت تام آنتی اکسیدانی، برای سنجش مقدار آسکوربیک‌اسید کل و فعالیت ضدباکتریایی عصاره هیدروالکلی به روش دیسک کاغذی در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد، علیه سویه‌های استاندارد انجام گرفت. اسانس‌گیری به روش Head space و برای آنالیز و شناسایی ترکیب‌های تشکیل دهنده اسانس، از دستگاه GC/MS استفاده شد. نتایج نشان داد عصاره پیاز گل نرگس بترتیب بیشترین اثر را بر باکتری ایکولای و قارچ‌های فوزاریوم سولانی، آسپرژیلوس نایجر و کاندیدا آلبیکانس و باکتری‌های باسیلوس سابتیلیس و استافیلوکوکوس اورئوس دارد. همچنین مقدار آنتی اکسیدان در عصاره کل ۳۱/۶۹۸ میکرومول بر گرم وزن خشک عصاره (µmol/g) بود. ترکیبات غالب اسانس شامل (E)-β-Ocimene (۳۱/۳۶٪)، Linalool (۲۲/۷۷۳٪)، Limonene (۱۴/۱۷۷٪)، 1,8-Cineole (۶/۵۶٪)، Benzyl acetate (۵/۴۷۷٪)، Exo- Arbzol (۳/۶۲۲٪)، γ-Terpinene (۳/۵۳٪)، (3Z)-Hexenyl acetate (۲/۸۱۲٪)، α-Terpineol (۲/۰۸۸) بود. با توجه به کاربردهای روز افزون و فعالیت زیستی مؤثر عصاره گل نرگس، مطالعات وسیع‌تر ویژگی‌های آنتی میکروبی و آنتی اکسیدانتی این گیاه به روش های مختلف پیشنهاد می‌گردد.

واژه های کلیدی: ضد میکروبی، آسکوربیک اسید، متابولیت ثانویه، نرگس بهبهان

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۲۱۶۱۱۱۲۴۱۲ ، پست الکترونیکی: hmorovvati@ut.ac.ir

مقدمه

رادیکالهای آزاد اثرات مضری بر روی سلول‌ها دارند، همچنین خطرات ناشی از وجود رادیکال‌های آزاد در اتیلوژی بیماریهای مختلف گزارش شده است رادیکالهای آزاد اغلب محصولات مراحل مختلف فعالیتهای زیستی درونی هستند که روند ایجاد آنها میتواند توسط عواملی مانند تشعشع، بیوتیکها و دود، تحریک شود آنتی اکسیدانها

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.4.14.4
مقاله پژوهشی

ارگانیسمها را در مقابل خطرات ناشی از وجود رادیکالهای آزاد محافظت میکنند و وجود آنتی اکسیدان‌ها جهت جاروب کردن رادیکال‌های آزاد، دادن هیدروژن و جمع‌آوری اکسیژن یکتایی به جهت جلوگیری از تخریب سلول امری حیاتی است تا از ایجاد اختلال در روند فعالیتی سلول‌ها، جلوگیری کند(۲). تنش اکسیداتیو در اثر عدم توازن میان تولید رادیکال‌های آزاد در داخل بدن و مکانیسم های دفاعی آنتی اکسیدانی حاصل می شود. در موجودات زنده پراکسیداسیون لیپیدهای موجود در دیواره سلول‌های زنده از جمله مهمترین اهداف رادیکال‌های آزاد می باشد. در این شرایط نه تنها ساختمان دیواره و عملکرد آن تحت تاثیر قرار می گیرد بلکه بعضی از محصولات ناشی از اکسیداسیون به عنوان نمونه مالون دی آلدهید می تواند با بیومولکول‌ها واکنش نشان داده و اثرات سیتوتوکسیک و ژنوتوکسیک از خود نشان دهد. بنابراین حضور بالای رادیکال‌ها ی آزاد مخصوصا پراکسیدها نقش کلیدی در بیماری‌زایی تعدادی از بیماری‌ها مانند دیابت، بیماری های قلبی- عروقی، سرطان، پیری و انواع بیماری های دیگر دارد (۱). مصرف داروهای صنعتی و ترکیبات شیمیایی میتواند منجر به ایجاد واکنشهای متابولیسمی نامطلوب گردد و در اغلب اوقات رادیکالهای آزاد و پراکسیدها تولید شوند. تحقیقات نشان داده است که داروهای گیاهی سرشار از ترکیبات مختلف دارای فعالیت زیستی بوده به طوری که از تولید ترکیبات اکسیدان جلوگیری میکنند(۳). گیاهان غنی از چندین متابولیت ثانویه (ترینوئیدها، فلانوئید ها، ترکیبات فنولی، آلکالوئیدها)هستند و منبع اصلی تنوع شیمیایی هستند. ترکیبات فنلی و پلی فنل ها یک گروه بزرگ از ترکیبات معطر هستند. این ترکیبات بدلیل غیرفعال کردن آنزیم های باکتریایی و آنزیم های متصل به غشاء و غیر فعال و از دست دادن عملکرد پروتئین باکتریایی مانند چسبندگی پلی پپتید دیواره سلولی و ... دارای خواص ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی قوی هستند(۱۷).

