مقایسه میزان ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی و عملکرد آنتی اکسیدانی شش گیاه دارویی مختلف تحت شرایط عصاره گیری با حلال‌های مختلف

صبا صفری[1]، سیف‌الله بهرامی‌کیا[2*]، فرانک هادی[3]، حدیث اسدالهی[1]، شیما مستعد[1]، فاطمه زرینی[1]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد بیوشیمی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه لرستان، خرم آباد، لرستان، ایران

۲- دانشیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه لرستان، خرم آباد، لرستان، ایران

۳- استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه لرستان، خرم آباد، لرستان، ایران

یافته / دوره ۲۵ / شماره ۲ / تابستان ۱۴۰۲ / مسلسل ۹۶

چکیده

دریافت مقاله: ۱۴۰۱/۱/۱۴ پذیرش مقاله: ۱۴۰۱/۵/۱

مقدمه: در این تحقیق اثر حلال (آبی و هیدروالکلی) عصاره گیری بر محتوای ترکیبات فنولی، فلاونوییدی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی شش گیاه دارویی مختلف شامل بلوط ایرانی، آویشن شیرازی، بابونه آلمانی، مریم نخودی، نسترن زرد و زرشک کوهی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: برای سنجش میزان فنول و فلاونویید به ترتیب از معرف‌های فولین سیوکالتیو و کلرید آلومینیوم و برای اندازه‌گیری پتانسیل آنتی‌اکسیدانی از روش DPPH استفاده شد. میزان محتوی ترکیبات فنولی و فلاونوییدی به ترتیب به صورت میلی گرم معادل گالیک اسید و کاتچین به ازای هر گرم از وزن خشک گیاه محاسبه گردید. جهت تجزیه‌وتحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۴ استفاده شد.

یافته‌ها: با توجه به نتایج مطالعه، میزان فنول و فلاونویید در عصاره هیدروالکلی جفت بلوط، نسترن زرد، آویشن شیرازی، آرد بلوط، بابونه آلمانی و زرشک کوهی بیشتر از عصاره آبی بود و این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار بود($P<۰/۰۰۱$). بیشترین میزان فنول و فلاونویید به ترتیب مربوط به عصاره هیدروالکلی جفت بلوط با مقادیر ۳۱۰/۲±۲/۵ mg/g و ۱/۰ ± ۲۴۱/۲ mg/g و کمترین مقدار مربوط به عصاره آبی بابونه آلمانی (۵۳/۱±۱/۱ mg/g) و عصاره آبی آرد بلوط (۱/۵ ± ۲۳/۹ mg/g) بود. بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی (IC_{50}) مربوط به عصاره هیدروالکلی جفت بلوط (۳۹/۱±۴/۴ µg/ml) و کمترین مربوط به عصاره آبی بابونه آلمانی (۳۱۵/۳±۳/۳ µg/ml) بود.

بحث و نتیجه‌گیری: نتایج تحقیق حاضر نشان داد که نوع حلال استفاده‌شده برای عصاره‌گیری گیاهان تاثیر زیادی بر جداسازی ترکیبات فنول و فلاونویید، مقدار و هم‌چنین فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنها دارد.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان، حلال، عصاره گیری، فنول، فلاونوئید، مواد موثره.

*آدرس مکاتبه: خرم آباد، دانشگاه لرستان، دانشکده علوم پایه، گروه زیست‌شناسی.

پست الکترونیک: bahramikia.s@lu.ac.ir

مقدمه

گونه‌های فعال اکسیژن دار، اتم‌ها یا مولکول‌هایی هستند که باعث آسیب اکسیداتیو به ماکرومولکول‌های سلول و بافت جانداران همانند پروتئین‌ها، لیپیدها، کربوهیدرات‌ها و DNA می‌شوند (۱). افزایش اکسیدان‌ها در بدن منجر به ابتلاء به بیماری‌هایی مانند اختلال در سیستم اعصاب، پیری، سرطان، بیماری‌های قلبی عروقی، نقص سیستم ایمنی، عملکرد غیرطبیعی مغز، کاتاراکت و دیابت می‌شود (۲-۵). مجاورت ارگانیسم‌های زنده در مقابل رادیکال‌های آزاد منجر به توسعه مکانیسم‌های دفاعی در برابر آنها شده است (۶). آنتی‌اکسیدان‌ها، به عنوان یک قسمت مهم از این سیستم‌های دفاعی، مولکول‌های طبیعی هستند که با دو سیستم دفاع آنزیمی و غیرآنزیمی قادر به مهار و توقف تولید و جمع آوری رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن هستند (۱).

افزایش روزافزون در مصرف گیاهان دارویی و ترکیبات مؤثره جداشده از آن در جوامع جهانی توسط فاکتورهای زیادی تحت تاثیر قرار می‌گیرد. مهمترین فاکتور در این زمینه تأثیر قابل‌ملاحظه ترکیبات مؤثره گیاهی و میزان اندک اثرات جانبی آن است. از طرفی، در طی دو دهه گذشته، علاقه بسیاری در جهت یافتن آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی از مواد و عصاره‌های گیاهی برای جایگزینی آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی ایجاد شده است (۷). طی سال‌های اخیر فرآورده‌های گیاهی (متابولیت‌های ثانویه) به دلیل دسترسی آسان، کاربرد راحت و اثرات جانبی کمتر در مقایسه با فرآورده‌های شیمیایی برای درمان اکثر بیماری‌های انسان و حیوانات مورد استفاده قرار می‌گیرند (۸). اطلاعات جمع‌آوری‌شده چه از مقالات علمی و چه از مطالعات آزمایشگاهی نشان داده است که گیاهان حاوی مقادیر زیاد و متنوعی از آنتی اکسیدان‌ها هستند (۹، ۱۰). مواد آنتی‌اکسیدان در گیاهان شامل ترکیبات اسیدها سینامیک، کومارین‌ها، دی ترپن‌ها و فلاونوئیدها هستند (۷، ۱۱). از آنجایی‌که جداسازی مواد موثره گیاه تحت تاثیر عوامل مختلفی از جمله نوع گیاه، شرایط رویش، نوع حلال، روش استخراج، مرحله رشدی گیاه و غیره قرار می‌گیرد لذا انتخاب شرایط بهینه برای به جداسازی بیشترین ترکیبات موثره از اهمیت خاصی برخوردار است. امروزه جهت استخراج مواد موثره گیاهی از حلال‌های متفاوتی استفاده می‌شود که هر کدام دارای مزایا و معایب خاص خود هستند. با توجه به اهمیت ترکیبات فنولی و فلاونوئید وخواص آنتی‌اکسیدانی گیاهان، مطالعه حاضر با هدف بررسی تاثیر حلال بر استخراج ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی و قدرت آنتی‌اکسیدانی در شش گیاه دارویی انجام شد.

