مقاله پژوهشی

نشریه علمی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران
جلد ۳۸، شماره ۳، صفحه ۴۰۸-۳۹۰ (۱۴۰۱)

شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/IJMAPR.2022.358105.3148
شناسه دیجیتال (DOR): 20.1001.1.17350905.1401.38.3.2.4

اثر مراحل مختلف فنولوژی بر پروفایل شیمیایی و خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد باکتریایی و ضد التهابی عصاره‌های ریشه و اندام‌های هوایی *Artemisia absinthium* L.

محمود براتی[۱]، مجید شریفی‌راد[۲*] و سعیده سعیدی[۳]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد مدیریت مرتع، دانشگاه زابل، زابل، ایران

۲*- نویسنده مسئول، استادیار، گروه مرتع و آبخیزداری، دانشگاه زابل، زابل، ایران، پست الکترونیک: Majidsharifirad@uoz.ac.ir

۳- کارشناس، پژوهشکده زیست فناوری، دانشگاه زابل، زابل، ایران

تاریخ دریافت: اسفند ۱۴۰۰ تاریخ اصلاح نهایی: اردیبهشت ۱۴۰۱ تاریخ پذیرش: خرداد ۱۴۰۱

چکیده

برای بررسی پروفایل شیمیایی و خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد باکتریایی و ضد التهابی ریشه و اندام‌های هوایی گونه مرتعی- دارویی افسنطین (*Artemisia absinthium* L.)، نمونه‌برداری از ریشه و اندام‌های هوایی گیاه در سه مرحله فنولوژیک (رشد رویشی، گلدهی و بذردهی) انجام شد. میزان فنل و فلاونوئید، فعالیت زیستی عصاره اتانولی در مراحل مختلف فنولوژی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، قدرت احیاءکنندگی آهن (FRAP)، فعالیت ضد باکتریایی، حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) و فعالیت ضد التهابی بررسی شدند. بیشترین میزان فنل کل (۲ ± ۸۶/۴ میلی‌گرم برابر اسید گالیک بر گرم وزن خشک گیاه) و فلاونوئید کل (۱/۳ ± ۳۶/۲ میلی‌گرم برابر کوئرستین بر گرم وزن خشک گیاه) در ریشه و در مرحله گلدهی گیاه وجود داشت. بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها نشان داد که مرحله گلدهی گیاه از فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری برخوردار بود. حداقل مقدار IC_{50} (۱۵/۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر) مربوط به عصاره ریشه در مرحله گلدهی گیاه بود و بالاترین میزان IC_{50} (۲۷۱/۶۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر) برای عصاره اندام‌های هوایی در مرحله رویشی بود. در بررسی فعالیت آنتی‌باکتریایی عصاره‌ها، عصاره ریشه مربوط به مرحله گلدهی گیاه از بالاترین فعالیت ضد باکتریایی برخوردار بود و بیشترین قطر هاله عدم رشد (۲۲ میلی‌متر) برای این عصاره در برابر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس مشاهده گردید. حداقل غلظت مهار (۱۸/۷ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) و حداقل غلظت کشندگی (۳۷/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) این عصاره در برابر باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سرئوس ثبت شد. باکتری‌های ویبریوکلرا (حداقل غلظت مهار ۳۷/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و حداقل غلظت کشندگی ۷۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) و اشریشیاکلی (حداقل غلظت کشندگی ۷۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و حداقل غلظت کشندگی ۱۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) در برابر عصاره مذکور حساسیت کمتری نشان دادند. همچنین نتایج نشان داد که گونه مورد مطالعه در مرحله گلدهی دارای بیشترین فعالیت ضد التهابی است و عصاره بدست آمده از ریشه گیاه در تمام مراحل فنولوژی از فعالیت ضد التهابی بالاتری نسبت به اندام‌های هوایی گیاه برخوردار است. براساس این نتایج، گیاه افسنطین و به‌طور خاص مرحله گلدهی آن دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ضد باکتریایی و ضد التهابی مناسبی است و می‌توان آن را به‌عنوان جایگزینی مناسب برای آنتی‌اکسیدان‌ها و آنتی‌بیوتیک‌ها و ضد التهاب‌های مصنوعی مد نظر قرار داد.

واژه‌های کلیدی: ترکیب‌های شیمیایی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فعالیت ضد باکتریایی، فعالیت ضد التهابی، مرحله فنولوژی، *Artemisia absinthium* L.

مقدمه

ایران با توجه به وسعت زیاد و شرایط خاص جغرافیایی دارای شرایط اقلیمی متنوعی است، این موضوع سبب انتشار گونه‌های گیاهی زیادی در آن شده است که تعداد قابل توجهی از این گیاهان را گیاهان دارویی تشکیل می‌دهند. با بررسی سیر تحولات علمی می‌توان مشاهده کرد که پژوهش‌های متعددی برای جایگزین کردن مواد دارویی شیمیایی با مواد طبیعی انجام شده است، به‌طوری که در بسیاری از کشورها این ترکیب‌های طبیعی از اجزای جدایی‌ناپذیر سیستم دارویی و درمانی به حساب می‌آیند (Ji *et al*., 2009). با توجه به سهم گیاهان دارویی در تولید داروهای مصرفی، غیرممکن است بتوان روزی همه مواد دارویی را از صنعت بدست آورد و از اهمیت و نقش مواد طبیعی در تهیه این داروها چشم‌پوشی کرد (Sofowora *et al*., 2013). گیاهان دارویی موجود در مراتع، ذخیره‌گاه غنی از متابولیت‌های ثانویه هستند که مواد مؤثره (Active substance) تعداد زیادی از داروها می‌باشند. مواد مؤثره گیاهان دارویی در اثر هدایت فرایندهای ژنتیکی ایجاد می‌شوند و عوامل محیطی به‌طور آشکاری در ساخت آنها تأثیرگذار هستند. عوامل محیطی علاوه‌بر اینکه سبب تغییرات در رشد و نمو گیاهان می‌شوند می‌توانند بر کمّیت و کیفیت مواد مؤثره و توزیع آنها در بین اندام‌های مختلف گیاه نیز اثرگذار باشند (Maina *et al*., 2021). عوامل تأثیرگذار دیگر که می‌تواند کمّیت و کیفیت متابولیت‌های ثانویه گیاهان دارویی را تحت تأثیر قرار دهد شامل اندام مورد استفاده گیاه، نوع گونه گیاهی، مراحل فنولوژیکی، تنش‌های زیستی در اثر چرای دام، زمان برداشت گونه گیاهی، عملیات پس از برداشت و روش استخراج ماده مؤثره است (Feduraev *et al*., 2019). تعیین کردن اثر مراحل مختلف فنولوژی و تنش‌های محیطی و زیستی بر ترکیب‌های شیمیایی گیاهان برای تنظیم برنامه‌های بهره‌برداری (زمان مناسب برداشت) بسیار حائز اهمیت است، زیرا علاوه‌بر شناسایی ترکیب‌های شیمیایی موجود در مراحل مختلف رویش گیاهان، در استفاده درست از گیاهان و رسیدن به حداکثر فعالیت زیستی نیز می‌تواند مؤثر باشد (Jimoh *et al*., 2019). میزان مواد مؤثره در گیاهان ثابت نبوده و متناسب با میزان رشد گیاه متغیر است. تغییراتی که در میزان مواد مؤثره گیاه در طول سال و حتی ساعات یک روز به وجود می‌آید اهمیت جمع‌آوری گیاهان دارویی را در زمانی که گیاه دارای حداکثر میزان مواد مؤثره است نمایان می‌کند (Routray & Orsat, 2014).

ترکیب‌های دارویی گیاهی به‌دلیل ساختار پیچیده‌ای که دارند مقاومت میکروبی در برابر آنها کمتر اتفاق می‌افتد، به همین دلیل گیاهان دارویی برای درمان بیماری‌های عفونی بسیار مورد توجه هستند (Mazutti *et al*., 2008). با توجه به سازگاری بیشتر ترکیب‌های گیاهی با طبیعت بدن انسان و عوارض جانبی کمتر آنها، انجام تحقیقات برای تولید مواد ضد باکتریایی جدید از این منبع طبیعی ضرورت دارد. ترکیب‌های شیمیایی گیاهان از قبیل فنل‌ها و فلاونوئیدها در گیاهان دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی هستند. تولید رادیکال‌های آزاد به‌طور طبیعی در بدن موجودات زنده انجام می‌شود اما هنگامی که این رادیکال‌های آزاد بیش از حد تولید شوند اکسیداسیون پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و غشاهای سلولی را موجب می‌شوند، در نتیجه آن تخریب DNA و پروتئین‌ها اتفاق می‌افتد. به‌طوری که ترکیب‌های آنتی‌اکسیدانی با مهار رادیکال‌های آزاد سلول‌ها را در برابر اثرهای زیان‌بار آنها محافظت می‌کنند (Oke *et al*., 2009).

ورود باکتری‌ها، ضربه، مواد شیمیایی، گرما و یا هر پدیده دیگری که باعث آسیب دیدن بافت شود منجر به بوجود آمدن تغییرات ثانویه شدید در بافت می‌شود که این تغییرات بافتی تحت عنوان التهاب بیان می‌شود (Rock & Kono, 2008). تغییرات ایجاد شده با هدف حذف کردن عوامل التهاب‌زا و تسریع روند تکثیر بافت در محل آسیب دیده بافت انجام می‌شود. هدف از پاسخ التهابی بعد از هر آسیب بافتی بازگرداندن ساختار و عملکرد بافت است (Wang, 2018). پاسخ التهابی نامناسب می‌تواند باعث نقص سیستم ایمنی شده و زمینه‌ساز آلودگی بیشتر شود. از سوی دیگر، آلودگی طولانی مدت ممکن است منجر به بسیاری

بیماری‌های دیگر مانند سرطان گردد (Greten & Grivennikov, 2019). بنابراین آنچه در این میان حائز اهمیت فراوان است کاستن از طول مدت دوره التهاب است. در حال حاضر داروهای حاصل از مواد مخدر و یا سالیسیلات و کورتیکوستروئیدها برای درمان یا کاهش التهاب استفاده می‌شوند که دارای خاصیت سمّی هستند و همچنین عوارض جانبی زیادی دارند. بنابراین، امروزه فرآورده‌های طبیعی ازجمله فرآورده‌های گیاهی به دلیل عوارض جانبی کمتری که دارند برای درمان التهاب مورد توجه ویژه هستند (Nunes *et al*., 2020).

