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

بررسی فعالیت ضداکسایشی و جاروب کنندگی رادیکال در برگ، ساقه و بذر *Asperugo procumbens L.* از خانواده گل گاوزبان

هاجر موحدی نژاد*، رضا حیدری و رشید جامعی

ارومیه، دانشگاه ارومیه، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی

تاریخ دریافت: ۸۸/۱۱/۱٤ تاریخ پذیرش: ۸۹/۸/۱۸

چکیده

در این مطالعه، فعالیت ضداکسایشی و ضدرادیکالی عصاره‌های متانولی برگ، ساقه و بذر گیاه *Asperugo procumbens L.* (خانواده گل گاوزبان) مورد بررسی قرار گرفت. به این منظور محتوای فنولی کل با روش فولین- سیوکالتو تعیین شد. قدرت احیای عصاره‌ها، فعالیت جاروب‌کنندگی رادیکالها (DPPH، نیتریت، هیدروژن پراکسید و سوپراکسید) و فعالیت کلات‌کنندگی آهن اندازه‌گیری شد. نتایج حاصله نشان داد که عصاره بذر با بیشترین محتوای فنولی، از بیشترین قدرت احیاکنندگی و ظرفیت جاروب‌کنندگی رادیکالهای آزاد برخوردار بود. سنجش فعالیت شکستگی زنجیر، سرعت حذف رادیکال را توسط عصاره های مختلف نشان داد. رابطه معنی دار آماری بین محتوای فنول و فعالیت کلات‌کنندگی آهن یافت نشد. با توجه به نتایج این پژوهش به نظر می‌رسد که بذر گیاه فوق الذکر منبع خوبی از ضداکساینده‌های طبیعی است و می‌توان از آن به منظور جلوگیری از اثرات تخریبی رادیکالهای آزاد استفاده کرد.

واژه های کلیدی: *Asperugo procumbens L.* ، ضداکساینده، ضدرادیکال، محتوای فنول، بذر

*نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۳٦٤١٤٣٤٥٣ ، پست الکترونیکی: hmovahedh@ymail.com

مقدمه

در سالهای اخیر به دنبال اثبات رابطه بین تنش اکسایشی و بیماریهای انسان، توجه رو به رشدی در مورد مکملهای غذایی و ترکیبات حاوی خواص ضداکسایشی ایجاد شده است (۲۸). این ترکیبات به مهار بسیاری از واکنشهای اکسیداسیون که توسط رادیکالهای آزاد مثل سوپراکسید، هیدروکسیل و پراکسی‌نیتریت ایجاد می‌شوند، کمک کرده و باعث آهسته کردن و یا مهار توسعه بیماریها می شوند (۲۹). به نظر می‌رسد تنفس هوازی نرمال، ماکروفاژها و پراکسیزومها منابع درون زای اصلی بسیاری از اکسیدانهای تولید شده توسط سلولها باشند. منابع برون زای رادیکالهای آزاد شامل استعمال توتون، پرتودهی یونیزان، حلالهای آلی و حشره‌کشها می‌باشد (١٤ و ۳۹). رادیکالهای آزاد می-توانند موجب پراکسیداسیون لیپیدی در غذاها شوند که منجر به تخریب آنها می‌شود (٢٦ و ١٥). اما اکسیداسیون تنها روی لیپیدها اثر نمی‌گذارد. گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و نیز انواع گونه‌های فعال نیتروژن (RNS) ممکن است موجب آسیب DNA شوند که می تواند منجر به جهش گردد (۸ و ١٤). به عبارت دیگر تولید رادیکالهای آزاد در سلولها و بافتهای بدن در ارتباط با بروز بسیاری از بیماریهای ایام پیری است (۳۱). ترکیبات ضداکسایشی براساس مکانیسم واکنش آنها، اغلب به دو گروه عمده طبقه‌بندی می‌شوند: الف) ضداکساینده‌های شکننده زنجیر رادیکالها ب) ضداکساینده‌های مهارکننده. ضداکساینده‌های گروه اول، رادیکالهای آزاد واکنش‌پذیر مثل هیدروکسیل را از طریق واکنش انتقال اتم هیدروژن بین هیدروکسیل و ضداکساینده‌ها، به مولکولهای پایدار تبدیل می‌کنند. در