Quercus brantii معروف به بلوط ایرانی یا بلوط زاگرس یکی از مهم‌ترین گونه‌های ایران و زاگرس است. درختی بزرگ به ارتفاع ۲۰ متر است، دارای تاج کروی بزرگ با برگ های‌تخم مرغی شکل با حاشیه‌ای دندانه‌دار است. میوه درخت بلوط کشیده و بیضی مانند است و در یک کاسه مخروطی شکل قرار گرفته است. *Q. brantii* حاوی ترکیبات بیولوژیکی فعال با فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی است (۱۲). در طب سنتی، پوسته میوه بلوط ایرانی (جَفت) به عنوان یک داروی ضد اسهال مورد استفاده قرار می‌گیرد. عصاره جَفت دارای اثر ضد باکتری و بهبود زخم است. علاوه‌براین، ترکیبات فنولی و فلاونوییدی موجود در قسمت‌های مختلف درخت بلوط، دارای اثرات مفید و موثر بر کاهش علائم مربوط به اختلالات عصبی، آلزایمر و دیابت است (۱۳، ۱۴).

آویشن شیرازی با نام علمی *Zataria multifolia* از خانواده نعناییان است. کارواکرول و تیمیول از عمده‌ترین ترکیب‌های انواع گونه‌های آویشن هستند که اکثر خواص دارویی این گیاه به این دو ترکیب برمی‌گردد که دارای خواص آنتی‌اکسیدانی هستند (۱۵). بابونه آلمانی با نام

علمی *Matricaria chamomilla* گیاهی از تیره کاسنی است و عصاره آن حاوی ترکیبات فلاونوئیدی و آنتی‌اکسیدان‌هایی نظیر اسیدگالیک، کامازلن، فارنزن، ماتریسین، مشتقات کومارین، اپی ژنین و کولین می‌باشد که دارای خاصیت ضد التهابی است (۱۶). علاوه‌براین، خواص دارویی متعددی از جمله آرامش‌بخش، ضد اسپاسم، تقویت کننده سیستم دفاعی بدن برای آن ذکر گردیده است (۱۷).

گیاه مریم نخودی با نام علمی *Teucrium Polium* از تیره نعنائیان که به نام‌های محلی هلپه، مریم نخود، آپوره خوانده می‌شود، گیاهی است علفی و پایا به ارتفاع ۱۰ تا ۳۵ سانتی متر و دارای ظاهری سفید پنبه‌ای که معمولاً در نواحی بایر سواحل سنگلاخی و ماسه ای نواحی مختلف اروپا، منطقه مدیترانه، شمال آفریقال و جنوب غربی آسیا منجمله ایران می‌روید. مهم‌ترین بخش مورد استفاده این گیاه در صنایع دارویی سرشاخه‌های گلدار آن است که متناسب با محیط کشت در ماه‌های خرداد تا مرداد جمع‌آوری می شود.

بیشترین ترکیباتی که تا کنون از گیاه خالص سازی و جداسازی شده‌اند ترپن‌ها، ترپنوئیدها و فلاونوئیدها هستند. مطالعات مختلفی روی اثرات دارویی عصاره‌های مختلف این گیاه و ترکیبات موثره جدا شده از این گیاه صورت گرفته است که از جمله آنها می‌توان به اثرات ضد التهابی، ضد اسپاسم، سیتوتوکسیک، افزایش دهنده حافظه، ضد انعقاد، ضد دیابتی، ضد تب، ضد باکتری، ضد ویروس و ضد توموری اشاره نمود (۱۸، ۱۹). گیاه نسترن زرد با نام علمی *Rosa foetida Herrm* از گونه‌های متعلق به تیره‌های Rosaceae است (۲۰).

میوه این گیاه طبیعتی گرم و خشک دارد و غنی از انواع ویتامین‌ها، مواد معدنی و سایر مواد غذایی است و در طب سنتی در درمان بیماری‌هایی نظیر آسیب‌های کلیه استفاده می‌شود. گیاه زرشک با نام علمی *Berberis integerrima* در دسته گیاهان گلدار، نهاندانه، دولپه و جداگلبرگ قرار دارد و از راسته آلاله (Ranals) و تیره زرشکیان (Berberidacea) است. این گیاه، به عنوان یک داروی گیاهی موثر در اختلال عملکرد کبد در نظر گرفته می‌شود (۲۱، ۲۲). ترکیبات مختلفی از جمله آلکالوئیدها، ترکیبات موثره و فنلی برای این گیاه گزارش شده است. علاوه‌براین، ترکیبات دیگری مانند بربامین، بربروئین، پالماتین، اکسی کانتین، اسید مالیک، اسید اسکوربیک، اسید کافئیک، اسید اورسولیک، کومارین، بتاکاروتن و تانن از این گیاه شناسایی شده‌اند که در مصارف پزشکی و غذایی استفاده می‌شوند (۲۱).