جنس *Artemisia* یکی از گسترده‌ترین جنس‌های مربوط به خانواده Asteraceae است. بیش از ۳۴ گونه از این جنس در ایران گزارش شده است (Farghadan *et al*., 2016). تعداد گونه‌های این جنس در دنیا با توجه به منابع مختلف حدوداً بین ۴۰۰ گونه برآورد شده که بیشتر در آسیا، شمال آمریکا و اروپا پراکنده است. گونه‌های متنوع آن از پست‌ترین نقاط ایران از حاشیه دریای خزر تا ارتفاعات ۴۰۰۰ متری رویش دارند (Emami *et al*., 2012). یکی از گونه‌های مهم این جنس گونه افسنطین (*A. absinthium*) است که در طب سنتی برای تسکین دردهای مزمن، نقرس، مالاریا، یرقان، سیاه سرفه، برونشیت، سوزش معده و قلب، زخم‌های لثه و دهان، دردهای عصبی، سرخک، التهاب، راش و تب مورد استفاده قرار می‌گرفته است. هر چند امروزه نیز از آن برای درمان رفلکس مری، دیابت، هپاتیت، رماتیسم، دردهای قلبی، مالاریا، عفونت‌های باکتریایی، قارچی و ویروسی، تنگی نفس و لیشمانیوز استفاده می‌شود (Rustaiyan & Masoudi, 2011). مطالعات متعددی که بر روی گونه‌های مختلف درمنه ازجمله افسنطین انجام شده است وجود فنل‌ها (Mohammadi *et al*., 2015)، فلاونوئیدها (Hbika *et al*., 2022)، ترپنوئیدها (Batiha *et al*., 2020)، تانن‌ها (Szopa *et al*., 2020)، استروئیدها (Sultan *et al*., 2020)، ساپونین‌ها (Mravčáková *et al*., 2021) و روغن‌های فرّار (Jiang *et al*., 2021) را در آنها تأیید می‌کنند. با توجه به وجود ترکیب‌های زیست فعال ذکرشده در این گونه، مطالعات متعددی گزارش کرده‌اند که این گیاه دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی، ضد باکتریایی و ضد قارچی مناسبی است که می‌تواند به‌عنوان جایگزین مناسبی برای آنتی‌اکسیدان‌ها و آنتی‌بیوتیک‌های مصنوعی مورد توجه قرار گیرد. Mohammed و همکاران (۲۰۲۲) با بررسی ترکیب‌های شیمیایی گونه افسنطین بیان کردند که سیس داوانون (۵۲/۵۱٪)، آلفا-گورجونن (۷/۱۵٪)، کامازولن (۳/۳۸٪) و کامفن (۳/۲۷٪) ترکیب‌های اصلی موجود در این گیاه هستند. همچنین نتایج حاصل از بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش‌های مهار رادیکال آزاد DPPH و بررسی قدرت احیاءکنندگی آهن (FRAP) نشان داد که گونه افسنطین از فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی برخوردار است. Ahamad (۲۰۱۹) در مطالعه‌ای کاربردهای دارویی گونه افسنطین را بررسی و بیان کرد که این گونه از مهمترین گیاهانی است که دارای خاصیت‌های دارویی متعددی ازجمله خواص ضد میکروبی، ضد ویروسی، ضد التهابی، ضد قارچی، ضد سرطانی، حشره‌کشی، کاهش‌دهنده قند خون، محافظت از کبد، التیام زخم و درمان بیماری‌های قلبی و عروقی است. Omer و همکاران (۲۰۰۷) بیان کردند که گونه افسنطین دارای ترکیب‌های شیمیایی از قبیل لاکتون‌ها، ترپنوئیدها (ترانس-توجون، گاما-ترپینن، میرسن، بورنیل استات، کامفن، ترانس سابینیل استات، گوایازولن، کامازولن، کافور و لینالول)، مواد فرّار، اسیدهای آلی، رزین‌ها، تانن‌ها و فنل‌هاست. همچنین حاوی فلاونوئیدها (برای نمونه، کوئرستین) و گلیکوزیدهای فلاونوئیدی، اسیدهای فنولیک (کوماریک، کلروژنیک، وانیلیک و سیرینجیک) است که در فرایند حذف رادیکال‌های آزاد و فعالیت‌های زیستی این گیاه بسیار مؤثر هستند (Kordali *et al*., 2005). گونه افسنطین در صنایع آرایشی و بهداشتی برای تهیه ماسک‌ها، شامپو و سرم‌های شستشوی صورت مورد استفاده قرار می‌گیرد (Ivanov *et al*., 2021). در صنایع غذایی از این گونه به‌عنوان ماده معطر و طعم‌دهنده استفاده می‌شود (Szopa *et al*., 2020). همچنین از آن برخی نوشیدنی‌های الکلی از قبیل آبسنت (نوعی نوشیدنی

تقطیری با درصد بالای الکل) تهیه می‌شود (Bhat *et al*., 2019). در طب یونانی استفاده از آبسنت به‌عنوان درمانی برای دردهای زایمان، دردهای قاعدگی، رماتیسم و یرقان توصیه شده است (Padosch *et al*., 2006). در کشورهای آفریقایی از گیاه افسنطین برای درمان بیماری‌های عفونی، مالاریا و جراحات حیوانات استفاده می‌شود (Yineger *et al*., 2007). این گونه از قرون وسطی به‌عنوان یک درمان در ناراحتی‌های معده استفاده می‌شده است و اعتقاد بر این بوده است که به‌عنوان یک ماده تلخ معطر دارای اثرهای ضد نفخی است و همچنین باعث تحریک ترشح اسید معده و تولید صفرا می‌شود، در نتیجه هضم و جذب مواد غذایی را بهبود می‌بخشد. همچنین این گونه در طول قرن‌های گذشته برای درمان تب مزمن، التهاب کبد و همچنین به‌عنوان یک ماده مقوی استفاده می‌شده است (Ahamad, 2019).

این تحقیق برای نخستین بار به بررسی اثر مراحل مختلف فنولوژی بر میزان ترکیب‌های شیمیایی و فعالیت زیستی (آنتی‌اکسیدانی، ضد باکتریایی و ضد التهابی) ریشه و اندام‌های هوایی گونه افسنطین (*A. absinthium*) می‌پردازد و بهترین زمان برداشت این گونه را با توجه به میزان ترکیب‌های شیمیایی و فعالیت زیستی گونه در مراحل مختلف فنولوژی مشخص می‌کند.

مواد و روش‌ها

تهیه نمونه گیاهی

نمونه‌گیری از ریشه و اندام‌های هوایی گونه مورد مطالعه در سه مرحله فنولوژیک (رشد رویشی، گلدهی و بذردهی) در مراتع شهرستان سربیشه، استان خراسان جنوبی انجام شد. بدین ترتیب که در هر مرحله فنولوژیک تعداد ۳۰ پایه از گونه مورد مطالعه به‌صورت تصادفی برای برداشت نمونه انتخاب شد. نمونه‌های برداشت شده به آزمایشگاه گیاهان کشت و تکثیر مرتعی دانشگاه زابل منتقل شد و پس از شناسایی کد هرباریومی ۱۰۶۲ به آن اختصاص یافت. نمونه‌های برداشت شده از هر ۱۰ پایه گیاه با هم ترکیب و به‌عنوان یک تکرار در نظر گرفته شد. پس از برداشت، نمونه‌ها به‌طور جداگانه در سایه به دور از نور خورشید خشک شدند. سپس نمونه‌های خشک شده به‌طور جداگانه توسط دستگاه آسیاب پودر شدند و در نهایت میزان ۳۰۰ گرم از هر نمونه آسیاب شده برای آزمایش‌های لازم بر روی آنها به آزمایشگاه انتقال داده شد.

تهیه عصاره

بدین منظور ۱۰ گرم از نمونه‌های گیاهی پودر شده در یک ارلن ریخته شد. میزان ۱۰۰ میلی‌لیتر از اتانول ۹۶٪ به آن اضافه شد. مخلوط حاصل به مدت ۲۴ ساعت بر روی همزن قرار گرفت. سپس عصاره بدست آمده توسط کاغذ واتمن شماره ۱ صاف شد. در مرحله بعد جداسازی عصاره از حلال توسط دستگاه روتاری و در دمای کمتر از ۴۰ درجه سانتی‌گراد انجام شد (Weli *et al*., 2018). برای تبخیر کامل حلال، عصاره‌های حاصل در زیر جریان ازت قرار داده شدند. عصاره قیری شکل حاصل تا زمان انجام آزمایش در یخچال (دمای ۴ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شد.

تعیین فنل کل

میزان ترکیب‌های فنلی عصاره‌ها براساس روش رنگ‌سنجی فولین- سیوکالتیو (Folin-Ciocalteu) تعیین شد. بدین منظور ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره‌های گونه مورد مطالعه با غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، ۲ میلی‌لیتر کربنات سدیم (۲٪)، ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر و ۱۰۰ میکرولیتر معرف فولین- سیوکالتیو (۵۰٪) با هم ترکیب شدند و به‌مدت ۳۰ دقیقه در شرایط تاریکی قرار گرفتند. پس از این مدت، جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۲۰ نانومتر به‌وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر تعیین شد. غلظت‌های مختلف اسید گالیک برای رسم منحنی استاندارد استفاده شد ($y= 0.0095x + 0.0012$, $R^2= 0.9961$). مقدار فنل کل عصاره‌ها براساس میلی‌گرم برابر اسید گالیک بر گرم وزن خشک گیاه بیان گردید (Meda *et al*., 2005).

تعیین فلاونوئید کل

میزان فلاونوئید کل براساس روش رنگ‌سنجی آلومینیوم کلرید تعیین شد. بدین‌منظور ۵۰۰ میکرولیتر از عصاره‌های گونه مورد مطالعه (غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) با میزان ۱/۵ میلی‌لیتر اتانول، ۱۰۰ میکرولیتر از محلول استات پتاسیم ۱ مولار، ۱۰۰ میکرولیتر از محلول آلومینیوم کلراید ۱۰٪ و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شدند. مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری گردید. پس از گذشت این مدت، جذب نمونه‌ها در طول موج ۴۱۵ نانومتر به‌وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر تعیین شد. غلظت‌های مختلف کوئرستین برای رسم منحنی استاندارد مورد استفاده قرار گرفت ($y= 0.0096x - 0.0384, R^2= 0.9931$). میزان فلاونوئید کل براساس میلی‌گرم برابر کوئرستین بر گرم وزن خشک گیاه بیان شد (Chang *et al*., 2002).

تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی

مهار رادیکال آزاد DPPH

برای اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش میزان مهار رادیکال آزاد DPPH، ۲ میلی‌لیتر از عصاره‌های گونه مورد مطالعه (غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) با ۲ میلی‌لیتر محلول اتانولی DPPH (۳۰۰ میکرومولار) مخلوط شد. مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی و دمای اتاق قرار گرفت. پس از گذشت این مدت، جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر اندازه‌گیری شد. بوتیل هیدروکسی تولوئن (BHT) به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان استاندارد در غلظت مشابه با عصاره‌ها برای مقایسه فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنها استفاده شد. در نهایت، درصد مهار رادیکال آزاد توسط عصاره‌ها با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد.

= درصد مهار رادیکال آزاد

۱۰۰ × جذب کنترل / (جذب نمونه - جذب کنترل)

همچنین برای بررسی بهتر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها از شاخص IC_{50} استفاده گردید که نشان‌دهنده غلظتی از عصاره‌ها است که توانایی کاهش غلظت رادیکال آزاد DPPH اولیه را به میزان ۵۰٪ دارد و مقادیر کمتر آن نشان‌دهنده فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتر است.