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

نتیجه واکنشهای زنجیره‌ای اتواکسیداسیون بین رادیکالهای آزاد و مولکولهای سلولی به اتمام می‌رسد. دسته دوم، واکنش مهار اکسیداسیون را هم از طریق تبدیل پیش سازهای ROS به گونه‌های غیرفعال و هم از طریق مهار واکنش اکسیداسیون انجام می‌دهند. این گروه شامل ضداکساینده‌های آنزیمی و غیرآنزیمی می‌باشد. ضداکساینده‌های غیرآنزیمی شامل: مهارکننده‌های آنزیمهای اکسیداتیو و شلاته‌کننده‌های فلزی هستند (۲٤). گزارشات اخیر دلالت بر وجود یک ارتباط معکوس بین رژیمهای غذایی شامل غذاهای غنی از ضداکساینده و بروز بیماریهای انسانی دارد (۲۳). بنابراین دریافت ترکیبات ضداکساینده از طریق رژیم غذایی مهم است. خانواده گل - گاوزبان (Boraginaceae) شامل ۱۰۰ جنس و ۲۰۰۰ گونه گیاهی در نواحی گرمسیری و معتدل است (۲۷). برخی از گیاهان این خانواده در طب سنتی ایران از جایگاهی ویژه برخوردارند. گیاه *Asperugo procumbens L.* از این خانواده ، گیاهی است علفی و یکساله، پوشیده از کرکهای زبر نوک قلابی با ساقه‌های منشعب که معمولاً به صورت گسترده روی زمین قرار دارد. *A. procumbens L.* که خاص منطقه ایران و تورانی می باشد به صورت علف هرز در همه جا پراکنده است. در کشور ایران، این گیاه تقریباً در تمام نواحی شمال، شمال‌غرب، مرکز، شمال‌شرق، شرق، جنوب و جنوب‌شرقی گزارش شده است (۱و۲). گل، ساقه، برگ و ریشه اغلب گیاهان تیره بوراژیناسه دارای اثرات درمانی هستند. ارزش دارویی اجزای مختلف گیاهان به ترکیبات فیتوشیمیایی آنها بستگی دارد. مهم‌ترین این ترکیبات آلکالوییدها، تانن‌ها، فلاونوئیدها و ترکیبات فنولی هستند (۳٤). از آنجایی که در بروز اکثر بیماریها، گونه‌های فعال اکسیژن نقش دارند، بررسی تأثیر ترکیبات فنولی به منظور حذف و جمع آوری این ترکیبات موضوعی درخور توجه است. هدف از این تحقیق، تعیین و مقایسه محتوای فنولی ساقه، برگ و بذر گیاه مذکور و بررسی خواص ضداکسایشی و جاروب‌کنندگی رادیکال در آنهاست.

مواد و روشها

نمونه‌ها از دره شهدا واقع در مسیر جاده ارومیه- اشنویه جمع‌آوری شدند. نمونه شاهد با کد هرباریومی ۱۳٦۹ در مؤسسه مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان آذربایجان‌غربی موجود است. اندامهای مختلف گیاه (ساقه، برگ، بذر) بعد از تفکیک و شستشو با آب مقطر در دمای اتاق خشک شدند و سپس به صورت پودری ریز درآمدند. ۳ گرم از پودرهای حاصل به کمک حلال متانول (۵۰ میلی‌لیتر) و دستگاه سوکسله عصاره‌گیری شد. عصاره‌های حاصل پس از سانتریفیوژ در دور ٤۰۰۰، صاف و برای انجام آزمایشات مختلف در ٤ درجه سانتی گراد در یخچال نگهداری شدند.

اندازه‌گیری ترکیبات فنولی کل: میزان ترکیبات فنولی کل موجود در عصاره‌های متانولی با استفاده از معرف فولین- سیوکالتو و طبق روش orwitHs (1984) تعیین شد (۱٦). ۲/۵ میلی‌لیتر از معرف فولین- سیوکالتو ده برابر رقیق شده، ۱ میلی‌لیتر از سدیم بیکربنات (۲۰۰ گرم در لیتر) و ۱ میلی‌لیتر آب مقطر به ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره متانولی اضافه شد. بعد از ۱۵ دقیقه جذب در ۷۳۰ نانومتر توسط دستگاه طیف نورسنج (مدل WPA S2100) ساخت کشور انگلیس خوانده شد. مخلوطی از آب و شناساگرها به عنوان نمونه شاهد و تانیک اسید به عنوان استاندارد استفاده شد.

تعیین قدرت احیاکنندگی: قدرت احیاکنندگی عصاره‌های متانولی ساقه، برگ و بذر طبق روش Oyaizu (1986) اندازه گیری شد (۲۵). ۱ میلی‌لیتر از عصاره‌ها با ۱/۲۵ میلی‌لیتر پتاسیم فریسیانید (۱۰ گرم در لیتر) مخلوط شده به مدت ۲۰ دقیقه در ۵۰ درجه سانتی گراد انکوبه گردید. سپس ۱/۲۵ میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک اسید (۱۰۰ گرم در لیتر) به مخلوط اضافه و در دور ۷۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه

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

سانتریفیوژ شد. ۱/۲۵ میلی‌لیتر از مایع رویی با ۱/۲۵ میلی-لیتر آب مقطر و ۰/۲۵ میلی‌لیتر کلریدآهن (۱ گرم در لیتر) ترکیب شد. سپس جذب در ۷۰۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. افزایش جذب مخلوط واکنش دلالت بر افزایش قدرت احیاء دارد.