با توجه به اثرات دارویی قراوان گیاهان ذکر شده و حضور ترکیبات موثره فراوان در آنها، استخراج ترکیبات موثره گیاه با بهترین حلال مورد استفاده برای عصاره گیری بسیار ضروری به نظر می‌رسد. در اکثر مطالعات انجام شده روی این گیاهان از حلال‌های آلی و آبی متفاوتی برای استخراج استفاده شده است (۱۶، ۱۷). خصوصیت بیولوژیکی مشترکی که در همه این گیاهان مورد بررسی قرار گرفته بود بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی این گیاهان در شرایط *in vitro* است. از طرفی، این گونه‌های گیاهی پرمصرف‌ترین گیاهان دارویی در لرستان هستند که به صورت سنتی برای درمان بیماری‌های مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرند. لذا، هدف این مطالعه، مقایسه اثر حلال بر استخراج مواد موثره (ترکیبات فنولی و فلاونوییدی) با بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و مقایسه این پارامترها برای این گیاهان بود.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری و تهیه گیاهان

آرد و جفت بلوط از گیاه بلوط (LUKH06061400Q5) از منطقه نورآباد لرستان (میربگ) در فصل پاییز ۱۴۰۰ ، شاخه‌های گلدار گیاه مریم نخودی (LUKH02021400T5) از کوه‌های

شهرستان کوهدشت لرستان در فصل بهار ۱۴۰۰، میوه زرشک سیاه (LUKH05051400B4) از کوه‌های گرین شهرستان الشتر لرستان در فصل بهار ۱۴۰۰، برگ‌های نسترن زرد (LUKH03031400R4) از منطقه اندیمشک خوزستان در فصل بهار ۱۴۰۰ جمع‌آوری گردید. آویشن شیرازی و بابونه آلمانی از جهاد دانشگاهی دانشگاه اصفهان خریداری گردید. شناسایی گیاهان توسط گیاه شناس متخصص همکار تایید شد و نمونه‌هایی از گیاهان در هرباریوم گروه زیست‌شناسی دانشگاه لرستان نگهداری شدند. کلیه اصول اخلاقی بر اساس دستور العمل جهانی کار با حیوانات آزمایشگاهی پس از تایید کمیته اخلاق دانشگاه لرستان با کد اخلاق LU.ECRA.2022.85 انجام گرفت.

تهیه عصاره‌های آبی و هیدروالکلی

نمونه‌ها پس از جمع آوری در دمای اتاق و سایه خشک و با آسیاب برقی پودر شدند. جهت عصاره‌گیری، مقدار ۱۰ گرم از پودر هرکدام از گیاهان (جدول ۱) در۱۰۰ سی‌سی (آب مقطر) و۱۰۰ سی‌سی (اتانول ۸۰٪) به‌صورت جداگانه خیسانده و به مدت ۷۲ ساعت در دمای اتاق نگهداری شد. پس از طی شدن زمان مورد نظر نمونه‌ها صاف شدند، سپس توسط دستگاه روتاری تغلیظ و پس از خشک شدن توسط آون درون پتری دیش‌هایی در دمای ۴درجه سانتی‌گراد جهت انجام آزمایش‌ها نگهداری شدند.

اندازه‌گیری میزان فنول تام

برای اندازه‌گیری میزان فنول، به ۲۵ میکرولیتر از هرکدام از عصاره‌های آبی و هیدروالکلی، ۱۰۰ میکرولیتر سدیم کربنات (۷/۵٪) و ۱۰۰ میکرولیتر معرف فولین سیوکالتیواضافه شد. بعد از گذشت نیم ساعت جذب آنها در طول موج ۷۲۰ نانومتر نسبت به شاهد ثبت گردید. اسیدگالیک به عنوان استاندارد برای رسم منحنی استاندارد به‌کار رفت. محتوای فنول کل عصاره‌ها بر اساس میلی گرم معادل اسید گالیک بر گرم وزن خشک گیاه گزارش شد (۲۳).

اندازه‌گیری میزان فلاونوئید

برای سنجش میزان فلاونوئید، به ۲۵ میکرولیتر از هرکدام از عصاره‌ها، ۱۰۰ میکرولیتر آب مقطر، ۷/۵ میکرولیتر $NaNO_2$ (۱۵٪)، ۷/۵ میکرولیتر $AlCl_3$ (۱۰٪) و ۱۰۰ میکرولیتر NaOH (۴٪) اضافه و به حجم ۲۵۰ میکرولیتر رسید. جذب نمونه ها بعد از گذشت ۹۰ دقیقه در طول موج ۴۱۵ اندازه‌گیری شد. برای رسم منحنی از کاتچین به عنوان استاندارد استفاده شد. میزان فلاونوئید کل عصاره‌ها بر اساس میلی‌گرم معادل کاتچین بر گرم وزن خشک گیاه گزارش شد (۲۳).

بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی با آزمون ۲ و ۲ دی فنیل - ۱ -پیکریل هیدرازیل(DPPH)

دی فنیل پیکریل هیدرازیل از رادیکال‌های آزاد پایدار است. در این روش توانایی دادن اتم هیدروژن یا الکترون توسط عصاره‌های موجود، از روی میزان تغییر رنگ محلول ارغوانی به محلول زرد رنگ سنجیده می‌شود. ۵۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف (۲۵ ،۵۰ ،۱۰۰ ،۲۰۰ µg/mL) عصاره‌های هیدروالکلی و آبی به ۲۴۵ میکرولیتر DPPH (۰/۲ میلی مولار) اضافه شد و در دمای اتاق به مدت نیم ساعت قرار داده و در نهایت جذب نوری با طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد. جهت کنترل مثبت (شاهد) از اسکوربیک اسید استفاده شد.

درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH با استفاده از فرمول:

$$\text{Inhibition of free radicals}(\%):[(A_0-A_1/A_0)]100$$

در این فرمول A_0 جذب DPPH ، A_1 جذب نمونه‌ها در حضور DPPH است. نتایج با آسکوربیک اسید به عنوان کنترل مقایسه شد. توانایی نمونه در کنترل کردن ۵۰٪ از رادیکال‌های آزاد به عنوان IC_{50} تعریف شد که بیانگر غلظتی از عصاره است که قادر به کاهش غلظت

