

ویژگی های آنتی اکسیدانی عصاره هیدروالکلی و اسانس برگ گیاه ویتکس (Vitex pseudo-negundo)

حسن احمدوند^۱، حمزه امیری^۳، سعیده اکباتان همدانی^۴، شاهرخ باقری^۲

۱- مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران

۲- گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران

۳- گروه زیست شناسی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران

۴- گروه بیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد، بروجرد، ایران

یافته / دوره چهاردهم / شماره ۲ / بهار ۹۱ / ویژه نامه گیاهان دارویی

چکیده

دریافت مقاله: ۹۰/۹/۲، پذیرش مقاله: ۹۰/۱۱/۱۸

* مقدمه: آنتی اکسیدان ها باعث محافظت بدن در برابر تنش اکسیداتیو ناشی از رادیکال های آزاد می شوند. هدف از این مطالعه مقایسه ویژگی های آنتی اکسیدانی عصاره هیدروالکلی و اسانس برگ گیاه ویتکس است.

* مواد و روش: در این مطالعه عصاره هیدروالکلی و اسانس برگ گیاه ویتکس تهیه شد و ویژگی های آنتی اکسیدانی نمونه ها با استفاده از روش های مختلف مورد ارزیابی قرار گرفت. توان حذف رادیکال های آزاد از طریق روش ۲ و ۲ دی فنیل - ۱- پیکریل هیدرازیل (DPPH) اندازه گیری شد. ظرفیت تام آنتی اکسیدانی با استفاده از روش فسفومولبیدات اندازه گیری شد. همچنین میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی نمونه ها با استفاده از روش فولین سیوکالتو و زیشن بدست آمد.

* یافته ها: نتایج به دست آمده نشان داد که ظرفیت تام آنتی اکسیدانی عصاره هیدروالکلی و اسانس برگ ویتکس به ترتیب برابر با (۲/۱۲±۰/۶۰؛ ۱/۷۶±۰/۲۵)، میزان فنل عصاره هیدروالکلی و اسانس برگ ویتکس به ترتیب برابر با (۱۸±۱؛ ۵/۵±۴) است. میزان IC₅₀ عصاره هیدروالکلی، اسانس و بوتیلیتد هیدروکسی تولون (BHT) به عنوان کنترل مثبت به ترتیب برابر با (۲۲۴/۷۵±۴/۵۲؛ ۱۳۳/۰۰±۳؛ ۳/۸۸±۱) میکروگرم بر میلی لیتر است.

* بحث و نتیجه گیری: نتایج بدست آمده نشان داد که ویتکس منبع خوب و قابل دسترسی از ترکیبات آنتی اکسیدانی است و می توان از آن در صورت مفید بودن در فرآورده های غذایی، دارویی و صنعتی استفاده کرد.

* واژه های کلیدی: عصاره هیدروالکلی، اسانس، ویتکس، فنل، فلاونوئید و ظرفیت آنتی اکسیدانی.

آدرس مکاتبه: خرم آباد، کیلومتر ۳ جاده خرم آباد - بروجرد - مجتمع دانشگاه علوم پزشکی

پست الکترونیک: hassan_a46@yahoo.com

مقدمه

آمنوره، دیسمنوره نارسایی جسم زرد، هیپرپرولاکتینوما، نازایی، آکنه، یائسگی و اختلالات شیردهی استفاده شده است (۷).
با توجه به خواص مفید و استفاده فراوان سنتی ویتکس و این که تا کنون ویژگی های آنتی اکسیدانی ویتکس مورد مطالعه قرار نگرفته است، در این مطالعه ویژگی های آنتی اکسیدانی عصاره هیدروالکلی و اسانس برگ گیاه ویتکس از طریق اندازه گیری توان حذف رادیکال های آزاد، ظرفیت تام آنتی اکسیدانی، میزان ترکیبات فنولی، میزان فلاونوئیدی بررسی و مقایسه شده است.