بررسی قدرت احیاءکنندگی آهن (FRAP)

قدرت احیاءکنندگی آهن (FRAP) توسط عصاره گونه مورد مطالعه در مراحل مختلف فنولوژی به روش Benzie و Strain (۱۹۹۶) انجام شد. معرف FRAP (بافر استات سدیم ۳۰۰ میلی‌مولار با pH= ۳/۶، فریک- تری‌پرییدیل- اس- تریازین و فریک کلرید) به‌صورت تازه تهیه و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرم شد. سپس به ۲ میلی‌لیتر از معرف FRAP، ۷۵ میکرولیتر از عصاره گیاه با غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اضافه شد. مخلوط حاصل در دمای اتاق به مدت ۳۰ دقیقه نگهداری و جذب آن در طول موج ۵۹۳ نانومتر اندازه‌گیری شد. از اسید اسکوربیک برای رسم منحنی استاندارد استفاده شد ($y= 0.0096x + 0.0038, R^2= 0.9799$). بوتیل هیدروکسی تولوئن (BHT) به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان استاندارد در غلظت مشابه با عصاره‌ها برای مقایسه فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنها استفاده گردید. نتایج قدرت احیاءکنندگی آهن (FRAP) به‌صورت میلی‌گرم برابر اسید اسکوربیک (AAE) در هر گرم وزن خشک گیاه بیان شد.

ارزیابی فعالیت ضد باکتریایی

روش انتشار دیسک

فعالیت ضد باکتریایی عصاره‌های گونه مورد مطالعه در مقابل باکتری‌های گرم مثبت (استافیلوکوکوس اورئوس (ATCC1189) و باسیلوس سرئوس (ATCC1015)) و گرم منفی (اشریشیاکلی (ATCC2359) و ویبریوکلرا (ATCC1611)) بررسی گردید. بدین‌منظور، ابتدا غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از عصاره‌های گونه مورد مطالعه

توسط محلول دی‌متیل سولفوکساید (DMSO) تهیه شد. آنگاه محلول حاصل به‌وسیله عبور از فیلترهای ۰/۴۵ میکرومتر استریل گردید و تا هنگام انجام آزمایش در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (Das *et al*., 2010). دیسک‌های کاغذی دارای ۶ میلی‌متر قطر (محصول شرکت پادتن طب ایران) به تعداد مورد نیاز و به‌مدت ۱۰ ساعت در عصاره‌های گونه قرار داده شدند تا عصاره‌ها به‌طور کامل جذب دیسک‌ها شود. سپس دیسک‌ها در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد توسط آون خشک شدند. در مرحله بعد، مقداری از سوسپانسیون نیم مک‌فارلندی ($1/5 \times 10^8$ CFU/ml) هر یک از باکتری‌های مورد مطالعه به‌وسیله سواپ استریل روی محیط کشت مولر هینتون آگار کشت شد. دیسک‌های حاوی عصاره گیاه با فاصله مناسب از یکدیگر (۱/۵ سانتی‌متر) بر روی محیط کشت قرار داده شدند. دیسک حاوی آنتی‌بیوتیک جنتامایسین (۱۰ میکروگرم) به‌عنوان کنترل مثبت و دیسک آغشته شده به حلال خنثی DMSO به‌عنوان کنترل منفی لحاظ گردید. دیسک‌ها در سه تکرار بر روی محیط کشت قرار داده شدند. در گام بعدی، پتری‌دیش‌ها به انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. پس از گذشت ۲۴ ساعت قطر هاله عدم رشد بر حسب میلی‌متر توسط کولیس اندازه‌گیری شد و در نهایت میانگین قطر هاله عدم رشد گزارش گردید (Ranković *et al*., 2011).

تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC)

برای تعیین حداقل غلظت مهارکننده (MIC) از روش براث میکرودایلوشن (Broth Microdilution) با استفاده از میکروپلیت ۹۶ خانه‌ای ته‌گرد استفاده شد (Sen & Batra, 2012). در این روش از غلظت‌های مختلفی از عصاره‌ها شامل ۶۰۰، ۳۰۰، ۱۵۰، ۷۵، ۳۷/۵، ۱۸/۷ و ۹/۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر استفاده شد. از هر یک از این غلظت‌ها ۵۰ میکرولیتر به هر یک از خانه‌های میکروپلیت اضافه گردید. پس از آن ۵۰ میکرولیتر از محیط کشت مولرهینتون براث به هر چاهک اضافه شد. در ادامه به هر یک از چاهک‌ها میزان ۵۰ میکرولیتر از سوسپانسیون نیم مک‌فارلندی اضافه و میکروپلیت‌ها برای مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. پس از این مدت مقدار جذب در طول موج ۶۲۰ نانومتر به‌وسیله دستگاه الایزا مدل Start fax 2100 تعیین شد. حداقل غلظتی از عصاره‌ها که از رشد باکتری‌ها جلوگیری کرد به عنوان MIC در نظر گرفته شد.

تعیین حداقل غلظت کشندگی (MBC)

برای تعیین حداقل غلظت باکتری‌کشی از همه چاهک‌های فاقد کدورت مربوط به آزمایش MIC به‌وسیله سواپ روی محیط کشت مولر هینتون آگار کشت داده شد. محیط‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. کمترین غلظتی از عصاره‌ها که از رشد باکتری‌ها ممانعت کرده بود به‌عنوان MBC گزارش گردید (Okoh *et al*., 2010).

تعیین فعالیت ضد التهابی

برای بررسی خاصیت ضد التهابی عصاره گونه مورد مطالعه در مراحل مختلف فنولوژی از روش پایداری غشای گلبول قرمز استفاده شد (Vane & Botting, 1995). بدین‌منظور نمونه‌های خون از ۱۵ داوطلب سالم تهیه شد، با این پیش‌شرط که داوطلبان در دو هفته قبل از نمونه‌گیری نباید هیچ‌گونه داروی ضد التهابی مصرف کرده باشند. نمونه‌های بدست آمده به لوله‌های هپارینه منتقل و به‌مدت ۱۵ دقیقه در ۵۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفوژ شد. سلول‌های خونی حاصل توسط سرم نرمال سالین شسته شد و برای تهیه سوسپانسیون ۱۰٪ حجمی از گلبول‌های قرمز در نرمال سالین استفاده گردید. سوسپانسیون بدست آمده برای بررسی فعالیت ضد التهابی عصاره‌ها استفاده شد. ازاین‌رو مقدار ۱ میلی‌لیتر از عصاره‌های گونه مورد مطالعه (۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) به‌صورت جداگانه با ۱ میلی‌لیتر از ۰/۱۵ مولار بر لیتر بافر فسفات با اسیدیته ۷/۴، ۲ میلی‌لیتر نرمال سالین

۰/۳۶٪ و ۰/۵ میلی‌لیتر از سوسپانسیون گلبول‌های قرمز مخلوط گردید. از دیکلوفناک سدیم در غلظت یکسان با عصاره‌ها برای مقایسه فعالیت ضد التهابی عصاره‌های مختلف استفاده شد. در گروه شاهد نرمال سالین جایگزین عصاره‌های مختلف گردید. مخلوط بدست آمده در حمام آب‌گرم در دستگاه بن‌ماری با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه قرار داده شد. پس از گذشت این مدت، مخلوط حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در ۵۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفوژ شد. پس از آن مایع رویی برداشته شد و جذب آنها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۶۰ نانومتر تعیین شد. برای محاسبه درصد خاصیت پایدارکنندگی یا تثبیت غشای گلبول‌ها از فرمول زیر استفاده شد.

۱۰۰ × جذب کنترل / (جذب نمونه - جذب کنترل) = خاصیت پایدار کننده غشاء (٪)

تجزیه‌وتحلیل آماری

داده‌های حاصل به‌وسیله نرم‌افزار (SPSS) نسخه ۱۴ مورد تجزیه‌وتحلیل قرار گرفت. تمامی اندازه‌گیری‌ها در ۳ تکرار و تمامی اطلاعات به‌صورت میانگین ± انحراف استاندارد گزارش شد. آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) برای مقایسه میانگین‌ها استفاده شد و در صورت معنی‌داری آزمون مقایسه میانگین دانکن با سطح اطمینان ۹۵٪ انجام گردید.

نتایج

میزان فنل کل

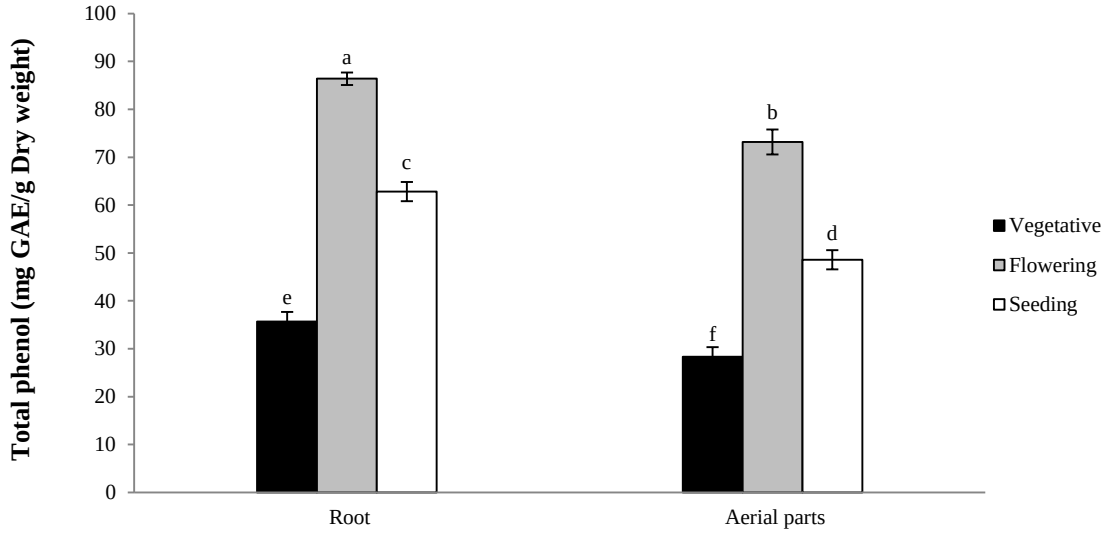
نتایج مربوط به تجزیه واریانس اثر مراحل مختلف فنولوژی و اندام مورد استفاده گیاه بر میزان فنل کل در جدول ۱ ارائه شده است. نتایج نشان داد که مراحل فنولوژی و نوع اندام مورد استفاده گیاه بر میزان فنل کل اثر معنی‌داری دارد (P<۰/۰۵) و میزان فنل کل بین اندام‌های مختلف گیاه و مراحل مختلف فنولوژی متفاوت بود. بیشترین میزان فنل کل (۲ ± ۸۶/۴ میلی‌گرم برابر اسید گالیک بر گرم وزن خشک گیاه) مربوط به عصاره ریشه در مرحله گلدهی گیاه مشاهده شد و کمترین میزان آن (۱/۲ ± ۲۸/۳ میلی‌گرم برابر اسید گالیک بر گرم وزن خشک گیاه) مربوط به عصاره اندام‌های هوایی در مرحله رویشی بود (شکل ۱).