اندازه‌گیری فعالیت جاروب‌کنندگی رادیکال DPPH·:
میزان جاروب‌کنندگی رادیکال پایدارDPPH (۲،۲– دی فنیل ۱– پیکریل هیدرازیل) به کمک روشهای (2000) Burits و Cuendet (1997) تعیین شد (۷و۹). ۲۵ میکرولیتر از عصاره‌ها به ۲/۵ میلی‌لیتر از محلول متانولی ۰/۰۰٤ درصد DPPH اضافه شد. بعد از ۳۰ دقیقه انکوباسیون در تاریکی ، جذب در ۵۱۷ نانومتر خوانده شد. در اثر حل کردن DPPH در متانول، رنگ بنفش تیره ایجاد شد. رادیکالهای DPPH با ضداکساینده‌های موجود در عصاره‌ها، واکنش داده و به شکل پایدار DPPHH درمی آیند، در نتیجه رنگ آن از بنفش تیره به زرد روشن تبدیل شده و میزان جذب نیز کاهش می‌یابد. هر چه مقدار جذب خوانده شده بعد از ۳۰ دقیقه، بیشتر باشد، فعالیت ضداکساینده‌های موجود در عصاره در حذف رادیکال آزاد کمتر بوده است. بنابراین مقدار DPPH باقی‌مانده رابطه معکوس با فعالیت مهارکنندگی ضداکساینده‌ها دارد (۲۱). درصد فعالیت جاروب کنندگی عصاره‌ها طبق فرمول زیر محاسبه شد.

$$1- (A_{sample}/A_{blank}) \times 100$$

A_{sample} نشانگر جذب همراه با نمونه و A_{blank} نشانگر جذب بدون نمونه می‌باشد.

تعیین فعالیت شکستگی زنجیر:فعالیت شکستگی زنجیر عصاره‌های متانولی با استفاده از معرف DPPH و روش Brand-Williams(1995) همراه با اندکی تغییر، اندازه‌گیری شد (٦). ۱۰ میکرولیتر از عصاره با ۱/۹ میلی‌لیتر محلول متانولی 6×10^{-5} مولار DPPH ترکیب شد. بعد از ٦۰ دقیقه انکوباسیون در دمای اتاق در تاریکی، سرعت شکستگی زنجیر در ۵۱۵ نانومتر خوانده شد. سرعت واکنش طبق فرمول $Abs^{-3} - Abs_0^{-3} = -3kt$ محاسبه شد. K نشان‌دهنده سرعت شکستگی رادیکال است. Abs_0 مقدار جذب اولیه و Abs مقدار جذب در افزایش زمان (t) است. فعالیت ضداکسایشی به صورت Δ Abs/min/mg وزن خشک گزارش شد.

اندازه گیری فعالیت جاروب کنندگی رادیکال نیتریت:
میزان مهار رادیکال اکسید نیتریک با استفاده از واکنش Griess Illosvoy (1964) تعیین شد (۱۳). مخلوط واکنش (۳ میلی‌لیتر) حاوی ۲ میلی‌لیتر سدیم نیتروپروسید (۱۰ میلی‌مولار) و ۰/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات سالین به همراه عصاره مورد نظر(۰/۵ میلی‌لیتر) به مدت ۱۵۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شد. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر از مخلوط واکنش با ۱ میلی‌لیتر از سولفانیلیک اسید (۰/۳۳ درصد در گلاسیال استیک اسید ۲۰ درصد) مخلوط شد و اجازه داده شد تا به مدت ۵ دقیقه باقی بماند. سپس ۱ میلی‌لیتر از نفتیل‌اتیلن‌دی‌آمین‌دی‌هیدروکلرید (۰/۱ درصد) به آن اضافه شده و مخلوط گردید و سپس به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شد. یک رنگ صورتی پخش شده در محلول تشکیل شد. جذب این محلول در ۵٤۰ نانومتر اندازه گیری شد. درصد مهار از فرمول زیر به دست آمد.

$$A_{blank} - A_{sample} \times 100 / A_{sample}$$

اندازه‌گیری فعالیت جاروب‌کنندگی رادیکال پراکسیدهیدروژن: برای مشخص کردن قدرت جمع‌آوری هیدروژن پراکسید توسط عصاره‌های گیاه مورد نظر از روش Ruch (1989) با کمی تغییر استفاده شد (۳۰). ۱۰ میکرولیتر از عصاره در ۳/٤ میلی‌لیتر محلول بافر فسفات ۰/۱ مولار (pH:۷/٤) حل شد سپس با ٦۰۰ میکرولیتر از محلول ٤۳ میلی‌مولار هیدروژن‌پراکسید (تهیه شده در همان بافر) مخلوط شد. این فعالیت توسط خواندن میزان جذب در ۲۳۰ نانومتر از مخلوط های واکنش اندازه‌گیری شد. درصد جاروب‌کنندگی طبق فرمول زیر محاسبه شد.

