قياس الفعالية المضادة للأكسدة لخلاصة كحولية لأوراق عقار إكليل الجبل مستخلصة بطريقتين الأمواج فوق الصوتية والأمواج الميكروية

د. مسرّه العمر، أسامة الداحول

الجامعة الوطنية الخاصة، كلية الصيدلة

الملخص:

تمت دراسة مقارنة المحتوى المضاد للأكسدة لخلاصتين إيثانولية من إكليل الجبل المستخلصة بالأمواج فوق الصوتية والأمواج الميكروية. وجدت الدراسة أن الخلاصة الإيثانولية المستخلصة بالأمواج الميكروية تحتوي على مستويات أعلى من المركبات المضادة للأكسدة مقارنة بالخلاصة المستخلصة بالأمواج فوق الصوتية. يشير ذلك إلى أن استخدام الأمواج الميكروية يمكن أن يزيد من كفاءة استخلاص المركبات المضادة للأكسدة من إكليل الجبل، أظهرت النتائج أن الاستخلاص بالأمواج الميكروية (MAE) أعطى 10.37% وزن/وزن وقدرة إرجاعية للحديد 103.7494 mg EAA/g بينما أعطى الاستخلاص بالأمواج فوق الصوتية (SE) 16.83% وزن/وزن وقدرة إرجاعية للحديد 168.3944 mg EAA/g.

1. المقدمة:

تُعرف مضادات الأكسدة بخصائصها الوقائية للعديد من الأعضاء، فحمض الكارنوسيك، على سبيل المثال، يحمي الخلايا العصبية من موت الخلايا المبرمج عن طريق تنشيط PI3K [3]، كما أنه يحمي من أكسدة البروتين الدهني منخفض الكثافة (LDL)، الذي له تأثير وقائي على جدران الأوعية الدموية [4] والكبد حيث تبين أن كارنوسول يمنع تلف الكبد الحاد، ربما عن طريق تحسين السلامة الهيكلية لخلايا الكبد [5]. تُعرّف إدارة الغذاء والدواء (FDA) مضادات الأكسدة بأنها مكملات غذائية يجب تناولها بالإضافة إلى الاستهلاك الغذائي الطبيعي في محاولة للوقاية من بعض الأمراض. هناك طرق مختلفة للاستخلاص (النقع، التسريب، الترشيح، الاستخلاص، استخلاص السوكسليت، MAE .....إلخ).

طريقة الاستخلاص بالأمواج فوق الصوتية لعقار إكليل الجبل ذات كفاءة جيدة [2]، وطريقة الاستخلاص بالأمواج الميكروية أيضًا أعطت إنتاجية جيدة [1] ولكن في هذه الدراسة هدفنا إيجاد الفرق في نسبة الاستخلاص في أوراق نبات Rosmarinus officinalis باستخدام MAE وSE. نتائج هذه الدراسة قد تفيد في التحسين من إنتاجية وفعالية مضادات الأكسدة بإكليل الجبل.

2. الأدوات والمواد:

2.1. الأدوات:

- ميكروويف MIRACO 1500 واط في MAE. القوة والوقت لأفران الميكروويف في الدراسة المدروسة كانت 750 واط لمدة 6.5 دقيقة [1].
- جهاز صوتنة (SE). JENEK/PS-A.
- جهاز سبيكتروفوتومتر RIGOL 3660.

2.2. المواد:

- الإيثانول المستخدم: المراد 100مل بنسبة 70% في كلتا طريقتي الاستخلاص.
- استخدام 2.5 مل من فيري سيانيد البوتاسيوم 1٪، و0.5 مل من 0.1٪ FeCl3، و2.5 مل من محلول فوسفات 0.2 مولاري (الرقم الهيدروجيني = 6.6) وحمض ثلاثي كلورو أسيتيك 10٪ للكشف عن محتوى مضادات الأكسدة عند 700 نانومتر.
- تحضير الوقاء الفوسفاتي: يذاب 2.152 جم من Na2HPO3 في 80 مل من الماء المقطر ثم يضاف 1.652 جم من NaH2PO3 إلى الخليط ويخفف حتى الوصول إلى 100 مل من الماء المقطر.
- تم قطف أوراق إكليل الجبل من مدينة حماه بتاريخ الثالث والعشرين من كانون الأول 2023، جففت بالظل لمدة سبع ايام ثم بفرن لمدة 8 ساعات على درجة حرارة 40م°، ثم تم طحنها بمطحنة تجارية، وكان الوزن الصافي 8 جرام تقريباً، قسمت إلى النصف (4 جرام لكل طريقة).