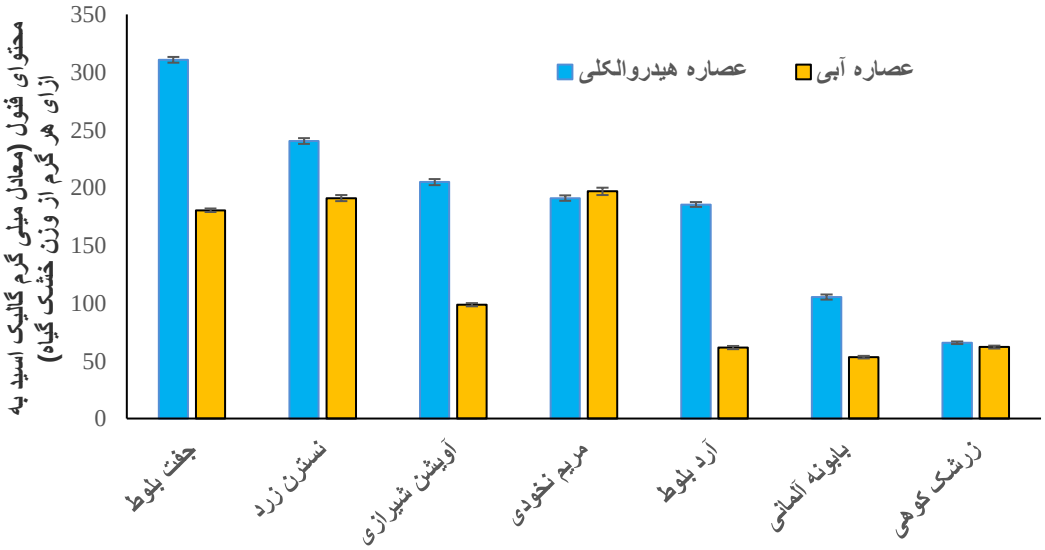
رادیکال آزاد DPPH به میزان ۵۰ ٪مقدار اولیه است و هر چه مقدار آن کمتر باشد نشان‌دهنده‌ی میزان فعالیت بیشتر آنتی‌اکسیدانی است (۲۴).

تجزیه و تحلیل داده‌ها

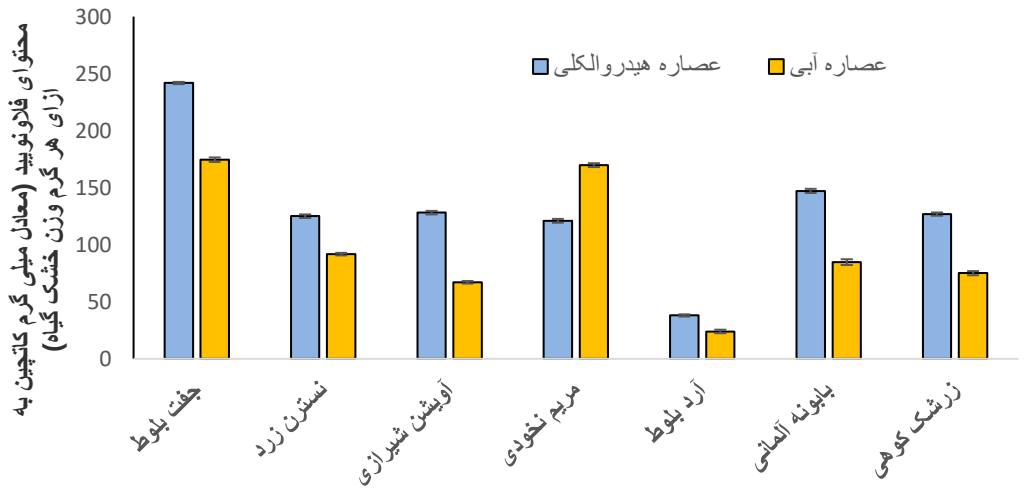
آزمایشات به صورت سه بار تکرار در آزمایشگاه تحقیقاتی زیست شناسی دانشگاه لرستان در سال ۱۴۰۰ انجام شد. نتایج ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۴و مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون t مستقل در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

یافته ها

مطابق یافته‌های پژوهش، تفاوت معنی‌داری بین میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی عصاره‌های آبی و هیدروالکلی گیاهان وجود داشت ($P < ۰/۰۰۱$). بیشترین میزان فنول در عصاره هیدروالکلی مربوط به جفت بلوط منطقه لرستان (۳۱۰/۲±۲/۵ mg/g) و سپس نسترن زرد (۲/۳ mg/g ± ۲۴۰/۴) بود (شکل ۱ و جدول ۱). بیشترین میزان فلاونوئید در عصاره هیدروالکلی مربوط به جفت بلوط (۱/۰ mg/g ± ۲۴۱/۲) و سپس بابونه آلمانی (mg/g ۱/۹ ± ۱۴۷/۲) بود (شکل ۲ و جدول ۱).



شکل ۱. میانگین محتوای فنولی عصاره آبی و هیدروالکلی گیاهان مورد استفاده (میله خطا نشان‌دهنده انحراف معیار است)



شکل ۲. میانگین محتوای فلاونویید عصاره آبی و هیدروالکلی گیاهان مورد استفاده (میله خطا نشان‌دهنده انحراف معیار است)

جدول ۱. ارزیابی و مقایسه میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی عصاره آبی و هیدروالکلی گیاهان مورد استفاده

نام گیاه	فنول			فلاونوئید		
	عصاره آبی انحراف-معیار±میانگین	عصاره هیدروالکلی انحراف-معیار±میانگین	P-مقدار	عصاره آبی انحراف-معیار±میانگین	عصاره هیدروالکلی انحراف-معیار±میانگین	P-مقدار
جفت بلوط *Quercus brantii* fruit-hull	۱۸۰/۴ ± ۱/۵	۳۱۰/۲ ± ۲/۵	< ۰/۰۰۱	۱۷۴/۵ ± ۲/۱	۲۴۱/۲ ± ۱/۰	**< ۰/۰۰۱**
نسترن زرد *Rosa foetida Herrm*	۱۹۰/۹±۲/۶	۲۴۰/۴ ± ۲/۳	< ۰/۰۰۱	۹۱/۹ ± ۱/۱	۱۲۵/۱ ± ۱/۷	**< ۰/۰۰۱**
آویشن شیرازی *Zataria multiflora*	۹۸/۶ ± ۱/۴	۲۰۴/۸ ± ۲/۷	< ۰/۰۰۱	۶۷/۱ ± ۱/۱	۱۲۸/۱ ± ۱/۵	**< ۰/۰۰۱**
مریم نخودی *Teucrium Polium*	۱۹۶/۳ ± ۳/۲	۱۹۰/۹ ± ۲/۳	< ۰/۰۰۱	۱۶۹/۱ ± ۲/۱	۱۲۱/۱ ± ۲/۶	**< ۰/۰۰۱**
آرد بلوط *Quercus brantii acorn*	۶۱/۵ ± ۱/۵	۱۸۵/۴ ± ۲/۱	< ۰/۰۰۱	۲۳/۹ ± ۱/۵	۳۸/۱ ± ۱/۱	**< ۰/۰۰۱**
بابونه آلمانی *Matricaria chamomilla*	۵۳/۱ ± ۱/۱	۱۰۵/۳ ± ۲/۳	< ۰/۰۰۱	۸۴/۸ ± ۱/۶	۱۴۷/۲ ± ۱/۹	**< ۰/۰۰۱**
زرشک کوهی *Berberis integerrima*	۶۱/۱±۱/۲	۶۵/۱±۱/۱	۰/۰۲۱	۷۵/۱±۱/۳	۱۲۶/۱±۱/۸	**< ۰/۰۰۱**