حدوداً ۸۰۰۰ گونه گیاهی در ایران رویش دارند که ۲۰۰۰ گونه آن انحصاری ایران است بررسی آمارهای جهانی در خصوص مصرف بالای عصاره های طبیعی گیاهی نشان می دهد که با وجود این که منشاء و مبداء اصلی تامین مواد اولیه این عصاره های طبیعی ایران است اما ارز آوری و سود حاصل از فرآوری آنها نصیب کشورهای پیشرفته می گردد. از سوی دیگر جهت مصارف داخل کشور، متاسفانه اسانس های مصنوعی رایج شده است (۱۲). عملکرد، اجزای عملکرد، میزان و کیفیت ترکیب های مواد مؤثره گیاه دارویی تحت تأثیر شرایط اقلیمی و تغذیه می-باشند (۱۵).

گل نرگس از خانواده *Amarylliceae* با نام علمی *Narcissus tazetta* L.، جزو تک لپه ای ها می باشد. دارای حدود ۶۵ گونه و هزاران رقم و دو رگه است در سرتاسر کره زمین به خصوص در نواحی گرم و خشک فراوان است. از زمان گذشته ۲۴ رقم گل نرگس در منطقه بهبهان وجود داشته است اما اکنون فقط ۸ گونه آن یافت می شود. ۷۰ درصد مساحت نرگس زار را نرگس شهلا و۲۰ درصد را نرگس پرپر(شصت پر) و ۱۰ درصد را نرگس مشکین یا مسکین در بر گرفته است (۸). این گیاه به علت دارا بودن خواص داروئی بسیار مورد توجه است، به عنوان مثال گل ها و پیازهای آن در درمان تب دوره ای و اسهال خونی و ریشه های آن در درمان آبسه، جوش ها و بیماری های پوستی استفاده می شود. لکتین های جداشده از این گیاه نیز فعالیت ضد ویروس HIV-1 از خود نشان می دهند (۱۸). همچنین از نرگس به عنوان ضد سم برای پراکنده کردن سم و رفع درد ناشی از مسمومیت گزندگان استفاده می شود (۹). نتایج حاصل از بررسی آلکالوییدهای پیاز گونه نرگس (*Narcissus tazetta* L.) رشد یافته در روستای ضیابر از توابع بندر انزلی وجود سه آلکالوییدهای همولیکورین، تازتین و ایسمین را نشان داد. آلکالوییدهای تازتین و مشتق دمتیله همولیکورین که دارای خواص مهم دارویی هستند ولی آلکالوییدهای ایسمین دارای خواص

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.4.14.4
مقاله پژوهشی

کاهندگی فشار خون، از این گونه استخراج گردید (۱۸). اسانس گونه های نرگس از ارزش بسیار بالایی در صنعت عطر سازی برخوردارند پژوهش های مختلفی در مورد ترکیبات شیمیایی اسانس نرگس انجام شده است. ساکایی در بررسی اسانس واریته های *N.tazetta Papyr* و *Chinensis* ترکیبات زیادی از جمله هپتادکان (Heptadecane)، دودکان (Dodecane)، هپتادکان (Pentadecane)، نونان (Nonane) استخراج نمود. همچنین ترکیبات اسانس دو گونه *N. geranium* و *N. trevithian* توسط هنس و همکاران شناسایی شده است و ترکیبات مانند دودکان (Dodecane) و تترادکان (Tetradecane) گزارش کردند (۱۴). با توجه به خواص مفید و استفاده سنتی از گل نرگس و اینکه تا کنون هیچ کار پژوهشی بر روی خواص آنتی باکتریال، آنتی قارچی، آنتی اکسیدانی گل نرگس بهبهان و همچنین بر روی اسانس گل آن انجام نشده است. در این مطالعه برای اولین بار ویژگی های آنتی اکسیدانی گونه داروئی گل نرگس بومی بهبهان براساس و آنالیز کمی و کیفی اسانس به روش Headspace انجام شد.