جدول ۱- تجزیه واریانس تأثیر مراحل فنولوژی بر میزان فنل کل و فلاونوئید کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فعالیت ضد التهابی و فعالیت ضد باکتریایی افسنطین (***Artemisia absinthium***)

Table 1. ANOVA of phenological stages effects on total phenol and flavonoids amounts, antioxidant, anti-inflammatory, and antibacterial activities of *Artemisia absinthium*

Source of variance	df	Sum of squares	Mean squares	F
Total phenol content	5	7500.640	1500.128	264.728*
Total flavonoids content	5	1210.065	242.013	161.342*
Antioxidant activity (DPPH)	5	8012.500	1602.500	80125.000*
Antioxidant activity (FRAP)	5	960.000	192.000	255.432*
Anti-inflammatory activity	5	10188.000	2037.600	679.200*
Antibacterial activity	23	1144.000	50.765	49.739*

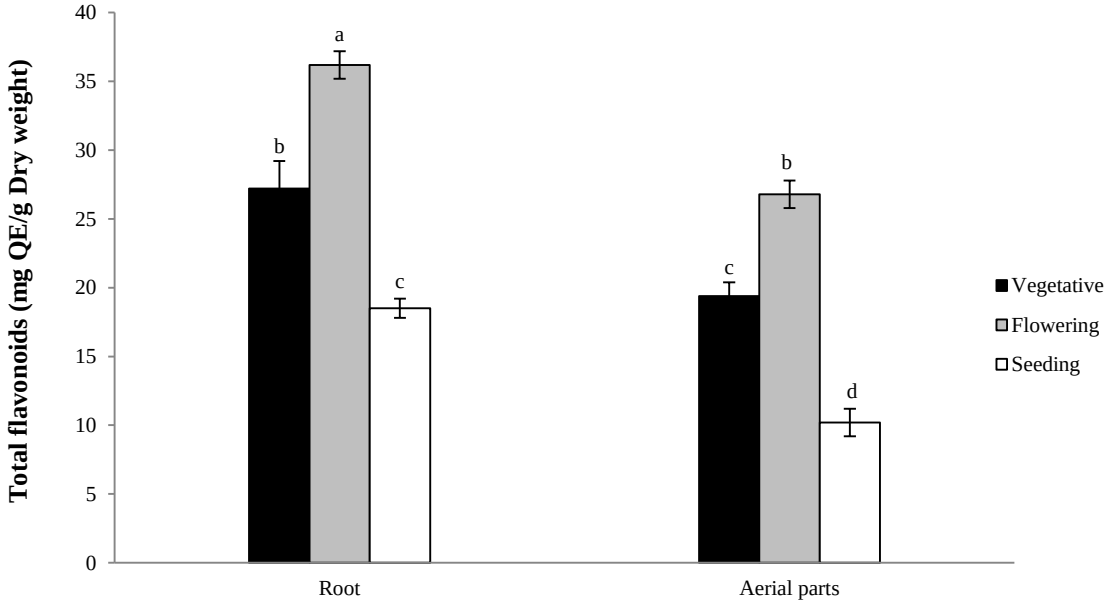
* Statistically significant differences (P<0.05)



شکل ۱- تغییرات میزان فنل کل در عصاره‌های مختلف افسنطین (***Artemisia absinthium***) طی مراحل مختلف فنولوژی

(حروف مختلف روی ستون‌ها نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۵٪ است)

Figure 1. Total phenol content changes in different *Artemisia absinthium* extracts at different phenological stages (Various letters on columns indicate statistically significant differences at $P<0.05$)



شکل ۲- تغییرات میزان فلاونوئید کل در اندام‌های مختلف افسنطین (***Artemisia absinthium***) طی مراحل مختلف فنولوژی

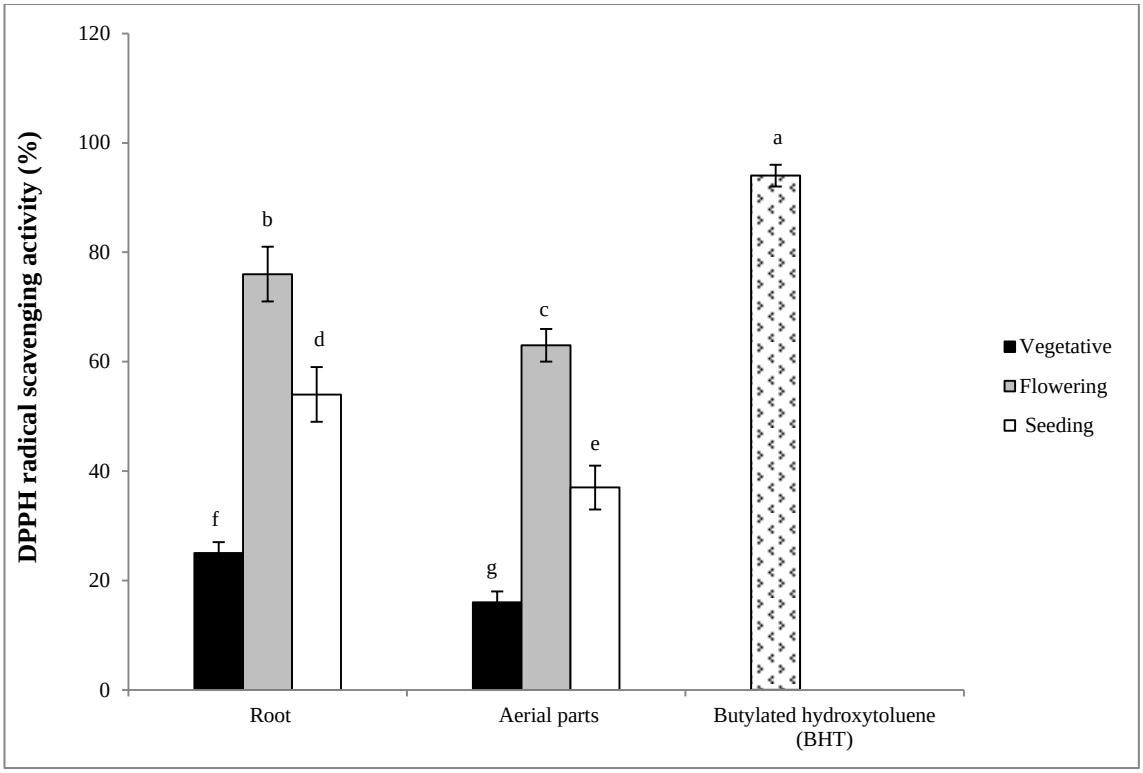
(حروف مختلف روی ستون‌ها نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۵٪ است)

Figure 2. Total flavonoids content changes in different *Artemisia absinthium* extracts at different phenological stages (Various letters on columns indicate statistically significant differences at $P<0.05$)

فعالیت آنتی‌اکسیدانی

مهار رادیکال آزاد DPPH

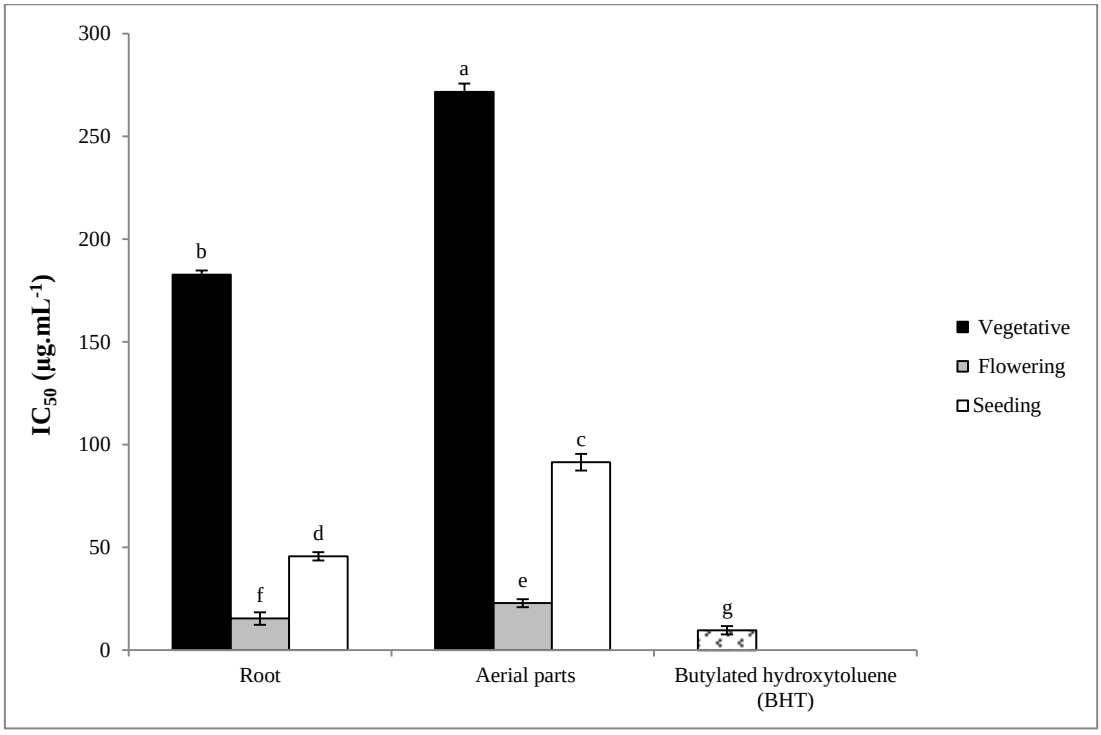
نتایج مربوط به تجزیه واریانس اثر مراحل مختلف فنولوژی و اندام مورد استفاده گیاه بر میزان مهار رادیکال آزاد DPPH در جدول ۱ ارائه شده است. نتایج نشان داد که بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۷۶٪) مربوط به عصاره ریشه در مرحله گلدهی گونه مورد مطالعه بود (شکل ۳). با در نظر گرفتن مراحل مختلف فنولوژی می‌توان نتیجه گرفت که گونه مورد مطالعه در مرحله گلدهی دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری نسبت به مراحل دیگر است. از سوی دیگر، عصاره مربوط به ریشه در تمام مراحل فنولوژی از فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری در قیاس با اندام‌های هوایی برخوردار می‌باشد. نتایج نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی بین اندام‌های مورد بررسی و بین مراحل فنولوژی مختلف بود (P<۰/۰۵). حداقل مقدار IC_{50} (۱۵/۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر) مربوط به عصاره ریشه در مرحله گلدهی گیاه بود و بالاترین میزان IC_{50} (۲۷۱/۶۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر) برای عصاره اندام‌های هوایی در مرحله رویشی مشاهده شد (شکل ۴). مقادیر IC_{50} برای عصاره‌های مربوط به ریشه در رویشی، گلدهی و بذردهی به‌ترتیب ۱۸۲/۷۴، ۱۵/۴ و ۴۵/۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. در حالی که مقادیر IC_{50} برای عصاره‌های مربوط به اندام‌های هوایی در این سه مرحله فنولوژیک به‌ترتیب ۲۷۱/۶۵، ۲۲/۸۵ و ۹۱/۴۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود که این نتایج نیز نشان‌دهنده توان آنتی‌اکسیدانی بالاتر عصاره‌های ریشه گیاه در قیاس با عصاره‌های اندام‌های هوایی در مراحل مختلف فنولوژی بود.