جدول ۲. مقایسه فعالیت آنتی‌اکسیدانی (IC50) عصاره‌های آبی و هیدروالکلی استخراج شده از گیاهان مختلف با استفاده از تست DPPH

نام گیاه	(µg/ml) عصاره آبی انحراف‌معیار±میانگین	(µg/ml) عصاره هیدروالکلی انحراف‌معیار±میانگین	P-مقدار
آرد بلوط *Quercus brantii acorn*	۱۸۳/۲±۳/۳	۱۵۰/۱±۲/۳	**< ۰/۰۰۱**
جفت بلوط *Quercus brantii fruit-hull*	۸۳/۱±۶/۳	۳۹/۱±۴/۴	**< ۰/۰۰۱**
بابونه آلمانی *Matricaria chamomilla*	۳۱۵/۳±۳/۳	۱۳۵/۱±۶/۷	**< ۰/۰۰۱**
آویشن شیرازی *Zataria multiflora*	۱۵۲/۲±۵/۴	۱۱۶/۱±۱/۹	**< ۰/۰۰۱**
مریم نخودی *Teucrium Polium*	۸۶/۱±۰/۶	۱۲۲/۱±۳/۳	**< ۰/۰۰۱**
نسترن زرد *Rosa foetida Herrm*	۸۵/۱±۳/۴	۸۴/۱±۳/۵	**۰/۰۵۲**
زرشک کوهی *Berberis integerrima*	۲۵۴/۲±۹/۵	۲۰۸/۲±۸/۳	**< ۰/۰۰۱**

میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در عصاره هیدروالکلی گیاهان آرد بلوط، جفت بلوط، بابونه آلمانی، آویشن شیرازی و زرشک کوهی بالاتر از عصاره آبی بود و این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار بود (P <۰/۰۰۱). فعالیت آنتی‌اکسیدانی در عصاره آبی و هیدروالکلی نسترن زرد از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری را نشان نداد (P=۰/۰۵۲). بیشترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی (کمترین IC_{50}) بر اساس آزمون DPPH در عصاره آبی مربوط به جفت بلوط

لرستان (۸۳/۱±۶/۴ µg/ml)، نسترن زرد (۸۵/۱±۳/۵ µg/ml) و مریم نخودی (۸۶/۱±۰/۶µg/ml) و در عصاره هیدروالکلی بیشترین خاصیت آنتی‌اکسیدان مربوط به جفت بلوط لرستان (۳۹/۱±۴/۴ µg/ml) و سپس نسترن زرد (۸۴/۱±۳/۴ µg/ml) بود (جدول ۲).

بحث و نتیجه گیری

درک مکانیسم عمل ترکیبات مؤثره گیاهی کمک شایانی به استفاده مؤثرتر همراه با ریسک‌پذیری کمتر این ترکیبات در بیماری‌های مختلف می‌کند. برای فهم بهتر مکانیسم عمل گیاهان، نیاز به خالص سازی و جداسازی این ترکیبات است. اولین پارامتر مهم در خالص سازی ترکیبات موثره، استفاده از حلال‌های مناسب برای عصاره گیری ترکیبات است (۷). در مطالعه حاضر به بررسی میزان ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی و آنتی اکسیدانی شش گیاه دارویی مختلف که اثرات دارویی متعدد آنها قبلا مورد مطالعه قرار گرفته بود پرداخته شد.

همانطورکه در بخش مقدمه اشاره شد این گیاهان دارای طیف وسیعی از ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی می‌باشند (۱۲-۱۶، ۱۸، ۲۱). علاوه بر این، فعالیت بیولوژیک مشترکی که در اکثر این مطالعات مورد بررسی قرار گرفته بود بررسی ویژگی آنتی‌اکسیدانی این گیاهان بود. یکی از دلایل تفاوت در محتوای ترکیبات فنولی و فلاونوییدی و هم‌چنین اثرات آنتی‌اکسیدانی این گیاهان، انتخاب حلال مورد استفاده برای استخراج و عصاره‌گیری آنها بود. بیشترین حلال‌های مورد استفاده در این مطالعات استفاده از آب و اتانول و یا ترکیب این دو حلال بود. لذا در این مطالعه تصمیم گرفته‌شد که تاثیر نوع حلال استفاده‌شده برای عصاره‌گیری گیاهان روی مقدار ترکیبات فنول و فلاونوییدی و هم چنین ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی این گیاهان مورد مطالعه قرار گیرد.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که حلال‌ها تاثیر متفاوتی بر استخراج ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی و درصد مهار رادیکال‌های آزاد دارند به طوری که بالاترین مقدار ترکیبات فنول و فلاونوئید و بیشترین درصد مهار رادیکال‌های آزاد مربوط به عصاره هیدروالکی جفت بلوط است. نتایج ما در راستای مطالعات Ghaderi و همکارانش (۲۵) بود که نشان دادند میزان ترکیبات فنولی در عصاره اتانولی بلوط بیشتر از عصاره آبی است و مقدار ترکیبات فنولی کل آن تقریبا ۱/۷ برابر بیشتر از عصاره آبی بود. یافته‌های Feizi و همکارانش (۲۶) نشان داد که بالاترین میزان فنول و مهار رادیکال آزاد را عصاره آبی جفت بلوط داشت که نتایج این مطالعه همسو با نتایج مطالعه حاضر نیست. بالابودن مقدار ترکیبات فنولی در عصاره آبی جفت میوه بلوط احتمالا به خاطر تاننی است که در این عصاره‌ها و گیاه وجود دارد.