مواد و روش ها

تهیه عصاره هیدروالکلی و اسانس برگ ویتکس

گیاه ویتکس از مزارع شهرستان خرم آباد، اطراف دریاچه کیو در استان لرستان جمع آوری شد. عصاره هیدروالکلی (اتانول و آب به نسبت ۱:۱) و اسانس برگ ویتکس در مرکز تحقیقات داروهای گیاهی دانشگاه علوم پزشکی لرستان تهیه شد. برای تهیه عصاره هیدروالکلی و اسانس برگ ویتکس ابتدا برگ ویتکس در سایه خشک و سپس پودر گردید. عصاره هیدروالکلی و اسانس ویتکس با استفاده از دستگاه سوکسله تهیه شد و میزان عصاره هیدروالکلی و اسانس ویتکس بدست آمده به ترتیب برابر با ۶/۳۴٪ و ۲/۲۸۷٪ بود. پس از عملیات عصاره و اسانس گیری، وزن عصاره و اسانس اندازه گیری شد و میزان درصد عصاره هیدروالکلیو اسانس ویتکس نسبت به پودر گیاه استفاده شده بدست آمد

مواد: دی سدیم اتیلن دی آمین تتراسات (Na₂EDTA)، سدیم کلرید، بوتیلید هیدروکسی تولوئن (Butylated hydroxytoluen، ۲و۲ دی فنیل - پیکریل هیدرازیل (DPPH)، گالیک اسید، کوئرسیتین، دی سدیم هیدروژن فسفات (Na₂HPO₄) از شرکت سیگما خریداری شد.

تنش اکسیداتیو در اثر عدم توازن میان تولید رادیکال های آزاد در داخل بدن و مکانیسم های دفاعی آنتی اکسیدانی حاصل می شود. در موجودات زنده پراکسیداسیون لیپید های موجود در دیواره سلول های زنده از جمله مهمترین اهداف رادیکال های آزاد می باشد. در این شرایط نه تنها ساختمان دیواره و عملکرد آن تحت تاثیر قرار می گیرد بلکه بعضی از محصولات ناشی از اکسیداسیون به عنوان نمونه مالون دی آلدئید می تواند با بیومولکول ها واکنش نشان داده و اثرات سیتوتوکسیک و ژنوتوکسیک از خود نشان دهد. لذا حضور بالای رادیکال های آزاد مخصوصا پراکسیدها نقش کلیدی در بیماری زایی تعدادی از بیماریها مانند دیابت، بیماری های قلبی - عروقی، سرطان، پیری و انواع بیماری های دیگر دارد (۱).

گرچه امروزه از آنتی اکسیدان های ساختگی در صنایع غذایی به طور گسترده ای استفاده می شود. تعداد زیادی از این ترکیبات دارای اثرات مضر برای سلامت انسان هستند (۲،۳). با توجه به این واقعیت، آنتی اکسیدان های طبیعی که عمدتاً در گیاهان دارویی، میوه جات و سبزیجات وجود دارد در میان مصرف کنندگان طرفداران زیاد پیدا نموده و به نظرمی آید در پیشگیری از ابتلاء به تعدادی از بیماری ها حائز اهمیت باشند. گیاهان دارویی منابع مهم و غنی از آنتی اکسیدان های طبیعی هستند (۵-۲). گیاه ویتکس با نام های محلی پنج انگشتی، بنگله، نیگرو، گناک و گنگ و هنده بید با نام علمی ویتکس پزودونگونوندو^۱ جنس ویتکس (پنج انگشتی / فلفلی) درختچه های با پایه چوبی و تا ۳ متر ارتفاع دارند (۶). این گونه دامنه رویشگاهی بالائی داشته و در آسیای غربی، سوریه، کردستان، ایران، افغانستان گسترش دارد. این گیاه به طور سنتی برای درمان بسیاری از مشکلات زنان مثل

1. vitex psedonegundo

شد. با استفاده از همین روش منحنی استاندارد ظرفیت تام آنتی اکسیدانی اسید آسکوربیک، جذب در طول موج ۶۹۵ نانومتر بر حسب غلظت اسید آسکوربیک در محدوده غلظتی ۰/۱ تا ۱۵ نانومول اسید آسکوربیک رسم شد و ظرفیت تام آنتی اکسیدانی عصاره هیدروالکلی و اسانس برگ ویتکس بر حسب نانومول اسید آسکوربیک بر گرم عصاره هیدروالکلی و اسانس برگ ویتکس محاسبه گردید (۹).