شکل ۳- میزان مهار رادیکال DPPH عصاره‌های مختلف افسنطین (*Artemisia absinthium*) طی مراحل مختلف فنولوژی

(حروف مختلف روی ستون‌ها نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۵٪ است)

Figure 3. DPPH radical scavenging activity of different *Artemisia absinthium* extracts at different phenological stages (Various letters on columns indicate statistically significant differences at P<0.05)



شکل ۴- میزان IC_{50} عصاره‌های مختلف افسنطین (*Artemisia absinthium*) طی مراحل مختلف فنولوژی

(حروف مختلف روی ستون‌ها نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۵٪ است)

Figure 4. IC_{50} value of different *Artemisia absinthium* extracts at different phenological stages
(Various letters on columns indicate statistically significant differences at $P<0.05$)

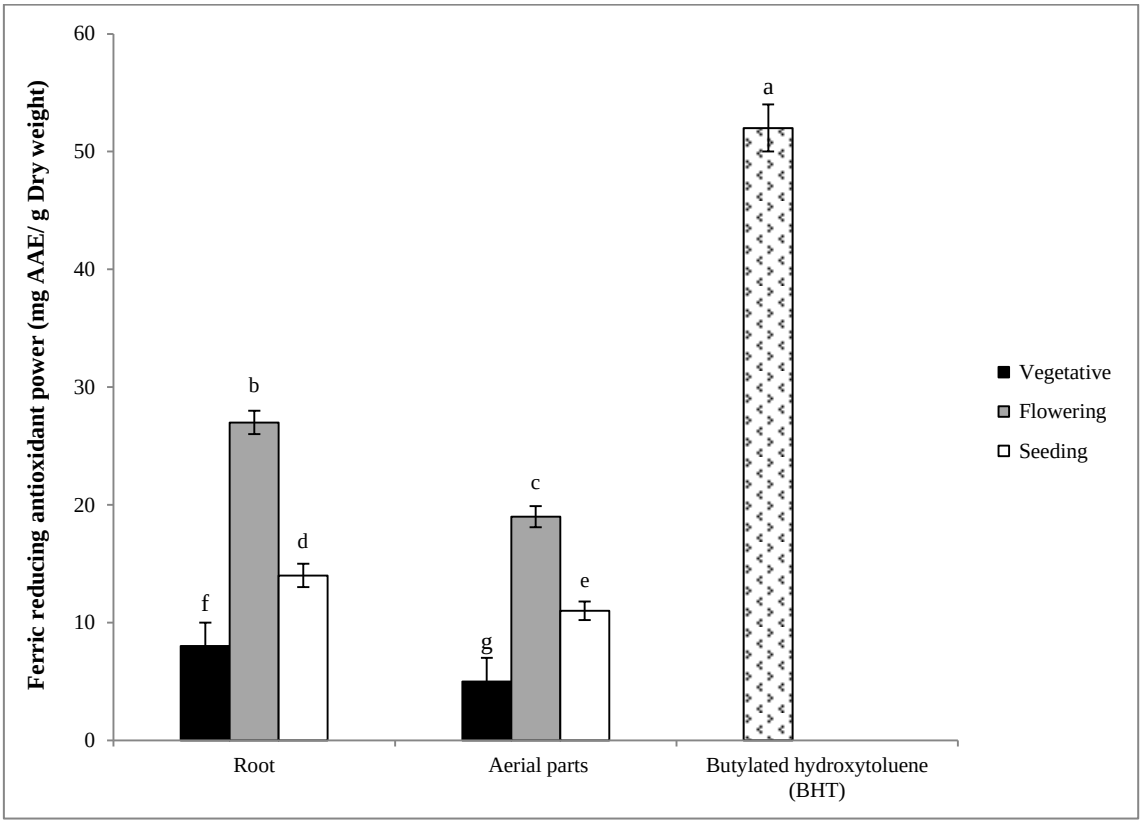
قدرت احیاءکنندگی آهن (FRAP)

نتایج مربوط به تجزیه واریانس اثر مراحل مختلف فنولوژی و اندام مورد استفاده گیاه بر قدرت احیاءکنندگی آهن (FRAP) در جدول ۱ ارائه شده است. نتایج نشان داد که بیشترین میزان احیاءکنندگی (۲۷ میلی‌گرم برابر اسید اسکوربیک در هر گرم وزن خشک گیاه) مربوط به عصاره ریشه در مرحله گلدهی گونه مورد مطالعه است و حداقل میزان آن (۵ میلی‌گرم برابر اسید اسکوربیک در هر گرم وزن خشک گیاه) مربوط به عصاره اندام‌های هوایی در مرحله رویشی گیاه بود (شکل ۵). براساس نتایج، مرحله گلدهی گیاه از قدرت احیاءکنندگی بالاتری نسبت به مراحل دیگر برخوردار است. از سوی دیگر، عصاره مربوط به ریشه در تمام مراحل فنولوژی از قدرت احیاءکنندگی بالاتری در قیاس با اندام‌های هوایی برخوردار بود. نتایج نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در میزان قدرت احیاءکنندگی بین اندام‌های مورد بررسی و بین مراحل فنولوژی مختلف بود ($P<۰/۰۵$).

فعالیت ضد باکتریایی

روش انتشار دیسک

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که مراحل مختلف فنولوژی و اندام مورد استفاده گیاه بر میزان فعالیت ضد باکتریایی آن اثر معنی‌داری دارد ($P<۰/۰۵$) (جدول ۱). نتایج بررسی عصاره‌های ریشه و اندام‌های هوایی در تمامی مراحل فنولوژی نشان داد که قطر هاله عدم رشد برای باکتری‌های گرم مثبت (استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سرئوس) بزرگتر از قطر هاله عدم رشد برای باکتری‌های گرم منفی (اشریشیاکلی و ویبریوکلرا) است.

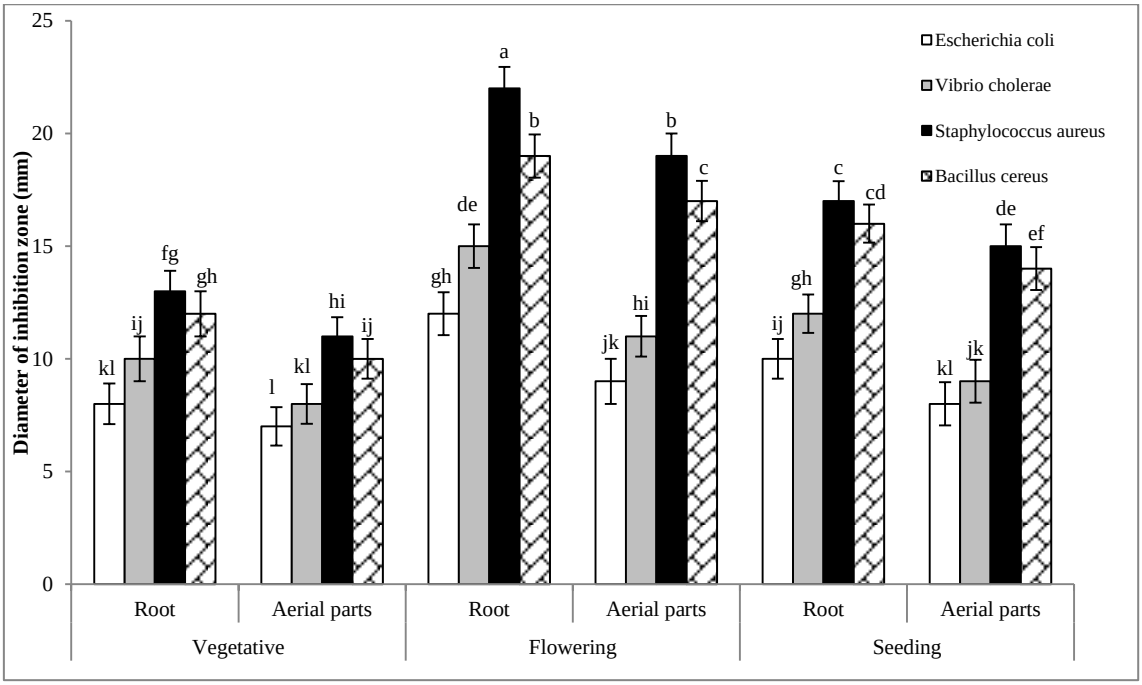


شکل ۵- قدرت احیاکنندگی آهن عصاره‌های مختلف افسنطین (*Artemisia absinthium*) طی مراحل مختلف فنولوژی

(حروف مختلف روی ستون‌ها نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۵٪ است)

Figure 5. Ferric reducing antioxidant power of different *Artemisia absinthium* extracts at different phenological stages (Various letters on columns indicate statistically significant differences at $P<0.05$)

براساس نتایج ریشه گیاه افسنطین از فعالیت ضد باکتریایی بالاتری نسبت به اندام‌های هوایی آن برخوردار است و عصاره مربوط به ریشه در مرحله گلدهی گیاه دارای بیشترین اثرگذاری بر باکتری‌های مورد مطالعه است. نتایج حاصل از مقایسه فعالیت ضد باکتریایی عصاره‌ها با آنتی‌بیوتیک جنتامایسین نشان داد که عصاره ریشه در مرحله گلدهی به‌طور معنی‌داری از فعالیت ضد باکتریایی بالاتری نسبت به جنتامایسین (۱۰ میکروگرم در دیسک) برخوردار است ($P<۰/۰۵$). همچنین بین فعالیت آنتی‌باکتریایی عصاره اندام‌های هوایی در مرحله گلدهی با جنتامایسین تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. به‌طور کلی با در نظر گرفتن نتایج حاصل از بررسی اندام‌های هوایی و ریشه گیاه، می‌توان بیان کرد که گونه مورد مطالعه در مرحله گلدهی از فعالیت ضد باکتریایی بالاتری نسبت به دیگر مراحل فنولوژی برخوردار است. بیشترین قطر هاله عدم رشد (۲۲ میلی‌متر) متعلق به باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و برای عصاره ریشه در مرحله گلدهی و کمترین قطر هاله عدم رشد (۷ میلی‌متر) برای باکتری اشریشیاکلی و برای عصاره اندام‌های هوایی در مرحله رویشی مشاهده شد (شکل ۶).