در یک مطالعه دیگر Rezaei و Mohammad (۲۷) نشان دادند که میزان ترکیبات فنولی و درصد مهار آنتی‌اکسیدانی عصاره جفت بلوط در حلال آب: اتانول بیشتر از حلال آبی بود که نتایج این مطالعه نیز همسو با مطالعه حاضر است. Faramarzian و Bahramikia (۲۸)، میزان ترکیبات فنول و فلاونویید را در عصاره هیدروالکلی جفت بلوط را به ترتیب برابر با ۴۵۴ و ۲۷۱ میلی گرم در گرم معادل گالیک اسید و کاتچین به دست آوردند که با مطالعات فعلی ما کاملا هم خوانی داشت. در مطالعه Chaleshtori و همکارانش (۲۹) روی محتوی فنول و فلاونوئید کل عصاره آویشن شیرازی، مقدار فنول ۲۸۳/۴۳ میلی‌گرم در گرم معادل اسید گالیک و محتوی فلاونوئید ۱۳۱/۲۳ میلی‌گرم در گرم روتین به دست آمد و میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی نیز برابر ۷۱ درصد بود.

فاطمی و همکاران در مطالعه‌ای دیگر، میزان فلاونوئید عصاره هیدروالکلی آویشن شیرازی را برابر ۳۲ میلی‌گرم در گرم و خاصیت جمع کنندگی رادیکال‌های آزاد آن را ۷۱ درصد گزارش کردند (۳۰). این مطالعات

اختلافاتی را با مطالعه حاضر نشان می‌دهد که می‌تواند متاثر از فاکتورهایی همچون موقعیت جغرافیایی، دما، مرحله رشد گیاه، زمان برداشت گیاه، فاکتور زمین و به طور کلی فاکتورهای محیطی و فاکتورهای ژنتیکی گیاه باشد (۳۱). مطالعه Ranjbar و همکارانش (۳۲) نشان داد که عصاره هیدرو الکلی شاخ و برگ و گل بابونه آلمانی در مقایسه با عصاره متانولی و اتانولی بیشترین قدرت آنتی‌اکسیدانی را داشت. مطالعه Noroozi و همکاران (۳۳) نشان داد که میزان آنتی‌اکسیدان و ترکیبات فنولی عصاره آبی نسترن زرد نسبت به عصاره متانولی میزان بالاتری است، این درحالی است که میزان فنول در عصاره آبی نسترن زرد نسبت به عصاره هیدروالکلی پایین تر بود.

Yasa و همکارانش (۳۴) ترکیبات شیمیایی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره گل محمدی منطقه گیلان را مورد بررسی قرار دادند. نتایج این مطالعه نیز بیانگر بالا بودن ترکیبات فنولی عصاره آبی بود. در یک مطالعه که با هدف بررسی محتوای ترکیبات فنول، فلاونوئید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره آبی و الکلی میوه نسترن وحشی (*Rosa canina L*) شمال ایران با سه حلال متانول ۸۰٪، اتانول ۵۰٪ و آب انجام گرفت مشخص شد که عصاره اتانولی گیاه از میزان ترکیبات فنول، فلاونوئید و آنتی‌اکسیدانی بالاتری نسبت به عصاره آبی و اتانولی برخوردار است (۳۵).

امرایی و همکاران (۳۶)، در مطالعه‌ای که بر روی فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه مریم نخودی انجام دادند میزان IC_{50} برای مهار رادیکال‌های DPPH را ۳/۶۷ میکروگرم بر میلی لیتر را به دست آوردند که نسبت به IC_{50} به دست آمده از عصاره آبی و هیدروالکی در مطالعه حاضر بسیار پایین تر میباشد که نشان دهنده قدرت آنتی‌اکسیدانی بالای این گیاه است. در مطالعه‌ای دیگر به وسیله Fazeli و همکارنش (۳۷)، اثر حلال روی میزان ترکیبات فنول و فلاونوئید تعدادی از گیاهان دارویی منطقه ایلام مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که میزان ترکیبات فنول و فلاونویید در عصاره هیدروالکلی نسبت به عصاره آبی بالاتر بود که نتایج ما را تایید می‌کند. در مطالعه‌ای دیگر که توسط Hassanpour و Alizadeh (۳۸) روی میزان ترکیبات فنول و فعالیت آنتی‌اکسیدانی گونه‌های مختلف زرشک انجام گرفت میزان ترکیبات فنول را در بین گونه‌ها بین ۶۸ تا ۲۶۱ میلی‌گرم به ازای هر گرم از اسید گالیک گزارش دادند که با نتایج ما مطابقت داشت. از طرفی مطالعه آنها نشان داد که با افزایش ترکیبات فنول تام خاصیت آنتی‌اکسیدانی نیز بیشتر می‌شود.

استان لرستان به علت وضعیت توپوگرافی ویژه منطقه زاگرس و برخورداری از اقلیم آب و هوایی مدیترانه‌ای، پوشش گیاهی خاصی دارد که بسیاری از این گیاهان دارای خواص دارویی و درمانی هستند لذا شناخت ترکیبات موثره موجود در این گیاهان و بررسی اثرات دارویی این ترکیبات به جهت درک مکانیسم عمل بهتر این ترکیبات، از اهمیت خاصی برخوردار است. یکی از پارامترهای اساسی در جداسازی ترکیبات موثره گیاه انتخاب نوع حلال برای جداسازی این ترکیبات می‌باشد. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که نوع حلال استفاده‌شده برای عصاره‌گیری گیاهان تاثیر زیادی بر جداسازی ترکیبات فنول و فلاونویید، مقدار آنها و هم چنین فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنها دارد. هم چنین نتایج نشان داد که جداسازی ترکیبات فنول و فلاونویدی گیاه به نوع گیاه نیز وابسته است. بیشترین میزان فنول مربوط به عصاره هیدروالکلی جفت بلوط و کمترین مقدار مربوط به عصاره آبی بابونه بود. بیشترین میزان فلاونوئید نیز در عصاره هیدروالکی جفت بلوط و کمترین در عصاره آبی آرد بلوط بود. بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به عصاره جفت بلوط و کمترین مربوط به عصاره آبی بابونه آلمانی بود. این نتایج نشان داد که عصاره هیدروالکلی نسبت به

عصاره آبی توانایی بهتری را در جداسازی ترکیبات فنول و فلاونوییدی و هم چنین اثرات آنتی‌اکسیدانی دارد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتر در عصاره هیدروالکلی این گیاهان نسبت به عصاره آبی به وجود ترکیبات فنولی و فلاونوییدی بیشتر این عصاره‌ها بر می‌گردد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از کلیه کسانی که ما را در این پژوهش یاری نمودند، تقدیر و تشکر می‌گردد.