$$(A_{blank} - A_{sample}) / A_{blank} \times 100$$

اندازه‌گیری ظرفیت جمع‌آوری رادیکالهای سوپراکسید: برای سنجش میزان جاروب‌کنندگی رادیکال سوپراکسید توسط عصاره‌های متانولی از روش Jing (1995) و Zhao و سیستم اتواکسیداسیون پیروگالول استفاده شد (۱۸). پیروگالول در شرایط قلیایی به سرعت اتواکسید شده و آنیونهای سوپراکسید آزاد را تولید می‌کند. این آنیونها نیز باعث تسریع روند اتواکسیداسیون می‌شوند. با این وجود به دلیل افزودن بعضی جمع‌کننده‌ها یا ضداکساینده‌ها، آنیونهای سوپراکسید از محیط جمع شده در نتیجه اتواکسیداسیون انجام نخواهد شد. مقدار ۹ میلی-لیتر از محلول بافر تریس – HCl (pH: ۸/۲ , ۵۰ میلی مولار) در درون لوله آزمایش ریخته شد و لوله آزمایش در حمام آب گرم در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد به مدت ۲۰ دقیقه انکوبه گردید. حجمی به میزان ٤۰ میکرولیتر از محلول پیروگالول (٤۵ mM پیروگالول در ۱۰ میلی‌مولار از HCl) که آن نیز در دمای اتاق از قبل انکوبه شده بود به لوله آزمایش بالا اضافه و مخلوط شد. مخلوط در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد به مدت سه دقیقه انکوبه شد و بعد یک قطره اسکوربیک اسید به آن اضافه گردید. جذب در ٤۲۰ نانومتر که به عنوان A_0 مشخص شد، بعد از ۵ دقیقه اندازه-گیری شد که این مقدار بر سرعت اکسیداسیون پیروگالول اشاره دارد. سرعت اکسیداسیون A_1 توسط روش بالا اندازه‌گیری گردید و این بار غلظت معینی از عصاره به درون محلول بافر تریس – HCl اضافه شد. مقدار A_2 نیز توسط روش بالا اندازه گیری شد، با این تفاوت که محلول پیروگالول به درون محلول بافر تریس – HCl اضافه نشد. درصد جمع‌آوری رادیکالهای سوپراکسید طبق فرمول زیر به دست آمد.

$$[A_0-(A_1-A_2)]\times 100/A_0$$

اندازه گیری فعالیت کلات‌کنندگی آهن: فعالیت کلات-کنندگی Fe^{2+} عصاره‌ها طبق روش Decker (1990) و Welch اندازه‌گیری شد (۱۰). ۱ میلی‌لیتر از عصاره با ۳/۷ میلی‌لیتر آب مقطر ترکیب شد. سپس این ترکیب با ۰/۱ میلی‌لیتر $FeCl_2$ (۲ میلی‌مولار) و ۰/۲ میلی‌لیتر فروزین (۵ میلی‌مولار) به مدت ۱۰ دقیقه وارد واکنش شد. جذب در ۵٦۲ نانومتر خوانده شد (۱۳). فروزین در حضور Fe^{2+} تشکیل کمپلکس می‌دهد. عوامل کلاته‌کننده منجر به تخریب این کمپلکس می‌شوند. نشانه این امر، کاهش شدت رنگ قرمز اولیه کمپلکس است. بنابراین با کاهش شدت رنگ، می توان فعالیت کلات‌کنندگی، ترکیبات موجود را سنجید (۳). فعالیت کلات‌کنندگی نمونه‌ها طبق فرمول زیر محاسبه شد.

$$\text{فعالیت کلات کنندگی} = [1-(A_{sample})/(A_{blank})]\times 100$$

آنالیز آماری: تمام سنجشها در سه تکرار انجام شد. نتایج به صورت مقادیر میانگین و خطای استاندارد (SE) میانگین بیان شده‌اند. اختلاف بین اندامهای گیاه با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) در سطح احتمال آماری ۵ درصد ($P<0.05$) آنالیز گردید. برا ی تنظیم جدول از نرم افزار SPSS استفاده شد.

نتایج و بحث

بسیاری از ترکیبات فنولی و هیدروکینونها، دارای فعالیتهای ضداکسایشی هستند (۱۷). بنابراین میزان ترکیبات فنولی و اثر ضداکسایشی آنها در گیاه *A. procumbens L.* مورد بررسی قرار گرفت. جدول ۱ محتوای فنولی کل عصاره-های متانولی ساقه، برگ و بذر را نشان می‌دهد. در بین اندامهای مختلف، محتوای فنول کل بذر، از همه بیشتر است. روشهای مختلفی جهت اندازه‌گیری قدرت احیاکنندگی وجود دارد. اما روش به کار رفته در این تحقیق یکی از روشهای پرکاربرد می‌باشد. در این سنجش، احیای Fe^{3+} به Fe^{2+} در حضور عصاره‌های متانولی بررسی شد. از آنجایی که ظرفیت احیایی ترکیبات می‌تواند به عنوان یک شاخص معین از فعالیتهای ضداکسایشی بالقوه آنها باشد (۲۰)، لذا می‌توان گفت که عصاره بذر در بین

اندامهای بررسی شده (با بیشترین محتوای فنولی) حاوی ترکیبات احیاکننده بیشتر یا مؤثری است که در انتقال الکترون نقش دارند (جدول ۱).