مواد و روشها

عصاره گیری به روش پرکولاسیون: پیاز گل نرگس از نرگسزار بهبهان تهیه شد. این شهر با ارتفاع ۳۲۵ متر از سطح دریا ، طول جغرافیایی ۵۰۱۴ و عرض جغرافیایی ۳۰۶۳، دارای اقلیم بیابانی گرم و خشک می باشد. ابتدا ۲۳۱ گرم پودر تهیه شده از پیاز گل نرگس به ظرف پرکولاتور منتقل و به آن متانول افزوده شد. متانول به قدری اضافه شد که حلال در پرکولاتور روی پودر را کاملاً بپوشاند و پس از ۲۴ ساعت عصاره متانولی از پرکولاتور خارج و بوسیله قیف و کاغذ صافی صاف گردید. و این عمل تا ۳ مرتبه انجام شد. و پس از بی رنگ شدن کامل، مجددا عصاره به وسیله قیف و کاغذ صافی، صاف شد و به کمک دستگاه تقطیر در خلاء تغلیظ گردید و ۱۸ درصد وزنی عصاره تام بدست آمد.

اثرات ضدمیکروبی و قارچی: بررسی اثرات ضدمیکروبی عصاره حاصل با روش دیسک کاغذی بر روی میکروارگانیسم های استافیلوکوکوس ارئوس PTCC۱۱۱۲ *(Staphylococcus aureus)*، باسیلوس سوبتیلیس PTCC ۱۰۲۳(*Bacillus subtilis*)، اشریشیاکلی PTCC۱۰۷۴ (*Escherichia coli*) و قارچ‌های فوزاریوم سولانی PTCC 5285 (*Fusarium solani*) و کاندیدا آلبیکانس PTCC 5027 (*Candida albicans*) و آسپرژیلوس نایجر PTCC 5010 (*Aspergillus niger*) و مقایسه با آمیکاسین و تتراسایکلین وتعیین MIC (حداقل غلظت مهاری) انجام گرفت. در روش دیسک کاغذی، میزان هاله عدم رشد از طریق اندازه گیری قطرهاله مطالعه شد و بر این اساس در مقایسه با شاهد منفی (حلال)، MIC تعیین گردید. در این روش از غلظت های ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰، ۴۰۰۰ و ۸۰۰۰ میکروگرم بر دیسک استفاده شد . پس از تهیه محیط های کشت آغشته به میکروارگانیسم مربوطه، دیسک ها در جای مشخص شده قرار گرفت و تاثیر آن بر رشد میکروارگانیسم بررسی و قطر هاله عدم رشد تعیین گردید. از تتراسایکلین و آمیکاسین بترتیب با غلظت های ۵۰ و ۳ میکروگرم در دیسک و غلظت های ۱، ۲، ۴، ۸، ۱۶، ۳۲، ۶۴ و ۱۲۸میکروگرم بر میلی لیتر برای آزمون MIC، به عنوان شاهد مثبت استفاده گردید.

روش اندازه گیری ظرفیت تام آنتی اکسیدانی، به روش آسکوربیک اسید: برای سنجش مقدار آسکوربیک اسید کل از روش De Pinto و همکاران استفاده شد (۶). ۰/۵ گرم بافت فریز شده پیاز گل نرگس در ۱۰ میلی لیتر متافسفریک اسید ۵ درصد ساییده شد و به مدت ۱۵ دقیقه در g ۱۰۰۰۰ سانتریفیوژ گرید. سپس، ۳۰۰ میکرولیتر از عصاره سانتریفیوژ شده در لوله آزمایش ریخته شد و محلول های زیر به ترتیب به آن اضافه گردید: ابتدا ۷۵۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی مولار، سپس ۱۵۰

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.4.14.4
مقاله پژوهشی

میکرولیتر دی تیو ترایتول ۱۰ میلی مولار و مخلوط حاصل ۱۰ دقیقه در درجه حرارت اتاق قرار داده شد. سپس، ۱۵۰ میکرولیتر N– اتیل مال آمید ۰/۵ درصد اضافه و مخلوط حاصل ۱۰ دقیقه دردمای اتاق قرار داده شد.. پس از آن، ۶۰۰ میکرولیتر تری کلرواستیک ۱۰ درصد، ۶۰۰ میکرولیتر اورتوفیفریک اسید ۴۴ درصد، ۶۰۰ میکرولیتر آلفا آلفا دی پیریدیل ۴ درصد و ۱۰ میکرولیتر $FeCl_3$ (۴۷۵ میلی گرم در ۰/۵ میلی لیتر آب) اضافه گردید. مخلوط حاصل با ورتکس به هم زده شده و به مدت ۲۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت سپس مجددا ورتکس شد و برای بار دوم به مدت ۲۰ دقیقه در حمام با دمای ۴۰ درجه سانتیگراد قرار گرفت و شدت جذب در ۶۹۵ نانومتر خوانده شد. برای محاسبه مقدار آنتی اکسیدان کل با استفاده از آسکوربیک اسید منحنی استاندارد $y= 1.2453x – 0.79754$ و $R^2= 0.98706$ رسم گردید و نتایج بر حسب میکرومول بر گرم وزن خشک عصاره (µmol/g)محاسبه شد (۴).