References

1. Finkel T, Holbrook NJ. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. Nature. 2000 Nov; 408(6809):239-47.
2. Chrissobolis S, Miller AA, Drummond GR, Kemp-Harper BK, Sobey CG. Oxidative stress and endothelial dysfunction in cerebrovascular disease. Front Biosci. 2011 Jan; 16(5):1733-45.
3. Reuter S, Gupta SC, Chaturvedi MM, Aggarwal BB. Oxidative stress, inflammation, and cancer: how are they linked? Free Radic Biol Med. 2010 Dec; 49(11):1603-16.
4. Dhalla NS, Temsah RM, Netticadan T. Role of oxidative stress in cardiovascular diseases. J Hypertens. 2000 Jun;18(6):655-73.
5. Sultana R, Butterfield DA. Role of oxidative stress in the progression of Alzheimer's disease. J Alzheimers Dis. 2010 Jan;19(1):341-53.
6. Drikvandi P, Bahramikia S, Alirezaei M. Modulation of the antioxidant defense system in liver, kidney, and pancreas tissues of alloxan-induced diabetic rats by camphor. J Food Biochem. 2020 Dec; 44(12):e13527.
7. Mohammadinia Samakoush A, Moradi H, Esmailzadeh M, Davatgar F. Evaluation of antioxidant activity, phenol content and flavonoid extract of Artemisia annua L. Under the influence of different drying methods. EJMP. 2022 Mar;9(4):115-32.
8. Fazeli-Nasab B, Rahnama M, Mazarei A. Correlation between antioxidant activity and antibacterial activity of nine medicinal plant extracts. J Mazandaran Univ Med Sci. 2017; 27(149):63-78.
9. Sottero B, Leonarduzzi G, Testa G, Gargiulo S, Poli G, Biasi F. Lipid oxidation derived aldehydes and oxysterols between health and disease. Eur J Lipid Sci Technol. 2019 Jan; 121(1):1700047.
10. Eskandari N, Bahramikia S, Mohammadi A, Taati M, Jafarabad SS. Geraniol ameliorated serum lipid profile and improved antioxidant defense system in pancreas, liver and heart tissues of alloxan-induced diabetic rats. Biologia. 2022 Jan; 1:1-8.
11. Pandey KB, Rizvi SI. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. Oxid Med Cell Longev. 2009 Nov; 2:270-8.
12. Faramarzian M, Bahramikia S. The effects of Quercus brantii acorn extract on hen egg-white lysozyme amyloid formation and disassemble amyloid aggregates. J Food Process Preserv. 2020 Jul; 44(7):e14499.
13. Azizi S, Pirbalouti AG, Amirmohammadi M. Effect of hydro-alcoholic extract of Persian oak (Quercus brantii) in experimentally gastric ulcer. IJPR. 2014; 13(3):967.
14. Custódio L, Patarra J, Albericio F, da Rosa Neng N, Nogueira JM, et al. Phenolic composition, antioxidant potential and in vitro inhibitory activity of leaves and acorns of Quercus suber on key enzymes relevant for hyperglycemia and

Alzheimer's disease. Ind Crops Prod. 2015 Feb; 64:45-51.
15. Motevasel M, Okhovat MA, Zomorodian K, Farshad S. Antibacterial effect of Zataria multiflora Extract on MRSA. ISMJ. 2014 Nov; 17(5):900-6.
16. El Mihyaoui A, Esteves da Silva JC, Charfi S, Candela Castillo ME, Lamarti A, Arnao MB. Chamomile (Matricaria chamomilla L.): a review of ethnomedicinal use, phytochemistry and pharmacological uses. Life. 2022 Mar; 12(4):479.
17. Rabiei Z, Rafieian M. A review on the pharmacological effects of Matricaria chamomilla. IJPP. 2018 Dec; 2(4):248-0.
18. Bahramikia S, Gavyar PH, Yazdanparast R. Teucrium polium L: An updated review of phytochemicals and biological activities. AJP. 2022 May; 12(3):224.
19. Mahmoodi R, Kazeminia M, Kabodari A. Review on composition and antimicrobial effects of Teucrium (Teucrium polium L.) grown in Iran and comparison with the around the world. JBUMS. 2017 Feb; 19(2):54-64.
20. Ercisli S. Chemical composition of fruits in some rose (Rosa spp.) species. Food chem. 2007 Jan; 104(4):1379-84.
21. Afsharinasab M, Mohammad-Sadeghipour M, Hajizadeh MR, Khoshdel A, Mirzaiey V, Mahmoodi M. The effect of hydroalcoholic Berberis integerrima fruits extract on the lipid profile, antioxidant parameters and liver and kidney function tests in patients with nonalcoholic fatty liver disease. Saudi J Biol Sci. 2020 Aug; 27(8):2031-7.
22. Hosseinzadeh H, Ramezani M, Shafaei H, Taghiabadi E. Anticonvulsant effect of Berberis integerrima L. root extracts in mice. JAMS. 2013 Feb; 6(1):12-7.
23. Beiranvand M, Bahramikia S, Dezfoulian O. Evaluation of antioxidant and anti-ulcerogenic effects of Eremurus persicus (Jaub & Spach) Boiss leaf hydroalcoholic extract on ethanol-induced gastric ulcer in rats. Inflammopharmacology. 2021 Oct; 29(5):1503-18.
24. Hosseini S, Gharachorloo M, Ghiassi Tarzi B, Ghavami M. A review of antioxidant capacity assays (reactions, methods, pros and cons). J Food Sci Technol. 2014 Sep; 11(4):89-111.
25. Ghaderi GM, Sadeghi MA, Alami M, Azizi MH, Ghorbani M. Study on Antioxidant Activities of Phenolic Extracts from Fruit of a Variety of Iranian Acorn (Q. castaneifolia var castaneifolia). J Food Sci Technol. 2012; 9(35):45-56.
26. Feizi Z, Ghadami M, Moghadam R, Salehpour Z, Shadi A, Heydari M. Comparison Scavenging power of Red algae species with Oak fruits acorn (Quercus brantii var. persica). J Mar Biol. 2015 Aug; 7(2):91-8.
27. Rezaei F, Mohammad KDB. Determination of antioxidant power of oak extract extracted by microwave method with different solvents. NCNAFN. 2015 Aug; 28-27.
28. Faramarzian M, Bahramikia S. The effects of Quercus brantii acorn extract on hen