جدول ۱ – مقایسه محتوای فنولی، قدرت احیاکنندگی، فعالیت ضداکسایشی، فعالیت ضدرادیکالی و فعالیت کلات کنندگی آهن در سه اندام مختلف *Asperugo procumbens L.*

اندام ها	محتوای فنول کل (میلی گرم تانیک اسید)	قدرت احیاکنندگی (جذب در nm۷۰۰)	فعالیت شکستگی زنجیر -Abs $^{-3}$/min/mg	درصد مهار DPPH
ساقه	۱۲/٦۷ ±۰/۵٦ ^{c}	۰/۲۸٤ ±۰/۰۰۸٤^{c}	۰/۰۱۵۰±۰/۰۰۱۵ ^{c}	۲۷/۳۸ ±۰/۳٤ ^{c}
برگ	۲۲/۵۵±۰/٤۱ ^{b}	۰/٤۳۲±۰/۰۰۵٤^{b}	۰/۰۲۱۷±۰/۰۰۳٤ ^{bc}	۳۷/۲۷±۱/۳۳ ^{b}
بذر	۲۸/۲٤±۰/٤٤ ^{a}	۰/٦٤۰±۰/۰۰۵۱^{a}	۰/۰٤۵۳±۰/۰۰٦۰ ^{a}	٦۷/۱۷±۲/۸۳ ^{a}
میانگین کل	۲۱/۱۵±۲/۲۸	۰/٤۵۲±۰/۰۵۱۷	۰/۰۲۷۳±۰/۰۰۵۰	٤۳/۹٤±٦/۰٤
اندام ها	درصد جاروب کنندگی سوپر اکسید	درصد جاروب کنندگی نیتریت	درصدجاروب کنندگی پراکسید	درصد کلات کنندگی آهن
ساقه	٤۹/٦۹٤±۱/۹۳۵ ^{c}	۳۵/۹٤۸±۲/٤۰۲^{bc}	۱۵/٤۵±۲/۲۷ ^{c}	۸/۳±۰/۹۸۱ ^{a}
برگ	۷۱/۱۲۰±۲/۲۳۸ ^{ab}	۵۳/٤۰۸±۱/۷٤^{ab}	۲٦/۸۲±۲/۰٦^{bc}	٦/٤٦±۰/٤۳۷ ^{a}
بذر	۷۸/۵٤۷±۱/۷۷٦ ^{a}	٦۷/۷٤±۱۰/٦۲۷^{a}	٤۷/۲۲±۵/۱۲^{a}	۷/۱۰±۰/۸۰۲ ^{a}
میانگین کل	٦٦/٤۵٤±٤/٤۳۷	۵۲/۳٦۵±۵/۵۹۱	۲۹/۸۳±٤/۹۵	۷/۲۸±۰/٤۷۱

مقادیر نشان‌دهنده میانگین سه تکرار به همراه انحراف معیار هستند(Mean ± SE, n=3) ,P<0.05.

حروف مختلف در هر ستون نشاندهنده وجود اختلاف معنی دار آماری در بین اندامهاست.

به لحاظ ماهیت ترمودینامیکی، سنجش پتانسیل احیاء هیچ گونه اطلاعاتی در مورد سرعت واکنش به دست نمی‌دهد، بلکه تنها برای بررسی توانایی ترکیبات احیاکننده در تحریک انتقال الکترون مناسب است، اما اندازه‌گیری فعالیت شکستگی زنجیر، سرعت نابودی رادیکال را تحت تأثیر ضداکساینده‌های انتقال‌دهنده الکترون و دهنده هیدروژن تعیین می‌کند (۲۲). بنابراین اندازه‌گیری این شاخصها در کنار هم، روش جالبی برای تخمین ظرفیت ضداکسایشی یک ترکیب به حساب می‌آید. میزان فعالیت شکستگی زنجیر در عصاره‌های متانولی بذر به تبعیت از محتوای فنولی، بیشتر از عصاره‌های دو اندام دیگر بود. بین سرعت نابودی رادیکال در عصاره‌های برگ و ساقه تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید (جدول۱). میزان ترکیبات فنولی موجود در بذر دو برابر بیشتر از ساقه بود. به همان نسبت عصاره متانولی بذر، قدرت احیاکنندگی بیشتری را از خود نشان داد. وجود رابطه مثبت بین قدرت احیاکنندگی و میزان ترکیبات فنولی کل (R^2 = 0.9289) و از سوی دیگر وجود همین رابطه بین فعالیت شکستگی زنجیر و میزان ترکیبات فنولی (R^2 = 0.8986) تأیید دوباره ای بر این مطلب است که ترکیبات فنولی حاضر در عصاره‌های مورد مطالعه، به طور مستقیم در واکنشهای ضداکسایشی شرکت داشته‌اند. Amarowicz و همکاران در سال ۲۰۰۸ فعالیت ضداکسایشی عصاره گیاه لوبیای adzuki و اجزای این عصاره را بررسی کرده و نشان دادند که قدرت احیاکنندگی عصاره فنولی این گیاه و اجزای آن وابسته به ترکیبات فنولی و نوع آنهاست (٤). در پژوهش جدیدی که بر روی برخی از گیاهان دارویی انجام گرفته است، میزان ترکیبات فنولی اندام هوایی *Alkanna tinctoria* از خانواده گل