روش استخراج و شناسایی اسانس: جهت استخراج اسانس، نمونه های سرشاخه های هوایی گل نرگس پس از برداشت بلافاصله به آزمایشگاه منتقل گردید. گل ها به صورت اسلایس (sliced) آماده گردید. ۵ گرم از نمونه به سرعت به ویال های Headspace منتقل و در سینی های دستگاه قرار داده شد و دمای آن به ۸۰ درجه سانتی گراد رسید. برای شناسایی ترکیب های تشکیل دهنده اسانس، پس از اسانس گیری با روشHeadspac ، اسانس به دستگاه GC (Agilent model 7890-A series gas chromatography and) تزریق شد. دستگاه مورد استفاده با ستونی به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه ۰/۲۵ میکرومتر از نوع HP-5MS بود. دمای ابتدائی آون ۶۰ درجه سانتی‌گراد و توقف در این دما به مدت ۵ دقیقه، گرادیان حرارتی ۳ درجه سانتی‌گراد در هر دقیقه، افزایش دما تا ۲۱۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۱۵ درجه در هر دقیقه، افزایش دما تا ۲۴۰ درجه سانتی‌گراد و سه دقیقه توقف در این دما بود. دمای اتاقک تزریق ۲۸۰ درجه سانتی گراد و از گاز هلیوم به عنوان حامل با سرعت جریان ۰/۸ میلی‌لیتر در دقیقه استفاده گردید. طیف نگار جرمی مورد استفاده دستگاه GC/MS (Agilent model 5975-C mass spectrometry) با ولتاژ یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت، روش یونیزاسیون E1 و دمای منبع یونیزاسیون ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد بود. شناسایی ترکیب های اسانس به کمک شاخص بازداری و بررسی طیف های جرمی پیشنهادی کتابخانه های کامپیوتری دستگاه کروماتوگراف طیف سنج- جرمی و مقایسه آنها با ترکیب های استاندارد انجام شد.

نتایج

اثرات ضدمیکروبی (باکتری و قارچ) عصاره: نتایج حاصل از اثر مهار رشد عصاره کل پیاز گل نرگس بر باکتری ها و قارچ‌های مورد مطالعه در جدول شماره ۱ ارایه شده است.

اندازه گیری ظرفیت تام آنتی اکسیدانی، به روش آسکوربیک: نتایج حاصل از بررسی ظرفیت تام آنتی اکسیدانی در جدول ۲ آمده است. نمونه های عصاره پیاز گل نرگس در جذب نوری‌ها (OD) و غلظت‌های مختلف بر حسب میکرومول **آسکوربیک** در میلی‌گرم وزن خشک عصاره (µmol/mg) با استفاده از معادله خط فعالیت آنتی اکسیدانی محاسبه شد. و بیشترین خواص آنتی اکسیدان در تکرار ۴ عصاره کل(OD) برابر با ۳۶/۵۹۷ و کمترین آن در در تکرار ۱ عصاره کل(OD) برابر با ۲۳/۷۳۲ می باشد.

آنالیز و شناسایی اسانس: کروماتوگرام اسانس گل نرگس بهبهان به روش میکرو استخراج فاز جامد در فضای فوقانی در شکل ۱ و ترکیبات اسانس گیاه دارویی گل نرگس بهبهان در جدول ۳ آورده شد.

مقاله پژوهشی
DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.4.14.4

جدول ۱- نتایج حاصل از اثر مهار رشد عصاره کلی پیاز گل نرگس بر باکتری ها و قارچهای مورد مطالعه