میزان فنل

جهت اندازه گیری محتوی فنل عصاره هیدروالکلی و اسانس برگ ویتکس، ابتدا غلظت های مختلف عصاره هیدروالکلی و اسانس برگ ویتکس تهیه شد سپس برای هر غلظت سه لوله آزمایش آماده گردید و در هر لوله ۲ میلی لیتر آب مقطر و ۱۰۰ میکرولیتر محلول ۰/۷٪ فولین سیوکالتو فسفو تنگستیک اسید و ۲۰ میکرولیتر نمونه عصاره هیدروالکلی و اسانس برگ ویتکس اضافه شد، بعد از سه دقیقه ۳۰۰ میکرولیتر کربنات سدیم اضافه شد و محلول ها به مدت ۲ ساعت توسط دستگاه شیکر مدل (Horizontal Shaker HS230) اختریان بصورت رفت و برگشت صدار در دقیقه، تکان داده شدند. نهایتاً جذب محلول ها در ۷۶۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر اندازه گیری شد. با استفاده از همین روش منحنی استاندارد گالیک اسید در محدوده غلظتی ۱۰ تا ۳۰۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر گالیک اسید رسم شد و مقدار کل ترکیبات فنولی عصاره هیدروالکلی و اسانس برگ ویتکس بر حسب میلی گرم گالیک اسید بر گرم عصاره هیدروالکلی و اسانس برگ محاسبه گردید (۱۰).

میزان فلاونوئید

جهت اندازه گیری محتوی فلاونوئید عصاره هیدروالکلی و اسانس برگ ویتکس، ابتدا غلظت های مختلف عصاره هیدروالکلی و اسانس برگ ویتکس تهیه شد سپس برای هر غلظت سه لوله آزمایش آماده شد و در هر لوله ۵۰۰ میکرولیتر محلول ۰/۲٪ کلرید آلومینیوم حل شده

ارزیابی ۲ و ۲ دی فنیل - ۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH)

فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره هیدروالکلی و اسانس برگ ویتکس، با استفاده از روش ۲و۲ دی فنیل - پیکریل هیدرازیل (DPPH) بر مبنای درصد مهار تولید رادیکال آزاد اندازه گیری شد (۸). ابتدا غلظت های مختلف عصاره هیدروالکلی و اسانس برگ ویتکس تهیه شد سپس برای هر غلظت سه لوله آزمایش آماده شد. ۲۰۰ میکرولیتر از نمونه ها با غلظت های متفاوت با یک میلی لیتر از محلول ۹۰ میکرومولار DPPH مخلوط شد و با متانول ۹۵٪ به حجم ۴ میلی لیتر رسید و برای مدت زمان ۶۰ دقیقه در تاریکی توسط دستگاه شیکر مدل (Horizontal Shaker HS230) اختریان بصورت رفت و برگشت صدار در دقیقه، تکان داده شد. جذب نمونه های حاوی عصاره و شاهد بعد از این مدت زمان، در طول موج ۵۱۷ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر خوانده شد. درصد مهار تولید رادیکال آزاد بوسیله فرمول زیر محاسبه گردید:

$$\text{مهارت تولید رادیکال آزاد} = 100 \times \frac{A_{\text{blank}} - A_{\text{sample}}}{A_{\text{blank}}} (\%)$$

مهارت تولید رادیکال آزاد

A blank میزان جذب شاهد و A sample جذب

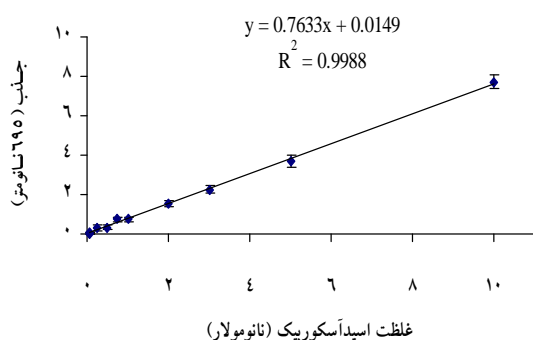
نمونه است. فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره هیدروالکلی و اسانس برگ ویتکس به صورت مقدار IC₅₀ نشان می دهند که غلظتی از ترکیب است که باعث ۵۰ درصد بازدارندگی در ظرفیت رادیکالی می گردد.