گاوزبان، ۱۱/۵۷ میلی‌گرم گالیک اسید در وزن خشک گزارش شده است (۳۳). Assimopoulou و همکاران در سال ۲۰۰۳ به این نتیجه رسیده بودند که ریشه همین گیاه از فعالیت ضداکسایشی قابل توجهی برخوردار است (۵). درصد مهار رادیکال DPPH در بین سه اندام مذکور متفاوت بود. این مقدار در مورد عصاره بذر۶۷/۱۷ درصد و برای عصاره ساقه ۲۷/۳۸ درصد گزارش شد. بین نتیجه این سنجش و محتوای فنولی کل، رابطه مستقیمی مشاهده گردید ($R^2 = 0.9961$). به عبارت دیگر عصاره بذر متناسب با میزان ترکیبات فنولی، رادیکال DPPH موجود در محیط را با سرعت بیشتری حذف کرد. همان گونه که جدول ۱ نشان می‌دهد، بین درصد ظرفیت جمع‌آوری رادیکال سوپراکسید در برگ و بذر اختلاف معنی‌داری وجود ندارد. اثر مهارکنندگی عصاره ساقه بر اتواکسیداسیون پیروگالول، متناسب با محتوای فنولی آن، ضعیف بود. رادیکال هیدروژن پراکسید در شروع اکسیداسیون لیپید فعالیت ضعیفی از خود نشان می‌دهد، اما پتانسیل آن در تولید رادیکالهایی مانند رادیکال هیدروکسیل بسیار بالاست (۳۵). بین فعالیت جمع‌آوری هیدروژن پراکسید ساقه و برگ اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید. با این وجود به تبعیت از محتوای فنولی، عصاره بذر فعالیت جمع آوری رادیکال هیدروژن پراکسید بیشتری را از خود نشان داد. نیتریک اکسید یکی از رادیکالهای آزاد در محیط In vivo است و نقش مهمی در عملکردهای فیزیولوژیکی ایفا می‌نماید. اما همین رادیکال می تواند در بروز بیماریهای التهابی نیز نقش داشته باشد (۳۷). این نیتریک اکسید از سدیم نیتروپروسید حاصل شد که با اکسیژن جهت تشکیل نیتریت واکنش می دهد. رقابت جمع‌کننده‌های نیتریک اکسید با اکسیژن منجر به محصولات احیایی نیتریک اکسید می‌شود (۱۹ و ۳۶). همچون سایر رادیکالها، میانگین درصد ظرفیت جمع آوری رادیکال نیتریت در جدول ۱ نشان داده شده است. در این مورد نیز عصاره بذر فعالیت بیشتری را در مقایسه با عصاره ساقه از خود نشان داد. با مقایسه درصد ظرفیت جمع‌آوری چهار رادیکال بررسی شده، می‌توان نتیجه گرفت که ظرفیت جمع‌آوری رادیکالهای چهارگانه در عصاره بذر نسبت به عصاره‌های برگ و ساقه بیشتر است. این نشان می‌دهد که پلی فنولهای موجود در عصاره‌های متانولی بذر می‌توانند مسئول اثرات مفید عصاره آن در جمع‌آوری رادیکالهای آزاد باشند. شواهد نشان می‌دهد که افزایش مصرف ضداکساینده‌های غذایی یا میوه ها یا سبزیجات با خواص ضداکسایشی موجب بهبود کیفیت زندگی یا به تأخیر انداختن شروع یا کاهش خطر ابتلا به بیماریهای انحطاطی مرتبط با پیری است (۳۵). ترکیبات فنولی علاوه بر ویژگی ضداکسایشی، قادر به کلات‌کردن فلزات کمیاب نیز هستند(۳۸). نتایج به دست آمده از سنجش کلات کنندگی آهن نشان داد که بین فعالیت کلات‌کنندگی آهن عصاره‌های ساقه، برگ و بذر اختلاف معنی‌داری وجود ندارد. Ebrahimzadeh و همکاران در سال ۲۰۰۸ محتوای فنول، محتوای فلاونوئید و فعالیت کلات‌کنندگی آهن برخی از گیاهان دارویی ایران را بررسی کرده و نشان دادند که علی‌رغم وجود برخی روابط مستقیم و مثبت در بین سه فاکتور بررسی شده در تعدادی از گیاهان، عصاره حاصل از *Zea mays*، با محتوای فنول و فلاونوئید بالا، فعالیت کلات‌کنندگی بسیار ضعیفی را از خود نشان می‌دهد. اما عصاره *Pistacia lentiscus* با محتوای فنول و فلاونویید پایین، فعالیت کلات‌کنندگی خوبی دارد (۱۲). بنابراین به نظر می‌رسد که فعالیت کلات‌کنندگی عصاره‌های برگ، ساقه و بذر گیاه مذکور، الزاماً به محتوای پلی‌فنولی موجود در آنها وابسته نبوده و می‌تواند به ماهیت ترکیبات فنولی بستگی داشته باشد.

هیچ ضداکساینده خاصی نمی‌تواند به منظور مقابله با اکسیداسیون همه مکانیسمهای ضداکسایشی ممکن را نشان دهد. در واقع انواع واکنشهای مربوط به رادیکال آزاد که می‌توانند به وسیله یک ضداکساینده خنثی شوند در تعیین استفاده از ضداکساینده‌ها مهم است (۳۲). بسیاری از ترکیبات ضداکسایشی مصنوعی دارای اثرات سمی یا