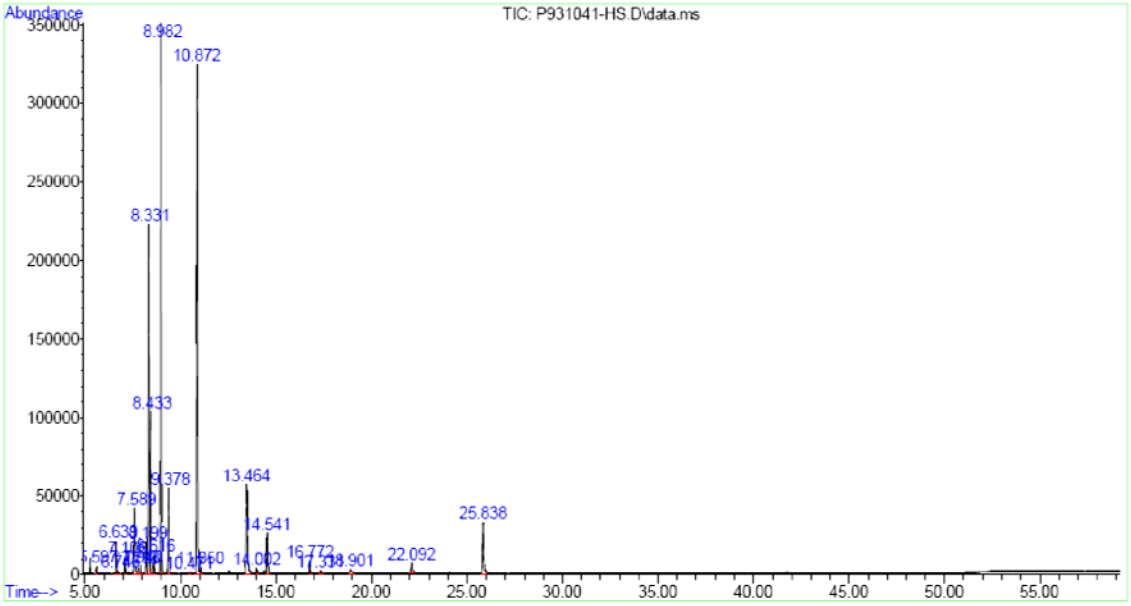
ماده موثر	غلظت ug/Disc	قطر هاله عدم رشد (میلی متر)					
		باکتری			قارچ		
		Staphylococcus aureus	*Bacillus subtilis*	*Escherichia coli*	*Fusarium solani*	*Candida albicans*	*Aspergillus niger*
عصاره کل پیاز گل نرگس	۲۵۰	–	–	۹/۱۸	۷/۱۱	۷/۱۳	۶/۹۳
	۵۰۰	۹/۱۱	۱۱/۱۳	۱۳/۴۴	۱۴/۳۸	۱۵/۷۸	۱۴/۹۰
	۱۰۰۰	۱۰/۹۸	۱۲/۲۸	۱۵/۱۷	۲۰/۲۹	۲۳/۵۵	۲۰/۸۱
	۲۰۰۰	۱۴/۱۳	۱۷/۱۹	۲۱/۵۶	۲۴/۲۰	۲۵/۵۵	۲۳/۸۲
	۴۰۰۰	۱۶/۲۱	۱۸/۳۶	۲۵/۶۸	۲۹/۳۱	۲۸/۱۴	۲۸/۱۲
	۸۰۰۰	۱۹/۴۹	۲۱/۲۲	۲۷/۳۵	۳۱/۹۷	۳۱/۳۳	۳۰/۱۹
تتراسیکلین ۳۰IU	۴۵	۲۷/۲۹	۳۲/۵۶	۴۱/۴۸	---	---	--
آمیکاسین ۵۰ IU	۶	---	---	---	۳۸/۱۱	۳۷/۲۴	۲۹/۳۷

- بیانگر این است که تیمار مورد نظر بر میکروارگانیسم مورد مطالعه بی اثر بوده است

--- نشاندهنده این است که این تیمار روی موارد مورد مطالعه انجام نشده است.

جدول ۲- مقادیر آنتی اکسیدان کل بر اساس روش آسکوربیک اسید در فرکشن عصاره کل پیاز گل نرگس

	تکرار۱	تکرار۲	تکرار۳	تکرار۴	تکرار۵	میانگین	انحراف معیار
عصاره کل (uMol/g)	۲۳/۷۳۲	۳۳/۹۷۱	۳۱/۵۱۶	۳۶/۵۹۷	۳۲/۶۷۵	۳۱/۶۹۸	۴/۸۳۷۶۶



شکل ۱- کروماتوگرام اسانس گل نرگس بهبهان به روش میکرو استخراج فاز جامد در فضای فوقانی

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.4.14.4
مقاله پژوهشی

جدول۳- ترکیبات اسانس گیاه دارویی گل نرگس بهبهان

ترکیبات	درصد ترکیبات	اندیس کواتس (RI)
α-Pinene	0/267	933
Sabinene	1/149	973
β-Pinene	0/084	977
Myrcene	0/572	990
(3Z)-Hexenyl acetate	2/812	1007
Hexyl acetate	0/256	1012
α-Terpinene	0/305	1016
p-Cymene	1/231	1024
Limonene	14/177	1027
1,8-Cineole	6/56	1030
(Z)-β-Ocimene	0/755	1036
(E)-β-Ocimene	31/36	1046
γ-Terpinene	3/53	1057
Terpinolene	0/087	1088
Linalool	22/773	1099
n-Nonanal	0/321	1104
Benzyl acetate	5/477	1163
Terpinene-4-ol	0/317	1176
α-Terpineol	2/088	1190
Carvacrol methyl ether	0/637	1243
2-Phenyl ethyl acetate	0/279	1256
Indole	0/666	1293
Hydrocinnamyl acetate	0/676	1369
exo-Arbozol	3/622	1461