ظرفیت تام آنتی اکسیدانی

جهت بررسی ظرفیت آنتی اکسیدانی عصاره هیدروالکلی و اسانس برگ ویتکس، ابتدا غلظت های مختلف عصاره هیدروالکلی و اسانس برگ ویتکس تهیه شد سپس برای هر غلظت سه لوله آزمایش آماده گردید و در هر لوله ۱ میلی لیتر فسفو تنگستیک اسید و ۰/۱ میلی لیتر نمونه عصاره هیدروالکلی و اسانس برگ ویتکس، اضافه گردید و به مدت ۹۰ دقیقه در دمای جوش گذاشته شدند، بعد از سرد شدن جذب نمونه هادر طول موج ۶۹۵ نانومتر در مقابل بلانک خوانده

میزان ظرفیت تام آنتی اکسیدانی

منحنی استاندارد اسید اسکوربیک برای محاسبه ظرفیت آنتی اکسیدانی عصاره هیدروالکلی و اسانس برگ ویتکس در نمودار شماره ۱ نشان داده است. فعالیت تام عصاره هیدروالکلی و اسانس برگ ویتکس به ترتیب برابر با $1/76 \pm 0/25$ ؛ $2/12 \pm 0/60$ نانومول اسید اسکوربیک در گرم عصاره هیدروالکلی و اسانس بود (نمودار ۱).



نمودار ۱. منحنی استاندارد ظرفیت تام آنتی اکسیدانی اسید اسکوربیک.

میزان فنل تام

منحنی استاندارد اسید گالیک برای محاسبه محتوی فنل عصاره هیدروالکلی برگ، گل و ساقه ویتکس در نمودار شماره ۲ نشان داده است. محتوی فنل اندازه گیری شده از روش فولین سیوکالتو در عصاره هیدروالکلی و اسانس برگ ویتکس به ترتیب برابر با 22 ± 2 ؛ $133/11 \pm 3$ میلی گرم گالیک اسید بر گرم عصاره هیدروالکلی و اسانس بود که اختلاف آنها نسبت به هم معنی دار است (نمودار ۲).

در اتانول و ۵۰۰ میکرولیتر نمونه عصاره هیدروالکلی و اسانس برگ ویتکس اضافه شد، محلول ها به مدت ۱ ساعت در دمای اتاق قرار داده شدند. نهایتاً جذب محلول ها در ۴۲۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر اندازه گیری شد. با استفاده از همین روش منحنی استاندارد کوئرستین در محدوده ۵ تا ۶۰ میلی گرم بر میلی لیتر کوئرستین رسم شد و مقدار کل ترکیبات فلاونوئید عصاره هیدروالکلی و اسانس برگ ویتکس بر حسب میلی گرم کوئرستین بر گرم عصاره هیدروالکلی و اسانس محاسبه گردید (۱۱).

آنالیز آماری

نتایج بدست آمده بصورت میانگین + انحراف معیار بیان شده اند. معنی دار بودن نتایج از نظر آماری و اختلاف بین گروه ها با استفاده از نرم افزار SPSS و آزمون t-Test مستقل ارزیابی شد.

یافته‌ها

ارزیابی ۲ و ۲ دی فنیل - ۱ - پیکریل هیدرازیل (DPPH)

میزان توان حذف رادیکال های آزاد عصاره هیدروالکلی و اسانس برگ ویتکس بر حسب درصد مهار حذف رادیکال های آزاد به دست آمد. به طوری که میزان IC_{50} (غلظتی که باعث حذف رادیکال های آزاد به میزان ۵۰ درصد می شود) عصاره هیدروالکلی و اسانس برگ ویتکس و BHT به عنوان کنترل مثبت به ترتیب برابر است با $224/75 \pm 4/52$ ؛ $133/00 \pm 3$ ؛ $3/88 \pm 1$ میکروگرم بر میلی لیتر (است (جدول ۱).