سرطانی هستند که این امر موجب توجه به سمت ضداکسایندههای طبیعی شده است و ترکیبات فنولیک نیز (به عنوان عضوی از خانواده ضداکسایندههای طبیعی) مستقیماً در فعالیتهای ضداکسایشی شرکت میـنمایند (۱۱). در این مطالعه با توجه به امکانات موجود آزمایشگاهی، مشخص شد که عصارههای فنولی ساقه، برگ و بذر گیاه *A. procumbens L.* دارای فعالیت ضداکسایشی میباشند. عصاره بذر، فعالیت جمعآوری کنندگی خوبی را نسبت به رادیکالهای سوپراکسید، نیتریت و DPPH نشان داد. با توجه به این امر، امکان استفاده از ترکیبات مفید آن در کاهش سطوح استرسهای اکسیداتیو و آهسته کردن یا مهار بیماریها وجود دارد. البته به منظور استفاده از این عصارهها در ترکیبات غذایی، باید متانول را با حلالهای بیضرر جایگزین کرد. این امر مستلزم بررسی بیشتر بر روی روشهای استخراج، جداسازی و شناسایی ترکیبات ضداکسایشی موجود در آن است.

منابع

۱- قهرمان، ا.، ۱۳۷۳. کورموفیتهای ایران (سیستماتیک گیاهی). مرکز نشر دانشگاهی، تهران، جلد سوم، ۷٦۸ صفحه

۲- خاتم ساز، م.، ۱۳۸۱. فلور ایران، شماره ۳۹، تیره گلگاوزبان (Boraginaceae). مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع، تهران، ٥٠٤ صفحه

3- Aboul-Enein, AM., El Baz, Fk., El-Baroty, GS., Youssef, AM., Abd El-BakyHH, 2003. Antioxidant activity of algal extracts on lipid peroxidation. J. Med. Sci, 3:87-98.

4- Amarowicz, R., Estrella, I., Hernandez, T., and Troszynska, A., 2008. Antioxidant activity of adzuki bean and its fraction. J. Food Lipids. 15:119-136.

5- Assimopoulou, A.N., Boskou, D., Papageorgiou, V.P., 2003. Antioxidant activities of alkanin, shikonin and *Alkanna tinctoria* root extracts in oil substrates. J. Food Chem. 87:433-438.

6- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., Berset, C., 1995. Use of free radical method to evaluate the antioxidant activity. Lebensmittel Wissenshaft and Technologie, 28:25-30.

7- Burits, M., and Bucar, F., 2000. Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. Phytotheraphy Research, 14:323-328.

8- Cakir, A., Mavi, A., Kazaz, C., Yildirim, A., Kufrevio, Glu OI., 2006. Antioxidant activities of the extracts and compounds of *Teucrium orientale L. var. orientale*. Turk. J. Chem, 30:1-12.

9- Cuendet, M., Hostettmann, K., and Potterat, O., 1997. Iridoid glucosides with free radical scavenging properties from *Fagraea dlumei*. Helvetica chimica Acta, 80:1144-1152.

10- Decker, E. A., and Welch, B., 1990. Role of ferritin as a lipid oxidation catalyst in muscle food. J. Agr & Food Chem, 38:674-677.

11- Duh, PD., Tu, YY., Yen, Gc., 1999. Antioxidant activity of aqueous extract of harnjyur(*Chyrsanthemum morifolium Romat*). Ledensm wiss Technol, 32:269-277.

12- Ebrahimzadeh, M.A., Pourmorad, F., Bekhradnia, A.R., 2008. Iron chelating activity, phenol and flavonoid content of some medicinal plants from Iran. African J. Biotech, 7(18):3188-3192.

13- Garrat, DC., 1964. The quantitative analysis of drugs. Chapman and Hall Ltd, Japan, 3:456-458.

14- Guisin, L., Oktay, M., kirecci, E., and Kufrevioglu, O.L., 2003. Screening of antioxidants and antimicrobial activities of anise (*pimpinella anisum L.)* seed extracts. Food chem, 83:371-382.

15- Gulsin, L., Taasu, oguz M., Oktay, M., Beydemir, S., Kufrevioglu, O., 2004. Evaluation of the antioxidant and antimicrobial activities of Clary Sage (*Salvia Sclarea L.*). Turk J. Agric For, 28:25-33.

16- Horwitz, W., 1984. Official mathods of analysis of the association of official analytical chemists. Washington, D.C.:AOAC.

17- Huang, M.T., Ho, C.T., Tee, C.Y., 1992. In Phenolic Compounds in Food and Their Effects on Health ll. Antioxidants and Cancer Prevention. ACS:Washington, 402.

18- Jing, T.Y., and Zhao, X.Y., 1995. The improved pyrogallol method by using terminating agent for superoxide dismutase measurement. Progress Biochem & Biophy, 22:84-86.

19- Marcocci, L., Packer, L., Droy-Lefai, MT., Sekaki, A., Gardes-Albert, M., 1994. Antioxidant action of *Ginkgo biloba* extracts EGb 761. Methods Enzymol, 234:462-475.

20- Meir, S., kanner, J., Akiri, B., Hadas, SP., 1995. Determination and involvement of aqueous reducing compounds in oxidative defense systems of various senescing leaves. J. Agric Chem Food, 43:1813-1817.

21- Molyneux PH. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. Songklanakarin J. Sci. Technol. 26:211-219

22- Nicoli, M.C., Toniolo, R., Anese, M., 2004. Relationship between redox potential and chain-breaking activity of model systems and foods. Food Chem, 88:79-83.