3. قياس الفعالية المضادة للأكسدة للخلاصات:

3.1. تم اعتماد الطريقة Ferric Reducing Antioxidant Power PFRAP أي قياس القدرة الإرجاعية للحديد كمقياس للفعالية المضادة للأكسدة:

مبدأ تفاعل هو قياس القدرة الإرجاعية للحديد في المستخلصين ولمحاليل السلسلة العيارية من حمض الأسكوربيك حيث أن مضادات الأكسدة ستختزل فري سيانيد البوتاسيوم إلى فيروسيانيد البوتاسيوم الذي سيتفاعل مع فوق كلور الحديد مما يعطي فري فروسيانيد (ازرق بروسيا)، وهو مركب أزرق اللون ذو امتصاص اقصى عند 700 نانومتر:

$K_3[Fe(CN)_6]$ + مضادات الأكسدة $\rightarrow K_4[Fe(CN)_6]$

$3K_4[Fe(CN)_6] + 4FeCl_3 \rightarrow Fe_4[Fe(CN)_6]_3$ (لون ازرق) + 12KCl

تم استخدام معادلة FRAP لحساب القدرة الإرجاعية للحديد للمستخلصين ومحاليل السلسلة العيارية:

$$c \times t \times v / m = FRAP$$

c: التركيز المكافئ لحمض الأسكوربيك (ملجم/مل) المطابق لامتصاص العينة في الجدول المرجعي.

T: عامل التمديد v: حجم العينة مل m: وزن العينة الجافة غ

كلما زادت نسبة الامتصاص، زاد محتوى مضادات الأكسدة وبالتالي الفعالية المضاد للأكسدة.

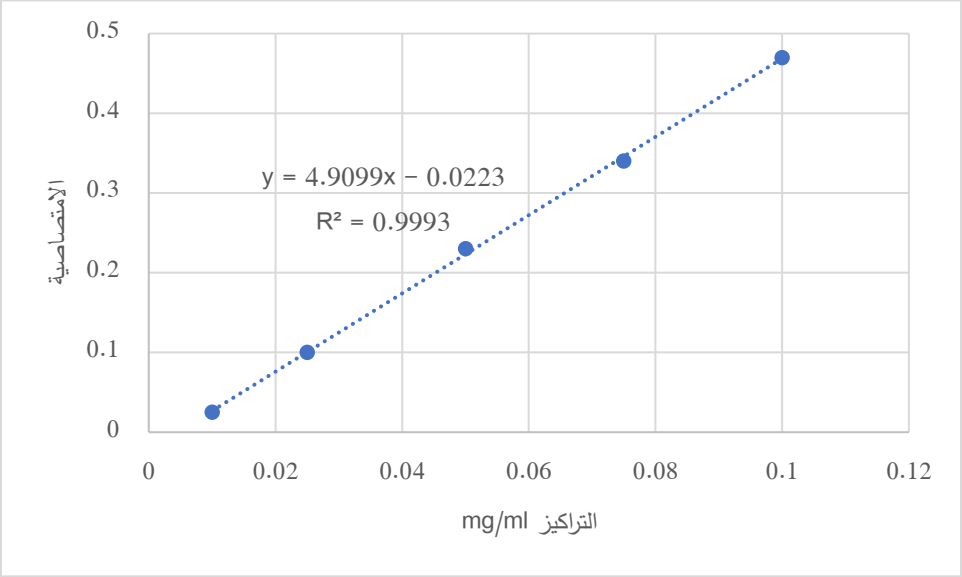
3.2. تحضير السلسة العيارية من حمض الأسكوربيك:

تم تحضير عدة محاليل بتراكيز تتراوح ما بين 0.1 ملغم/مل إلى 0.01 ملغم/مل من حمض الأسكوربيك تم أخذ 1 مل من كل من المحاليل العيارية وإجراء التفاعل الكيميائي لها وقياس الامتصاصية ثم حساب قيمة القدرة الإرجاعية للحديد كما ورد في 3.1. (الجدول1) (الشكل1)

جدول 1 يظهر تراكيز المحلول المرجعي وامتصاصياتها المقابلة:

رقم المحلول	التركيز mg/ml	الامتصاصية
1	0.01	0.025
2	0.025	0.1
3	0.05	0.23
4	0.075	0.34
5	0.1	0.47

شكل 1 يبين خطية السلسلة العيارية المحضرة من حمض الأسكوربيك:



3.3. الاستخلاص وتحضير العينات لقياس فعاليتها المضادة للأكسدة:

في MAE، تم حل 4 جرام من أوراق نبات إكليل الجبل المطحون مع 50 مل من الإيثانول ووضعها في وعاء زجاجي بغطاء في الميكروويف لمدة 30 ثانية، ثم تترك لتبرد ثم إعادتها للميكروويف لمدة 30 ثانية أخرى، واستمرت الدورة لمدة إجمالية 2.5 دقائق تقريبًا، تمت إضافة المزيد من الكحول عند تبخره، الحجم الكلي المضاف أصبح 100 مل. وأخيرًا، قمنا بترك الخلاصة حتى الجفاف وحصلنا على بقية جافة تم أخذ وزن 0.5 ملجم حلت في 1 مل من الماء المقطر وتم إجراء التفاعل الكيميائي وقياس الامتصاصية ثم حساب قيمة القدرة الإرجاعية للحديد كما ورد في 3.1.