مجموع ۲۴ ترکیب برابر با ۹۹/۹۷۹ درصد اسانس در گل نرگس بومی بهبهان شناسایی شد. مهمترین ترکیبات اسانس شامل (E)-β-Ocimene (۳۱/۳۶٪)، Linalool (۲۲/۷۷۳٪)، Limonene (۱۴/۱۷۷٪)، 1,8-Cineole (۶/۵۶٪)، Benzyl acetate (۵/۴۷۷٪)، Exo- Arbzol (۳/۶۲۲٪)، γ-Terpinene (۳/۵۳٪)، (3Z)-Hexenyl acetate (۲/۸۱۲٪)، α-Terpineol (۲/۰۸۸) و کمترین درصد ترکیبات مربوط به Terpinolene (۰/۰۸۷٪) بود.

بحث

عصاره پیاز گل نرگس در بررسی به روش دیسک کاغذی، به ترتیب بیشترین اثر را روی باکتری ایکولای و قارچها و باکتریهای باسیلوس سابتیلیس و استافیلوکوکوس اورئوس داشته است. هر چند مطالعه ای در مورد خواص آنتی باکتریایی و آنتی قارچی گیاه دارویی گل نرگس انجام نشده است، اما مطالعات زیادی در مورد فعالیت ضدمیکروبی عصاره و ترکیبات فنولیک سایر گیاهان داروئی گزارش شده است. عصاره های گیاهان داروئی به دلیل داشتن ترکیبات فنلی دارای خواص آنتی اکسیدانی و آنتی میکروبی است (۱۶) و اثر ترکیبات فنولیک وابسته به غلظت آنها می‌باشد و در غلظت‌های پایین، ترکیبات فنولیک بر فعالیت آنزیم‌ها به ویژه آنزیم‌هایی که در ارتباط با تولید انرژی هستند اثر می گذارند، در صورتیکه در غلظت-های بالاتر، ترکیبات فنولیک باعث غیرطبیعی شدن پروتئین-ها می‌شوند. همچنین اثر ترکیبات فنولیک بر رشد میکروب-ها و تولید سم می‌تواند در نتیجه قابلیت ترکیبات فنولیک در تغییرپذیری دیواره سلولی و خروج ماکرومولکول‌ها از درون سلول نیز باشد. این ترکیبات نیز می توانند با پروتئین های غشاء واکنش داده و باعث تغییر شکل این پروتئین‌ها و تغییر در عملکرد آنها شوند (۳،۱۷،۲۰).

در این مطالعه خواص آنتی اکسیدان در تکرار ۴ عصاره کل(OD) برابر با ۳۶/۵۹۷ می باشد هر چند مطالعه ای در مورد خواص آنتی اکسیدانی گل نرگس گزارش نشده، اما خواص آنتی اکسیدانی گیاهان مربوط به متابولیت های

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.4.14.4
مقاله پژوهشی

ثانویه از جمله ترکیبات فنلی (۷) و به طور مستقیم به ساختارآن ها که از یک یا تعداد بیشتری حلقه های آروماتیک و گروه های هیدروکسیل تشکیل شده است و با واکنش با رادیکال های آزاد قادر به مهارنمودن رادیکال های آزاد می باشند برمی گردد(۲).