egg-white lysozyme amyloid formation and disassemble amyloid aggregates. J Food Process Preserv. 2020 Jul; 44(7):e14499.
29. Sharafati Chaleshtori R, Rafieian Kopaei M, Rokni N, Mortezaei S, Sharafati Chaleshtori A. Antioxidant activity of Zataria multiflora hydroalcoholic extract and its antibacterial effect on Staphylococcus aureus. J Maz Univ Med. 2012 Feb; 21(1):88-94.
30. Fatemi F, Asri Y, Rasooli I, Alipoor SD, Shaterloo M. Chemical composition and antioxidant properties of γ-irradiated Iranian Zataria Multiflora extracts. Pharm Biol. 2012 Feb; 50(2):232-8.
31. Goze I, Alim A, Tepe AS, Sokmen M, Sevgi K, Tepe B. Screening of the antioxidant activity of essential oil and various extracts of Origanum rotundifolium Boiss. from Turkey. J Med Plants Res. 2009 Apr; 3(4):246-54.
32. Ranjbar A, Khajavi F, Hossini Zijoud SM, Ghasemi H, Mohsenzadeh F, Chehregani A. Effects of Hydroalcoholic Extract Matricaria chamomilla L. on Paraquat-induced Blood Oxidative Toxicity in Rat. J Med Plants. 2014 May; 13(50):73-82.
33. Noroozi Z, Moslehisahd M, Salehi Surmaghi MH. Antioxidant activity and total phenolic compounds of aqueous and ethanolic extracts of Iranian yellow rose (Rosa foetida Herrm.) and evaluation of their antimicrobial activity against Salmonella enterica, Bacillus cereus, and Staphylococcus aureus. IJMAPR. 2020 Mar; 36(1):171-82.
34. Yassa N, Masoomi F, Rankouhi SR, Hadjiakhoondi A. Chemical composition and antioxidant activity of the extract and essential oil of Rosa damascena from Iran, population of Guilan. DARU. 2015 Dec; 17(3):175-80.
35. AR Z. Evaluation of phenolic, flavonoid contents and antioxidant activity of queous and alcoholic extract of Rosa Canina L. fruits north of Iran. J Food Res. 2017 Sep; 27(3):65-76.
36. Amraee S, Bahramikia S, Mohammadi A. Effective fraction of Teucrium polium suppressed polyol pathway through inhibiting the aldose reductase enzyme: a strategy to reduce retinopathy. J Med Plants. 2020 Mar; 19(73):82-90.
37. Fazeli-Nasab B, Rahnama M, Mazarei A. Correlation between antioxidant activity and antibacterial activity of nine medicinal plant extracts. J Mazandaran Univ Med Sci. 2017; 27(149):63-78.
38. Hassanpour H, Alizadeh S. Evaluation of phenolic compound, antioxidant activities and antioxidant enzymes of barberry genotypes in Iran. Sci Hortic. 2016 Mar; 200:125-30.

Comparison of the Content of Phenolic Compounds, Flavonoids, and Antioxidant Activity of Six Different Medicinal Plants under Extraction Conditions with Different Solvents

Safari S[1], Bahramikia S[2]*, Hadi F[3], Asadollahi H[1], Mostaed Sh[1], Zarini F[1]

1. MSc of Biochemistry, Department of Biology, Faculty of Basic Science, Lorestan University, Khorramabad, Lorestan Province, Iran

2. Associated Professor, Department of Biology, Faculty of Basic Science, Lorestan University, Khorramabad, Lorestan Province, Iran, bahramikia.s@lu.ac.ir

3. Assistance Professor, Department of Biology, Faculty of Basic Science, Lorestan University, Khorramabad, Lorestan Province, Iran

Received: *2023/4/3* Accepted: *2023/7/23*

Abstract

Background: In the present study, the solvent effect (aqueous and hydroalcoholic) of the extraction on the content of phenol, flavonoid, and the antioxidant activity of six medicinal plants, including Persian oak fruit hull (*Quercus brantii*), *Zataria multiflora*, German *Matricaria chamomilla*, *Teucrium polium*, *Rosa foetida Herrm*, and mountain barberry (*Berberis integerrima*) was investigated.

Materials and Methods: To measure phenol and flavonoid content, folin ciocaltio and aluminum chloride reagents were used, respectively, and to measure the antioxidant potential, the DPPH method was used. The content of phenol and flavonoid compounds was calculated as mg equivalent of gallic acid and catechin per gram of dry weight of the plant, respectively. The collected data was analyzed in SPSS software (version 14).

Results: According to the obtained results, the amount of phenol and flavonoid in the hydroalcoholic extract of oak fruit hull *Quercus brantii*, *Zataria multiflora*, German *Matricaria chamomilla*, and mountain barberry was more than the aqueous extract, and this difference was statistically significant (P<0.001). The highest content of phenol and flavonoid were related to the hydroalcoholic extract of oak by 310.2 ± 2.5 mg/g and 241.2 ± 1 mg/g, respectively, and the lowest amounts were related to the aqueous extract of *Matricaria chamomilla* (53.1±1.1 mg/g) and the aqueous extract of acorn (23.9±1.5 mg/g), respectively. The highest antioxidant activity (IC_{50}) was related to oak fruit-hull hydroalcoholic extract (39.1±4.4 µg/ml), and the lowest was related to the aqueous extract of *Matricaria chamomilla* (315.3±3.3 µg/ml).

Conclusion: The findings of this study showed that the solvent used to extract plants is a significant factor in separation of phenol and flavonoid compounds as well as their antioxidant activity.

Keywords: Antioxidant, Effective compounds, Extraction, Flavonoid, Phenol, Solvent.

Citation: Safari S, Bahramikia S, Hadi F, Asadollahi H, Mostaed Sh, Zarini F. Comparison of the Content of Phenolic Compounds, Flavonoids, and Antioxidant Activity of Six Different Medicinal Plants under Extraction Conditions with Different Solvents. Yafte. 2023; 25(2):94-106.