في SE، تم وضع 4 جم من أوراق إكليل الجبل المطحونة في بيشر حلها بـ 80 مل من الإيثانول، ثم تم وضع الدورق في جهاز الصوتنة لمدة 15 دقيقة. بعد الاستخلاص، تم تبخير سائل الاستخلاص أيضًا، وأخذ وزن 0.5 ملجم من البقية الجافة حلت في 1 مل من الماء المقطر وتم إجراء التفاعل الكيميائي وقياس الامتصاصية ثم حساب قيمة القدرة الإرجاعية للحديد كما ورد في 3.1.

4. النتائج:

- تركيز حمض الأسكوربيك المكافئ لامتصاصية العينة المستخلصة بالأمواج فوق الصوتية هو0.0841972 مغ/مل.
- تركيز حمض الأسكوربيك المكافئ لامتصاصية العينة المستخلصة بالأمواج الميكروية هو 0.0518747 مغ/مل.

جدول 2 يظهر نتائج قياس الفعالية المضادة للأكسدة لمستخلصين ايتانوليين لإكليل الجبل بطريقة MAE وSE:

العينة	مستخلص MAE	مستخلص SE
التركيز mg/ml	0.5	0.5
الامتصاصية	0.2324	0.3911
الفعالية المضادة للاكسدة mg EAA/g	103.7494	168.3944

- حساب النسبة المئوية الوزنية لمضادات الأكسدة في كلا المستخلصين:

الاستخلاص بالأمواج فوق الصوتية أعطى نسبة 16.83% وزن/وزن.

الاستخلاص بالأمواج الميكروية أعطت نسبة 10.37% وزن/وزن.

5. الخاتمة:

في الختام، يُظهر البحث أن عملية الاستخلاص بالأمواج الصوتية تعد أكثر كفاءة في استخلاص المواد المضادة للأكسدة من نبات إكليل الجبل مقارنة بالاستخلاص بالأمواج الميكروية. وقد أظهرت الدراسة أن الخلاصة الإيثانولية المستخلصة بالأمواج الصوتية تحتوي على مستويات أعلى من المركبات المضادة للأكسدة مقارنة بالخلاصة المستخلصة بالأمواج الميكروية. وبالتالي، يمكن الاستنتاج بأن استخدام الأمواج الصوتية يمكن أن يكون طريقة فعالة وموفرة لاستخلاص المواد المضادة للأكسدة من إكليل الجبل. ومن الممكن أن تكون هذه النتائج مفيدة في تطوير وتحسين عمليات استخلاص المركبات النباتية الفعالة في المستقبل.

المراجع:

1- ***Eman Al-Mnsour :*** A Kinetic Study on Microwave- assisted Extraction of Bioactive Compounds from Rosmarinus Officinalis L. Baghdad Science Journal, 20/07/2023.

2- Paloukopoulou, C.; Karioti, A. A Validated Method for the Determination of Carnosic Acid and Carnosol in the Fresh Foliage of *Salvia rosmarinus* and *Salvia officinalis* from Greece. *Plants* **2022**, *11*, 3106. https://doi.org/10.3390/ plants11223106

3- Taram F, Ignowski E, Duval N, Linseman DA. Neuroprotection Comparison of Rosmarinic Acid and Carnosic Acid in Primary Cultures of Cerebellar Granule Neurons. Molecules. 2018 Nov 13;23(11):2956. doi: 10.3390/molecules23112956. PMID: 30428519; PMCID: PMC6278428

4- Pearson DA, Frankel EN, Aeschbach R, German JB (1997) Inhibition of endothelial cell-mediated oxidation of low-density lipoprotein by rosemary and plant phenolics. J Agric Food Chem 45: 578-582

5- Sotelo-Félix, José I.a; Martinez-Fong, Danielb; Muriel De la Torre, Pabloc. Protective effect of carnosol on CCl4-induced acute liver damage in rats. European Journal of Gastroenterology & Hepatology 14(9):p 1001-1006, September 2002.