اسانس ها ترکیبات روغنی فراری هستند که در قسمت های مختلف گیاهان معطر مانند برگ، پوست، گل، میوه، دانه و ریشه یافت می‌شوند (۱۰). در واقع مخلوط پیچیده ای از ترکیبات فرار هستند و از دیدگاه شیمیایی مخلوط-های بسیار پیچیده شامل منوترپن‌ها، سزکوئی ترپن ها و مشتقات اکسیژنه آن‌ها می‌باشد. در این مطالعه -(E)β- Ocimene (۳۱/۳۶٪)، Linalool (۲۲/۷۷۳٪)، Limonene (۱۴/۱۷۷٪)، 1,8-Cineole ترکیبات غالب اسانس را تشکیل داد. نتایج بررسی های نخعی و همکاران (۲۰۰۸) با عنوان بررسی ترکیبات شیمیایی موجود در اسانس گل نرگس(*Narcissus tazetta* L.) در شرایط مزرعه ای و رویشگاهی در خراسان جنوبی نشان داد که Dodecane (30/25٪)، Tetradecane(25/80٪) در نمونه مزرعه ای و Dodecane (28/29٪) و Tetradecane(35/05٪) در نمونه رویشگاه طبیعی ترکیبات اصلی اسانس را تشکیل می دهد(۱۳). همچنین النی(Eleni) و همکاران(۲۰۱۳) در مطالعه‌ای با عنوان "ترکیبات اسانس دو گونه *Narcissus tazetta* و*Narcissus serotinus* از یونان " نشان داد که ترکیبات اصلی بالای ۱۰ درصد اسانس در گونه نرگس *serotinus* به ترتیب بیشترین درصد Benzyl acetate (19.36٪)، Undecanal (10.74٪) و Nonanal (10.15٪) و ترکیب اصلی بالای ۱۰ درصد در نرگس گونه *tazetta* ترکیبی به نام trans-Ocimene(61.12٪) می باشد. این در حالیست که این ترکیبات بعنوان ترکیبات غالب اسانس مطالعه ما نمی باشند (۱۱). این اختلافات در اجزای اسانس بین مطالعات مختلف را می‌توان به تفاوت در شرایط اقلیمی و آب و هوایی رویشگاه ها مانند نور، بارندگی، درجه حرارت و باد، ویژگی های خاک (بافت، عناصر غذایی و اسیدیته) و عوامل جغرافیایی مانند ارتفاع از سطح دریا، شیب و جهت آن نسبت داد (۵). به عبارتی عوامل مختلف درونی و بیرونی مانند شرایط اقلیمی بر نوع و مقدار ترکیبات اسانس تاثیر می‌گذارد (۱۹).

نتیجه‌گیری

با توجه به کاربردهای روز افزون و فعالیت زیستی مؤثر عصاره گل نرگس، مطالعات وسیع‌تر ویژگی‌های آنتی اکسیدانتی این گیاه به روش های مختلف پیشنهاد می‌گردد.

سپاس‌گزاری: از همراهی و همکاری صمیمانه جناب آقایان محمدعلی افشاری و حسن تجلی که در تهیه گل نرگس بهبهان همکاری لازم را مبذول داشته اند صمیمانه سپاسگزاری می نمایم.

منابع

1- Ahmadvand, H., amiri, H., Ekbatan Hamadani, S. and Bagheri, S. 2012. Antioxidant properties of leaves Essential Oil And Hydroalcoholic Extract Vitex pseudo-negundo. *Yafte*, 14 (2): 5-13.
2- Amoozadeh, A., Mohammadzadeh Milani, J. and Motamedzadegan, A. 2017. Investigating The Effect Of Brewing Additives On The Antioxidant Activity Of Black *Tea*. *Food Research*, 26(3): 481-490.
3- Abdel-Hady, A.A., El-Nahas, H.A., Nabarawy, S.K. and Abdel Raouf, H.A. 2014. Evaluation of the Antioxidant Activity and the Acute Oral Toxicity of Three Plant Extracts on Albino Mice. *Middle East J Appl Sci*, 4(2):207-216.
4- Banon, S., Díaz, P., Rodríguez, M., Garrido, MD. and Price, A. 2007. Ascorbate, green tea and grape seed extracts increase the shelf life of low sulphite beef patties. *Meat science*, 77(4):626-33.
5- Biondi, E., Valentini, G., Bellomaria, B. and Zuccarello, V. 1993. Composition of Essential Oil in Artemisia Arborescens L. from Italy. InInternational Symposium on Medicinal and Aromatic Plants, 290-304.