شکل ۶- قطر هاله عدم رشد عصاره‌های مختلف افسنطین (*Artemisia absinthium*) طی مراحل مختلف فنولوژی

(حروف مختلف روی ستون‌ها نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۵٪ است)

Figure 6. Inhibition zone of different *Artemisia absinthium* extracts at different phenological stages
(Various letters on columns indicate statistically significant differences at $P<0.05$)

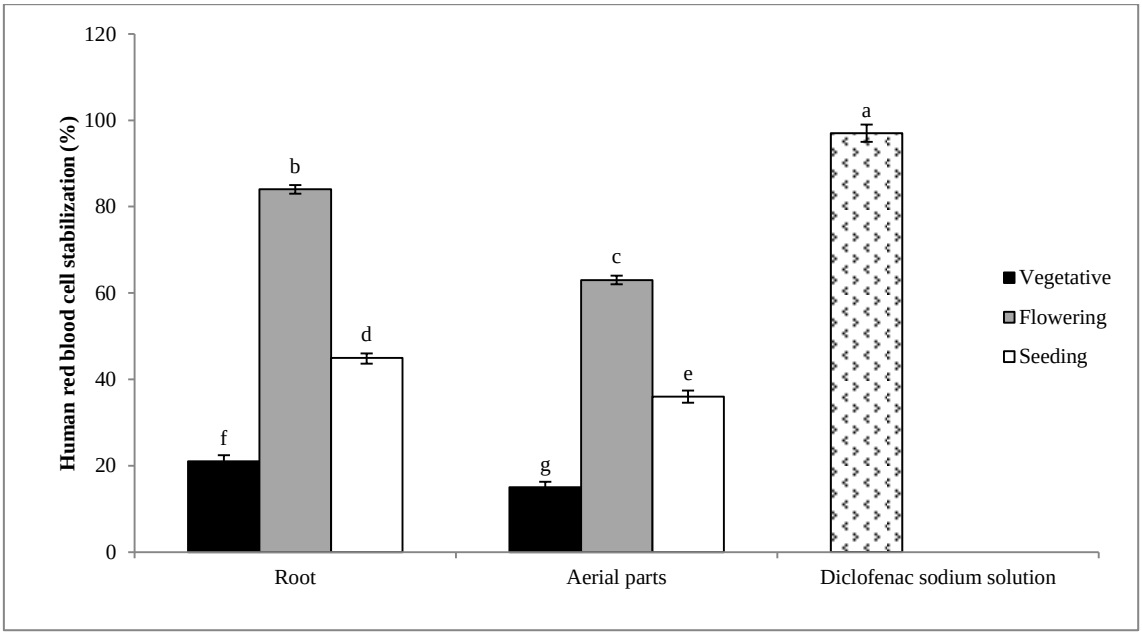
حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC)

نتایج مربوط به حداقل غلظت مهار (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) در جدول ۲ ارائه شده است. نتایج نشان داد که عصاره ریشه گونه مورد مطالعه از مقادیر MIC و MBC کمتری در قیاس با عصاره اندام‌های هوایی آن برخوردار است. حداقل غلظت مهارکنندگی مربوط به عصاره ریشه در مرحله رویشی گونه مورد مطالعه در برابر باکتری‌های اشریشیاکلی، ویبریوکلرا، استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سرئوس به‌ترتیب برابر با ۳۰۰، ۱۵۰، ۳۷/۵ و ۷۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. در حالی که حداقل غلظت کشندگی این عصاره برای باکتری‌های مذکور به‌ترتیب برابر با ۶۰۰، ۳۰۰، ۷۵ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بوده است. حداقل غلظت مهارکنندگی مربوط به عصاره ریشه گیاه در مرحله گلدهی گیاه در برابر باکتری‌های اشریشیاکلی، ویبریوکلرا، استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سرئوس به‌ترتیب برابر با ۷۵، ۳۷/۵، ۱۸/۷ و ۱۸/۷ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود و حداقل غلظت کشندگی این عصاره برای باکتری‌های مذکور به‌ترتیب برابر با ۱۵۰، ۷۵، ۳۷/۵ و ۳۷/۵ بود. حداقل غلظت مهارکنندگی مربوط به عصاره ریشه گیاه در مرحله بذردهی گیاه در برابر باکتری‌های اشریشیاکلی، ویبریوکلرا، استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سرئوس به‌ترتیب برابر با ۱۵۰، ۷۵، ۱۸/۷ و ۳۷/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و حداقل غلظت کشندگی این عصاره در برابر باکتری‌های مذکور به‌ترتیب برابر با ۳۰۰، ۱۵۰، ۳۷/۵ و ۷۵ بود. همانطور که مشاهده می‌شود عصاره مربوط به ریشه در مرحله گلدهی گیاه دارای کمترین مقادیر حداقل غلظت مهار کنندگی و حداقل غلظت کشندگی در برابر باکتری‌های مورد مطالعه است.

جدول ۲- حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) عصاره افسنطین (*Artemisia absinthium*) طی مراحل مختلف فنولوژی

Table 2. Minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of *Artemisia absinthium* extract at different phenological stages

Phenological stages	Plant part	*Escherichia coli*		*Vibrio cholerae*		*Staphylococcus aureus*		*Bacillus cereus*	
		MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
Vegetative	Aerial parts	600	-	300	600	75	150	150	300
	Root	300	600	150	300	37.5	75	75	150
Flowering	Aerial parts	150	300	75	150	37.5	75	37.5	75
	Root	75	150	37.5	75	18.7	37.5	18.7	37.5
Seeding	Aerial parts	300	600	150	300	37.5	75	75	150
	Root	150	300	75	150	18.7	37.5	37.5	75



شکل ۷- فعالیت ضد التهابی عصاره های مختلف افسنطین (*Artemisia absinthium*) طی مراحل مختلف فنولوژی

(حروف مختلف روی ستون‌ها نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۵٪ است)

Figure 7. Anti-inflammatory activity of different *Artemisia absinthium* extracts at different phenological stages
(Various letters on columns indicate statistically significant differences at $P<0.05$)

فعالیت ضد التهابی

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که مراحل مختلف فنولوژی و اندام مورد استفاده گیاه بر میزان فعالیت ضد التهابی آن اثر معنی‌داری دارد ($P<۰/۰۵$) (جدول ۱). شکل ۷ نشان‌دهنده میزان فعالیت ضد التهابی عصاره‌های مختلف گونه مورد مطالعه است. براساس نتایج بیشترین

میزان فعالیت ضد التهابی (۸۴٪) مربوط به عصاره ریشه گونه مورد مطالعه در مرحله گلدهی است و کمترین فعالیت ضد التهابی مربوط به عصاره اندام‌های هوایی در مرحله رویشی گیاه می‌باشد. با در نظر گرفتن مراحل مختلف فنولوژی می‌توان بیان کرد که گونه مورد مطالعه در مرحله گلدهی دارای فعالیت ضدالتهابی بالاتری است. از سوی دیگر، عصاره بدست آمده از ریشه گیاه در تمام مراحل فنولوژی از فعالیت ضدالتهابی بالاتری نسبت به اندام‌های هوایی گیاه برخوردار است. نتایج نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در میزان فعالیت ضد التهابی بین اندام‌های مورد بررسی و بین مراحل فنولوژی مختلف بود ($P<۰/۰۵$).

بحث

متابولیت‌های ثانویه در مسیرهای بیوشیمیایی سنتز می‌شوند که برای رشد گیاه ضروری نیستند اما دارای اهمیت بیولوژیکی، اکولوژیکی و دارویی هستند. به نظر می‌رسد که ترکیب‌های ثانویه در گیاهان عمدتاً برای سازگاری آنها با تنش‌های محیطی، دفاع گیاه در برابر شکارچیان، دفع عوامل بیماری‌زا و جذب‌کننده گرده‌افشان‌ها تولید می‌شود. برخی از این ترکیب‌ها دارای عملکردهای مهم دیگری مانند عمل کردن به‌عنوان رنگدانه مانند آنتوسیانین‌ها یا ایجاد حمایت ساختاری مانند لیگنین‌ها هستند (Kabera *et al*., 2014؛ Kennedy & Wightman, 2011). عوامل متعددی می‌تواند کمّیت و کیفیت متابولیت‌های ثانویه بدست آمده از گیاهان را تحت تأثیر قرار دهد، ازجمله آنها می‌توان به اندام مورد استفاده گیاه، نوع گونه گیاهی، مراحل فنولوژیکی، زمان برداشت گونه گیاهی، عملیات پس از برداشت و روش استخراج ماده مؤثره اشاره کرد (Feduraev *et al*., 2019). ترکیب‌های فنلی و فلاونوئیدی از مهمترین متابولیت‌های ثانویه گیاهی با خواص بیولوژیکی متنوع هستند. تحقیقات قبلی نشان داده است که مراحل رشد بر مقدار ترکیب‌های فنلی و فلاونوئیدی در اندام‌های گیاهان تأثیرگذار است (Ribeiro *et al*., 2019 ؛Yao *et al*., 2016). در این مطالعه نیز میزان ترکیب‌های فنلی در مراحل مختلف فنولوژی متفاوت بود، به‌طوری که بیشترین مقدار آن در مرحله گلدهی گیاه ثبت شد و پس از آن به‌ترتیب مراحل بذردهی و رویشی گیاه قرار داشتند. البته تصور بر این است که میزان پایین ترکیب‌های فنلی در اندام‌های گیاهان جوان‌تر به مقدار کم لیگنین در دیواره سلولی آنها مربوط می‌شود که خود نتیجه لیگنینی شدن کم بافت‌ها در گیاهان جوان است (Ncube & Van Staden, 2015). تحقیقات نشان داده است که فلاونوئیدها عمدتاً در گیاهان جوان تجمع می‌یابند و با افزایش سن گیاه از میزان آن کاسته می‌شود (Riipi *et al*., 2002). در این مطالعه نیز مراحل رویشی و گلدهی از مقادیر ترکیب‌های فلاونوئیدی بیشتری در قیاس با مرحله بذردهی برخوردار بودند. کاسته شدن میزان ترکیب‌های فلاونوئیدی با افزایش سن گیاه می‌تواند به این دلیل باشد که گیاه این ترکیب‌ها را برای گرده‌افشانی و تولیدمثل مورد استفاده قرار داده است (Samanta *et al*., 2011).

در این تحقیق رابطه مستقیمی بین میزان ترکیب‌های فنلی و فلاونوئیدی با میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی مشاهده شد. وجود گروه‌های هیدروکسیل در این ترکیب‌ها این امکان را فراهم می‌کند تا بتوانند اتم‌های هیدروژن را به رادیکال‌های آزاد اهدا کنند و به‌طور مؤثری آنها را غیرفعال نمایند (Tungmunnithum *et al*., 2018). به‌طور کلی می‌توان بیان کرد که وجود این ترکیب‌ها در گیاهان معمولاً نشان‌دهنده قابلیت آنتی‌اکسیدانی آنها است (Aryal *et al*., 2019) و وجود مقادیر بیشتر این ترکیب‌ها در عصاره گیاهان سبب افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنها می‌شود

(Ghasemzadeh *et al*., 2016). نتایج این تحقیق نیز نشان داد که الگوی تغییرات میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی از الگوی تغییرات میزان ترکیب‌های فنلی و فلاونوئیدی پیروی می‌کند و افزایش میزان این ترکیب‌ها منجر به افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها می‌شود.

عصاره‌های گیاهی به‌دلیل دارا بودن خاصیت آب‌گریزی قادر به برقراری پیوند با لایه لیپیدی غشای سلولی باکتری‌ها هستند که این موضوع منجر به پاره شدن غشای سلولی و خروج یون‌ها و مولکول‌های مهم باکتری‌ها به خارج از سلول شده و سبب مرگ باکتری می‌شوند (Joshi & Lekhak, 2009). مطالعات نشان داده است که افزایش ترکیب‌های ثانویه از قبیل فنل‌ها و فلاونوئیدها منجر به افزایش فعالیت ضد باکتریایی عصاره‌های گیاهی می‌گردد (Nayan & Shukla, 2011). در این تحقیق نیز حداکثر میزان فعالیت ضد باکتریایی همزمان با حداکثر میزان ترکیب‌های فنلی و فلاونوئیدی مشاهده شد. همچنین عصاره گونه مورد مطالعه اثرگذاری بیشتری بر باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی مورد مطالعه داشت. علت حساس بودن باکتری‌های گرم مثبت در قیاس با باکتری‌های گرم منفی در برابر عصاره گونه افسنطین، تفاوت در ساختمان دیواره آنهاست. باکتری‌های گرم مثبت دارای موکوپپتید در دیواره سلولی خود هستند، در صورتی که در باکتری‌های گرم منفی تنها لایه نازکی از موکوپپتید وجود دارد و بخش اعظم ساختمان دیواره آنها را لیپوپلی‌ساکارید و لیپوپروتئین تشکیل می‌دهد که از عبور مولکول‌های بزرگ و آب‌گریز ممانعت می‌کند و به‌دلیل اینکه بیشتر ترکیب‌های مؤثر عصاره‌های گیاهی دارای ماهیت آب‌گریز هستند، ازاین‌رو این مواد قادر به نفوذ و دسترسی به نقاط فعال درون باکتری نیستند و این موضوع منجر به مقاومت بیشتر باکتری‌های گرم منفی نسبت به باکتری‌های گرم مثبت در برابر ترکیب‌های گیاهی می‌شود (Mckeegan *et al*., 2002).