23- Olukemi, OA., Olukemi IO., Oluwatoyin, SM., Austin, AO., Mansurat, LB., Olufunmilola, TI., 2005. Antioxidant activity of Nigerian dietary species. Electron. J. Environ. Agric. Food Chem, 4(6):1086-1093.

24- Ou, B., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J., Deemer, EK., Prior, RL., Huang, D., 2002. Novel fluorometric assay for hydroxyl radical prevention capacity using fluorescein as the probe. J. Agric. Food Chem, 50:2772-2777.

25- Oyaizu, M., 1986. Studies on products of browning reaction: antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine, Japanese J. of Nutrition, 44:307-315.

26- Pada Saha, B., Bandyopadhyay A, Mukherjee, PK., 2006. Cytisus Scoparius Link-A natural antioxidant. BMC Complementary and Alternative Medicine, 6:8.

27- Papageorgiou, VP., Assimopoulou, AN., Couladouros, EA., Hepworth, D., Nicolaou KC., 1999. The chemistry and biology of alkannin and shikonin and related naphthazarin natural products. Angew Chem Int Edn, 38:5000-5029.

28- Pfannhauser, W., Fenwick, G.R., Khokhar, S., 2001. Biologically active phytochemicals in food. Cambridge: Royal Society of Chemistry. pp:448-452.

29- Rose, WM., Creighton, MO., Stewart, DHPJ, Sanwal, M., Trevithick, GR., 1982. In vivo effects of vitamin E on cataractogenesis in diabetic rats. Can J. Ophtalmol, 17:61-66.

30- Ruch, R.J., Cheng, S.T., and Klauring, J.E., 1989. Prevention of cytotoxicity and inhibition of intercellular communication by antioxidant catechins isolated from chinese green tea. Carcinogenesis, 10:1003-1008.

31- Sanchez-Moreno, C., Cao, G., OU, B., Prior, RL., 2003. Anthocyanin and proanthocyanidin content in selected white and red wines. Oxygen radical absorbance capacity comparison with nontraditional wines obtained from highbush blueberry. J. Agric. Food Chem, 51:4889-4896.

32- Sang, S., Lapsley, K., Jeong, W.S., Lachence, P.A., Ho, C.T., and Rosen, R.T., 2002. Antioxidative phenolic compounds isolated from almond skins (*Prunus amygdalus Batsch*). J. of Agric and Food Chem, 50:2459-2463.

33- Sengul, M., Yildiz, H., Gungor, N., Cetin, B., Eser, Z., Ercisli, S., 2009. Total phenolic content, antioxidant and antimicrobial activities of some medicinal plants. Pak. J. Pharm. Sci. 22(1):102-106.

34- Shariff, ZU., 2001. Modern herbal therapy for common ailments. Nature Pharamcy Series Vol. 1, PP. 9-84. Spectrum Books Ltd., Ibadan, Nigeria in Association with Safari Books Ltd. UK.

35- Siriwardhana, S.S.K.W. and Shahidi, F., 2002. Antiradical activity of extracs of almond and its by-products. J. of American Oil Chem, 79(9):903-908.

36- Sundararajan, R., Ahamed HaJa, N., Venkatesan, K., Mukherjee, K., Padasaha, B., Bandyopadhyay, A., and Mukherjee, P.K., 2006. Cytisus scoparius a natural antioxidant, BMC Complementary and Alternative Medicine, 6:8-10.

37- Tsuda, T., Kato, Y., Osawa, T., 2000. Mechanism for the peroxynitrite scavenging activity by anthocyanins. Federation of European Biochemical Societies letters, 484:207-210.

38- Wang, B.J., Lien Y.H., and Yu, Z.R., 2004. Supercritical fluid extractive fractionation study of the antioxidant activities of propolis. Food chemy, 86:237-243.

39- Wu, X., Beecher, GR., Hoiden, JM., Haytowitz, DB., Gebhardt, SE., Prior, RL. 2004. Lipophilic and hydrophilic antioxidant capacities of common foods in the United States. J. Agric. Food Chem. 52:4026-4037.

The study of antioxidant and radical scavenging activities of leaves, stem and seeds of *Asperugo procumbens L.*

Movahedinejad H., Heidari R. and Jamei R.

Biology Dept., Faculty of Science, Urmia University, Urmia, I.R. of IRAN

Abstract

In this study, the antioxidant and antiradical activity of the methanolic extracts of leaves, stem and seeds of *Asperugo procumbens L.* (Boraginaceae) were investigated. Total phenolic content, reducing power, scavenging capacity for (DPPH, nitrit, hydrogen peroxide and superoxide) radicals, iron chelating activity and the rate of radical decay were evaluated in extracts. Extract of seeds, with the highest phenolic content, showed the highest reducing power and free radical scavenging capacities. Chain-breaking activity measurement allows the rate of the radical decay to be determined. No correlation was found between phenol content of the extracts and their chelating activity. Regarding to the results, it seems that the seeds of *A. procumbens L.* are good source of natural antioxidants and could be used to prevent free-radical-induced deleterious effects.

Keywords: *Asperugo procumbens L,* Antioxidant, Antiradical, Phenolic content, Seed