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.4.14.4
مقاله پژوهشی

6- De Pinto, M.C., Francis, D., Gara, L. 1999. The Redox State Of The Ascorbate-Dehydroascorbate Pair As A Specific Sensor Of Cell Division In Tobacco BY-2 cells. *Protoplasma*, 209(12):90-7.
7- Dousti, B., samiei, K., zarinzadeh, S. (2021). 'The study of antibacterial and antioxidant effects and determination of phenolic and flavonoid contents of Physalis peruviana L.', Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology), 34(1), pp. 249-262.
8- Emad, M., Gheibi, F., Rasouli, S. M., Khanjanzadeh, R. and Jouzani, S.M. 2012. Narcissus Industrial-Medicinal Plant, Pooneh Publication.
9- Emad, Mehdi., Gheibi, Fariborz., Rasouli, Mohsen., Khanjanzadeh, Rasoul and Mohammadi Jozani, Saeed., 2013. Narges Medicinal-Industrial Plant: Pooneh, Tehran.
10- Gonzalez-Molina, E., Dominguez-Perles, R., Moreno, D.A. and Garcia-Viguera, C. 2010. Natural bioactive compounds of Citrus limon for food and health. *J Pharm Biomed Anal*, 51: 327-345.
11- Melliou, E., Kalpoutzakis, E., Tsitsa, E. and Magiatis, P. 2007. Composition of the Essential Oils of Narcissus tazetta and Narcissus serotinus from Greece. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 10(2): 101-103.
12- Mohammadian, A., Karamain, R. and Hashemi, S. P. 2012. Qualitative and quantitative comparison of essential oil of different ecotypes of Teucrium polium grown in Lorestan Province. *Yafte*, 14 (2):59-69.
13- Nakhaei, F., Khaligi, A., Naseri, M.A. and Abromand, P. 2008. The investigation of chemical components in essential oil of Narcissus tazetta L. flowers under farm and natural conditions in South Khorasan. *Journal of horticulture science*,22(2): 123-31.
14- Nakhlay, A., KHalighi, A., Naseri, M.H. and Aberoumand, P. 2008. The Investigation Of Chemical Components in Essential Oil of Narcissus tazetta L. Flowers Under Farm And Natural Conditions in South Khorasan. *J. Hortic. Sci*, 22(2):123-131.
15- Omidbaigi, R. Production and Processing of Medicinal Plants. 2000. Astan Quds Publication, Tehran, 3.
16- Sadeghi, M., Zarei, M. (2020). 'Evaluation of Antioxidant Activity and Determination of Phenol and Flavonoids in Hexane Extract of Aerial Plants Descurainia Sophia and Fumaria vaillantii', Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology), 33(2), pp: 365-373.
17- Savoia, D. 2012. Plant-Derived Antimicrobial Compounds: Alternatives To Antibiotics. *Future Microbiol*, 7(8):979-90.
18- Soleimani, S., Bernard, F., Amini, M. and Khavari- nezhad, R. 2007. Alkaloids from Narcissus tazetta L. *JMP*, 4 (24):58-63.
19- Surburg, H., Guentert, M. and Harder, H. 1993. Volatil Compound From Flowers. Analytical and Olfactory Aspect. In Bioactive Volatile Coumpound from plants. ACS Symposion Series 525; American Chemical Society: Washington, 168-186.
20- VEbrahimi, F., Rohanaii, K. and Jamalu, F. 2018. The Comparison of Cichorium IntybusL and Matricaria chamomilla L. Hydroalcoholic Extract Effect Composition with one of them Nystatin on the Isolated Candida albicans from Vaginal Infection under Invitro Conditions . *sjimu*, 25 (6) :63-72.

مقاله پژوهشی
DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.4.14.4

Evaluation of Antibacterial, Antifungal, Antioxidant Activity and Identification of Chemical Compounds of *Narcissus tazetta* L. Behbahan area

Armand N.[1] and Morovvati H.[2*]

[1] Research Center for Herbal Medicine and Complementary Medicine, Alborz University of Medical Sciences, Karaj. I.R. of Iran.

[2] Dept. of Basic Science, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, I.R. of Iran.

Abstract

Early in the century, the discovery of complex organic synthesis systems led to the development of the pharmaceutical industry and the substitution of synthetic drugs for herbal remedies. But as advances in the production of new chemical drugs and various antibiotics, the harmful effects of these drugs gradually began to appear. Bacterial and fungal resistance became a concern in the biomedical and medical sciences. This led to the need to re-use plants in order to find new antimicrobial compounds. On the other hand, due to the high side effects of synthetic essential oils, more than 20 million kg of essential oils are extracted from various medicinal plants annually. This article investigates the antifungal, antibacterial, antioxidant and extractive activity of essential oils of Narcissus tazetta L. native to Behbahan using head space method. Narges flower powder was solved by methanol solvent by percolation and obtained by distillation in concentrated vacuum and extract. Total antioxidant capacity was measured to measure total ascorbic acid and antibacterial activity of hydroalcoholic extract by paper disk method against standard antibiotics against standard strains. Essential oil extraction was performed by GC / MS using Head space method and for analyzing and identifying the essential oils. The results showed that the extract of Narcissus bulb had the highest effect on E.coli and Fusarium solani, Aspergillus niger and Candida albicans and Bacillus subtilis and Staphylococcus aureus, respectively. Also, the antioxidant content in the total extract was 31.698 Mmol / kg body weight (µmol / g). The main constituents of the essential oil include (E) -β-Ocimene (31.36%), Linalool (22.73%), Limonene (14.17%), 1,8-Cineole (6.56%), Benzyl acetate (%). 477/5), Exo-Arbzol (622.3%), Terpinene (53.3%), (3Z) -Hexenyl acetate (2.8%), and -Terpineol (088/2). Due to the increasing applications and effective biological activity of the extract of Narcissus flower, more extensive studies on antimicrobial and antioxidant properties of this plant are suggested in different ways.

Key words: Antimicrobial, Ascorbic acid, Secondary metabolite, Narcissus Behbahan