یکی از عواملی که باعث افزایش شرایط التهابی می‌شود ناپایداری غشای لیزوزوم‌ها است (Jardim, 2005). پایدار بودن غشای لیزوزوم‌ها از آزاد شدن محصولات نوتروفیلی فعال مانند آنزیم‌های باکتریایی و پروتئینازی ممانعت می‌کند. داروهای استروئیدی ضد التهاب به دلیل مهار آنزیم‌های لیزوزومی و یا پایداری غشای لیزوزومی تأثیرگذار هستند (Heimer & Alheid, 1991). با توجه به اینکه تشابه زیادی میان غشای گلبول‌های قرمز و غشای لیزوزومی وجود دارد (Bag *et al*., 2013)، در این مطالعه از روش بررسی پایداری غشای گلبول‌های قرمز برای ارزیابی فعالیت ضد التهابی عصاره‌های مختلف گونه مورد مطالعه استفاده شد. در هنگام استرس هیپوتونیک می‌توان با کاربرد عوامل ضدالتهاب و تثبیت‌کننده غشاء از انتشار هموگلوبین از گلبول‌های قرمز ممانعت بعمل آورد (Shailesh *et al*., 2011). نتایج این مطالعه نشان داد که در بین مراحل مختلف فنولوژی، مرحله گلدهی گیاه و در بین اندام‌های مختلف گیاه، ریشه گیاه در تمام مراحل فنولوژی از اثر حفاظتی بالاتری برخوردار بودند که این موضوع را می‌توان به وجود مواد ضدالتهابی بیشتر در عصاره‌های مذکور نسبت داد. مطالعات نشان داده است که ترکیب‌های فنلی و فلاونوئیدی دارای فعالیت ضدالتهابی بالایی هستند (Nunes *et al*., 2020). در این مطالعه نیز حداکثر فعالیت ضدالتهابی همزمان با حداکثر میزان ترکیب‌های فنلی و فلاونوئیدی در عصاره گیاه مشاهده شد.

به‌عنوان نتیجه‌گیری باید گفت در این مطالعه که عصاره‌های ریشه و اندام‌های هوایی گونه افسنطین (*Artemisia absinthium*) در مراحل مختلف فنولوژی از نظر محتوای فنلی و فلاونوئیدی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ضد باکتریایی و ضد التهابی بررسی شد، نتایج نشان داد که عصاره‌های گونه مورد مطالعه سرشار از ترکیب‌های فنلی و فلاونوئیدی هستند. همچنین تمامی عصاره‌ها توانایی مهار رادیکال آزاد DPPH و احیاءکنندگی آهن را دارند، ازاین‌رو از فعالیت آنتی‌اکسیدانی مناسبی برخوردار هستند. نتایج نشان‌دهنده وجود رابطه مستقیم بین فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های مختلف با محتوای فنلی و فلاونوئیدی آنها بود. عصاره ریشه مربوط به مرحله گلدهی گیاه با دارا بودن

بالاترین محتوای فنلی و فلاونوئیدی از بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی برخوردار بود. براساس نتایج بدست‌آمده از بررسی فعالیت ضد باکتریایی، عصاره‌های گونه مورد مطالعه دارای اثر بازدارندگی خوبی در برابر باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت بودند. با در نظر گرفتن تمامی عصاره‌ها، بیشترین فعالیت ضد باکتریایی در مرحله گلدهی گونه مورد مطالعه مشاهده شد و عصاره ریشه در مرحله گلدهی بالاترین اثرگذاری را بر باکتری‌های مورد مطالعه داشت. همچنین عصاره گونه مورد مطالعه از فعالیت ضدالتهابی مناسبی برخوردار بود و بالاترین فعالیت ضدالتهابی آن در مرحله گلدهی گیاه مشاهده شد. با توجه به نتایج این تحقیق، عصاره‌های گونه افسنطین می‌تواند به عنوان یک منبع طبیعی از ترکیب‌های آنتی‌اکسیدانی، ضد باکتریایی و ضد التهابی برای استفاده در صنایع غذایی و دارویی مورد توجه قرار گیرد.

سپاسگزاری

این تحقیق با حمایت مالی دانشگاه زابل انجام شده است که بدین‌وسیله از همکاری و مساعدت مسئولان دانشگاه قدردانی می‌شود (شماره گرنت: IR-UOZ GR-9186).

References

- Ahamad, J., 2019. A pharmacognostic review on *Artemisia absinthium*. International Research Journal of Pharmacy, 10(1): 25-31.
- Aryal, S., Baniya, M.K., Danekhu, K., Kunwar, P., Gurung, R. and Koirala, N., 2019. Total phenolic content, flavonoid content and antioxidant potential of wild vegetables from Western Nepal. Plants, 8: 96.
- Bag, A., Kumar Bhattacharyya, S., Kumar Pal, N. and Ranjan Chattopadhyay, R., 2013. Anti-inflammatory, anti-lipid peroxidative, antioxidant and membrane stabilizing activities of hydroalcoholic extract of Terminalia chebula fruits. Pharmaceutical Biology, 51: 1515-1520.
- Batiha, G.E.S., Olatunde, A., El-Mleeh, A., Hetta, H.F., Al-Rejaie, S., Alghamdi, S., Zahoor, M., Magdy Beshbishy, A., Murata, T., Zaragoza-Bastida, A. and Rivero-Perez, N., 2020. Bioactive compounds, pharmacological actions, and pharmacokinetics of wormwood (*Artemisia absinthium*). Antibiotics, 9(6): 353.
- Benzie, I.F. and Strain, J.J. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. Analytical Biochemistry, 239(1): 70-76.
- Bhat, R.R., Rehman, M.U., Shabir, A., Rahman Mir, M.U., Ahmad, A., Khan, R., Masoodi, M.H., Madkhali, H. and Ganaie, M.A., 2019. Chemical composition and biological uses of *Artemisia absinthium* (wormwood). Plant and Human Health, 3: 37-63.
- Chang, C., Yang, M., Wen, H. and Chern, J., 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. Journal of Food and Drug Analysis, 10: 178-182.
- Das, K., Tiwari, R.K.S. and Shrivastava, D.K. 2010. Techniques for evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agent: Current methods and future trends. Journal of Medicinal Plants Research, 4(2): 104-111.
- Emami, S.A., Rabe, S.Z.T., Ahi, A. and Mahmoudi, M., 2012. Inhibitory activity of eleven *Artemisia* species from Iran against Leishmania major parasites. Iranian Journal of Basic Medical Sciences, 15(2): 807.
- Farghadan, M., Ghafoori, H., Vakhshiteh, F., Fazeli, S.A.S., Farzaneh, P. and Kokhaei, P., 2016. The Effect of *Artemisia fragrans* Willd: essential oil on inducible nitric oxide synthase gene expression and nitric oxide production in lipopolysaccharide-stimulated murine macrophage cell line. Iranian Journal of Allergy, Asthma and Immunology, 12: 515-524.
- Feduraev, P., Chupakhina, G., Maslennikov, P., Tacenko, N. and Skrypnik, L., 2019. Variation in phenolic compounds content and antioxidant activity of different plant organs from *Rumex crispus* L. and *Rumex obtusifolius* L. at different growth stages. Antioxidants, 8(7): 237.
- Ghasemzadeh, A., Jaafar, H.Z., Ashkani, S., Rahmat, A., Juraimi, A.S., Puteh, A. and Muda Mohamed, M.T., 2016. Variation in secondary metabolite production as well as antioxidant and antibacterial activities of *Zingiber zerumbet* (L.) at different stages of growth. BMC Complementary and Alternative Medicine, 16(1): 1-10.
- Greten, F.R. and Grivennikov, S.I., 2019. Inflammation and cancer: triggers, mechanisms, and consequences. Immunity, 51(1): 27-41.
- Hbika, A., Daoudi, N.E., Bouyanzer, A., Bouhrim, M., Mohti, H., Loukili, E.H., Mechchate, H., Al-Salahi, R., Nasr, F.A., Bnouham, M. and Zaid, A., 2022. *Artemisia absinthium* L. aqueous and ethyl acetate extracts: antioxidant effect and potential activity in

organs of African Cabbage (*Cleome gynandra* L.) accessions at different growth stages. Antioxidants, 10(12): 1952.
- Mazutti, M., Mossi, A.J., Cansian, R.L., Corazza, M.L., Dariva, C. and Oliveira, J.V., 2008. Chemical profile and antimicrobial activity of Boldo (*Peumus boldus* Molina) extracts obtained by compressed carbon dioxide extraction. Brazilian Journal of Chemical Engineering, 25(2): 427-434.
- Mckeegan, K.S., Borges Walmsley, M.I. and Walmsley, A.R., 2002. Microbial and viral drug resistance mechanisms. Trends in Microbiology,10(10): S8-S14.
- Meda, A., Lamien, C.E., Romito, M., Millogo, J. and Nacoulma, O.G., 2005. Determination of the total phenolic, flavonoid and pralin contents in Burkina Fasan honey, as well as their scavenging activity. Food Chemistry, 91: 571-577.
- Mohammadi, A., Sani, T.A., Ameri, A.A., Imani, M., Golmakani, E. and Kamali, H., 2015. Seasonal variation in the chemical composition, antioxidant activity, and total phenolic content of *Artemisia absinthium* essential oils. Pharmacognosy Research, 7(4): 329.
- Mohammed, H.A., 2022. Phytochemical analysis, antioxidant potential, and cytotoxicity evaluation of traditionally used *Artemisia absinthium* L. (Wormwood) growing in the central region of Saudi Arabia. Plants, 11(8): 1028.
- Mravčáková, D., Sobczak-Filipiak, M., Váradyová, Z., Kucková, K., Čobanová, K., Maršík, P., Tauchen, J., Vadlejch, J., Mickiewicz, M., Kaba, J. and Várady, M., 2021. Effect of *Artemisia absinthium* and *Malva sylvestris* on antioxidant parameters and abomasal histopathology in lambs experimentally infected with *Haemonchus contortus*. Animals, 11(2): 462.
- Nayan, R.B. and Shukla, V.J., 2011., Antibacterial and antifungal activities from leaf extracts of *Cassia fistula* L.: An ethnomedicinal plant. Journal of Advanced Pharmaceutical Technology and Research, 2(2): 104-109.
- Ncube, B. and Van Staden, J., 2015. Tilting plant metabolism for improved metabolite biosynthesis and enhanced human benefit. Molecules, 20: 12698-12731.
- Nunes, C.D.R., Barreto Arantes, M., Menezes de Faria Pereira, S., Leandro da Cruz, L., de Souza Passos, M., Pereira de Moraes, L., Vieira, I.J.C. and Barros de Oliveira, D., 2020. Plants as sources of anti-inflammatory agents. Molecules, 25(16): 3726.
- Oke, F., Aslim, B., Ozturk, S. and Altundag, S., 2009. Essential oil composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Satureja cuneifolia* Ten. Food Chemistry, 112(4): 874-879.
- Okoh, O., Sadimenko, A. and Afolayan, A., 2010. Comparative evaluation of the antibacterial activities vitro and in vivo against pancreatic α-amylase and intestinal α-glucosidase. Pharmaceutics, 14(3): 481.
- Heimer, L. and Alheid, G.F., 1991. Piecing together the puzzle of basal forebrain anatomy. Advancesin Experimental Medicine and Biology, 295: 1-42.
- Ivanov, M., Gašić, U., Stojković, D., Kostić, M., Mišić, D. and Soković, M., 2021. New Evidence for *Artemisia absinthium* L. application in gastrointestinal ailments: ethnopharmacology, antimicrobial capacity, cytotoxicity, and phenolic profile. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2021: 321-336.
- Jardim, M.C. 2005. Role of glutamate ionotropic and benzodiazepine receptors in the ventromedial hypothalamic nucleus on anxiety. Pharmacology Biochemistry and Behavior, 82(1): 182-189.
- Ji, H.F., Li, X.J. and Zhang, H.Y., 2009. Natural products and drug discovery: can thousands of years of ancient medical knowledge lead us to new and powerful drug combinations in the fight against cancer and dementia? EMBO reports, 10(3): 194-200.
- Jiang, C., Zhou, S., Liu, L., Toshmatov, Z., Huang, L., Shi, K., Zhang, C. and Shao, H., 2021. Evaluation of the phytotoxic effect of the essential oil from *Artemisia absinthium*. Ecotoxicology and Environmental Safety, 226: 112856.
- Jimoh, M.O., Afolayan, A.J. and Lewu, F.B., 2019. Antioxidant and phytochemical activities of *Amaranthus caudatus* L. harvested from different soils at various growth stages. Scientific Reports, 9: 12965.
- Joshi, B. and Lekhak, S., 2009: Antibacterial property of different medicinal plants. Journal of Science Engineering and Technology, 5: 143-150.
- Kabera, J.N., Semana, E., Mussa, A.R. and He, X., 2014. Plant secondary metabolites: biosynthesis, classification, function and pharmacological properties. Journal of Pharmacy and Pharmacology, 2(7): 377-392.
- Kennedy, D.O. and Wightman, E.L., 2011. Herbal extracts and phytochemicals: plant secondary metabolites and the enhancement of human brain function. Advances in Nutrition, 2(1): 32-50.
- Kordali, S., Kotan, R., Mavi, A., Cakir, A., Ala, A. and Yildirim, A., 2005. Determination of the chemical composition and antioxidant activity of the essential oil of *Artemisia dracunculus* and of the antifungal and antibacterial activities of Turkish *Artemisia absinthium*, *A. dracunculus*, *Artemisia santonicum*, and *Artemisia spicigera* essential oils. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53(24): 9452-9458.
- Maina, S., Ryu, D.H., Bakari, G., Misinzo, G., Nho, C.W. and Kim, H.Y., 2021. Variation in phenolic compounds and antioxidant activity of various

- Shailesh, G., Seema, K. and Dwivedi, S., 2011. In-Vitro anti-inflammatory activity of Sarcostemma acidum Wight. & Arn. Indian herb by Human red blood cell membrane stabilization method. International Journal of Pharmacy Teaching & Practices, 2: 184-188.
- Sofowora, A., Ogunbodede, E. and Onayade, A., 2013. The role and place of medicinal plants in the strategies for disease prevention. African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines, 10(5): 210-229.
- Sultan, M.H., Zuwaiel, A.A., Moni, S.S., Alshahrani, S., Alqahtani, S.S., Madkhali, O. and Elmobark, M.E., 2020. Bioactive principles and potentiality of hot methanolic extract of the leaves from *Artemisia absinthium* L. "in vitro cytotoxicity against human MCF-7 breast cancer cells, antibacterial study and wound healing activity". Current Pharmaceutical Biotechnology, 21(15): 1711-1721.
- Szopa, A., Pajor, J., Klin, P., Rzepiela, A., Elansary, H.O., Al-Mana, F.A., Mattar, M.A. and Ekiert, H., 2020. *Artemisia absinthium* L. -Importance in the history of medicine, the latest advances in phytochemistry and therapeutical, cosmetological and culinary uses. Plants, 9(9): 1063.
- Tungmunnithum, D., Thongboonyou, A., Pholboon, A. and Yangsabai, A., 2018. Flavonoids and other phenolic compounds from medicinal plants for pharmaceutical and medical aspects: An overview. Medicines, 5: 93.
- Vane, J.R. and Botting, R.M. 1995. New insights into the mode of action of anti-inflammatory drugs. Inflammation Research, 44(1): 1-10.
- Wang, J., 2018. Neutrophils in tissue injury and repair. Cell and Tissue Research, 371(3): 531-539.
- Weli, A.M., Al-Salmi, S., Al Hoqani, H. and Hossain, M.A., 2018. Biological and phytochemical studies of different leaves extracts of *Pteropyrum scoparium*. Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences, 7(4): 481-486.
- Yao, X.H., Zhang, Z.B., Song, P., Hao, J.Y., Zhang, D.Y. and Zhang, Y.F., 2016. Different harvest seasons modify bioactive compounds and antioxidant activities of *Pyrola incarnata*. Industrial Crops and Products, 94: 405-412.
- Yineger, H., Kelbessa, E., Bekele, T. and Lulekal, E., 2007. Ethnoveterinary medicinal plants at bale mountains national park, Ethiopia. Journal of Ethnopharmacology, 112(1): 55-70.

of the essential oils of *Rosmarinus officinalis* L. obtained by hydrodistillation and solvent free microwave extraction methods. Food Chemistry, 120: 308-312.
- Omer, B., Krebs, S., Omer, H. and Noor, T.O., 2007. Steroid-sparing effect of wormwood (*Artemisia absinthium*) in Crohn's disease: a double-blind placebo-controlled study. Phytomedicine, 14(2-3): 87-95.
- Padosch, S.A., Lachenmeier, D.W. and Kröner, L.U., 2006. Absinthism: a fictitious 19th century syndrome with present impact. Substance Abuse Treatment, Prevention, and Policy, 1: 14.
- Ranković, B.R., Kosanić, M.M. and Stanojković, T.P., 2011. Antioxidant, antimicrobial and anticancer activity of the lichens *Cladonia furcata*, *Lecanora atra* and *Lecanora muralis*. BMC Complementary and Alternative Medicine, 11(1): 1-8.
- Ribeiro, D.A., de Macêdo, D.G., Boligon, A.A., Menezes, I.R.A., de Almeida Souza, M.M. and da Costa, J.G.M., 2019. Influence of seasonality on the phenolic composition of *Secondatia floribunda* A. DC (Apocynaceae) during its phenological cycle. Acta Physiologiae Plantarum, 41(12): 1-16.
- Riipi, M., Ossipov, V., Lempa, K., Haukioja, E., Koricheva, J., Ossipova, S. and Pihlaja, K., 2002. Seasonal changes in birch leaf chemistry: Are there trade-offs between leaf growth and accumulation of phenolics? Oecologia, 130: 380-390.
- Rock, K.L. and Kono, H., 2008. The inflammatory response to cell death. Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease, 3: 99-126.
- Routray, W. and Orsat, V., 2014. Variation of phenolic profile and antioxidant activity of North American highbush blueberry leaves with variation of time of harvest and cultivar. Industrial Crops and Products, 62: 147-155.
- Rustaiyan, A. and Masoudi, S., 2011. Chemical constituents and biological activities of Iranian *Artemisia* species. Phytochemistry Letters, 4(4): 440-447.
- Samanta, A., Das, G. and Das, S.K., 2011 Roles of flavonoids in plants. Carbon, 100: 12-35.
- Sen, A. and Batra, A., 2012. Evaluation of antimicrobial activity of different solvent extracts of medicinal plant: *Melia azedarach* L. International Journal of Current Pharmaceutical Research, 4: 67-73.

Effects of different phenological stages on chemical profile, antioxidant, antibacterial, and anti-inflammatory activities of *Artemisia absinthium* L. root and aerial parts extracts

M. Barati[1], M. Sharifi-Rad[2*] and S. Saeidi[3]

1- M.Sc. student in Range Management, University of Zabol, Zabol, Iran
2*- Corresponding author, Department of Range and Watershed Management, Faculty of Water and Soil, University of Zabol, Zabol, Iran, E-mail: Majidsharifirad@uoz.ac.ir
3- Research Center of Agricultural Biotechnology, University of Zabol, Zabol, Iran

Received: March 2022 Revised: May 2022 Accepted: May 2022

Abstract

Due to the importance of rangeland medicinal plants, the present study was conducted to assess the chemical profile and antioxidant, antibacterial, and anti-inflammatory activities of rangeland-medicinal plant *Artemisia absinthium* L. root and aerial parts extracts at different phenological stages (vegetative, flowering, and seeding). Folin-Ciocalteu and aluminum chloride colorimetric methods were used for determination of total phenol and flavonoids contents, respectively. The ethanol extract biological activities were investigated at different phenological stages: the antioxidant activity by DPPH free radical scavenging activity and ferric reducing antioxidant power (FRAP) methods; the antibacterial activity by disk diffusion, minimum inhibitory concentration (MIC), and minimum bactericidal concentration (MBC) methods; and the anti-inflammatory activity using human red blood cell stabilization. The results showed that the highest amount of total phenol (86.4 ± 2 mg gallic acid equivalents (GAE)/g dry weight) and total flavonoids (36.2 ± 1.3 mg quercetin equivalents (QE)/g dry weight) was recorded for the root at flowering stage. Also, the root extract at flowering stage had the highest antioxidant (IC_{50} = 15.4 $\mu g.mL^{-1}$) and antibacterial activities. The largest inhibition zone (22 mm) was observed for this extract against *Staphylococcus aureus*. This extract MIC and MBC were recorded 18.7 $mg.mL^{-1}$ and 37.5 $mg.mL^{-1}$ against *S. aureus* and *Bacillus cereus*, respectively. The bacteria *Vibrio cholerae* and *Escherichia coli* showed less sensitivity to the mentioned extract. Also, the results showed that the flowering stage had the highest anti-inflammatory activity compared to the other phenological stages. The root extract at the all phenological stages showed higher anti-inflammatory activity than the aerial parts. Overall, it could be concluded that *A. absinthium*, particularly at flowering stage, can be considered as a suitable alternative source for synthetic antioxidants, antibiotics, and anti-inflammatory agents.

Keywords: Phytochemical compounds, antioxidant activity, antibacterial activity, anti-inflammatory activity, phenological stages, *Artemisia absinthium* L.