جدول ۱: میزان IC_{50} عصاره هیدروالکلی و اسانس برگ ویتکس و BHT (میکروگرم بر میلی لیتر)

میزان IC_{50}	میانگین	انحراف معیار
عصاره هیدروالکلی برگ ویتکس	۲۲۴/۷۵	۴/۵۲
اسانس برگ ویتکس	۱۳۳/۰۰*	۳/۰۰
BHT	۳/۸۸*#	۱/۰۰

* معنی دار نسبت به عصاره $(P < 0/05)$. # معنی دار نسبت به اسانس $(P < 0/05)$.

جدول ۲: میزان ظرفیت تام آنتی اکسیدانی، فنل تام و فلاونوئید تام

عصاره هیدروالکلی و اسانس برگ ویتکس		
اسانس	عصاره هیدروالکلی	شاخص آنتی اکسیدانی
۲/۱۲±۰/۶*	۱/۷۶±۰/۲۵	ظرفیت تام آنتی اکسیدانی (نانومول اسید آسکوربیک بر گرم اسانس یا عصاره)
۱۳۳/۱۱±۳*	۲۲±۲	فنل تام (میلی گرم گالیک اسید بر گرم اسانس یا عصاره)
۵/۵±۴*	۱۸±۱	فلاونوئید تام (میلی گرم کوئرستین بر گرم اسانس یا عصاره)

* معنی دار نسبت به عصاره (P<۰/۰۵).

بحث و نتیجه گیری

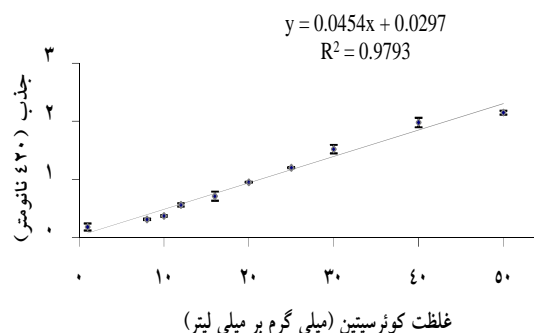
ارزیابی ۲ و ۲ دی فنیل - ۱- پیکریل هیدرازیل (DPPH)

میزان IC₅₀ کنترل مثبت BHT بیشتر از اسانس برگ

ویتکس است و تفاوت آنها معنی دار است. همچنین ارزش IC₅₀ اسانس بیشتر از عصاره هیدروالکلی برگ ویتکس است و تفاوت آنها معنی دار می باشد. در یک مطالعه میزان IC₅₀ عصاره متانولی ویتکس از نوع نگوندو ۱۸/۷۰ میکروگرم بر میلی لیتر گزارش شده است (۱۲). امروزه محققین علاقه زیادی به مطالعه گیاهان دارویی و استخراج آنتی اکسیدان های طبیعی از آنها جهت استفاده به جای آنتی اکسیدان های مصنوعی دارند. آنتی اکسیدان های طبیعی سالم تر و فواید بیشتری دارند و همچنین دارای اثرات مضر جانبی کمتری هستند (۱۳).

در مطالعه ای دیگر نشان داده شد که میزان IC₅₀ عصاره

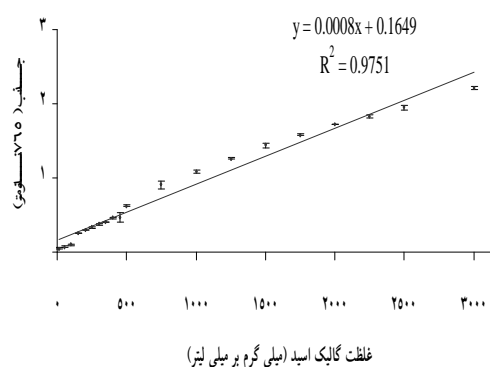
متانولی برگ ویتکس برابر با (۱۳۸ ± ۱۱/۶۸) میکروگرم بر میلی لیتر بود که با نتیجه به دست آمده از مطالعه حاضر همخوانی دارد (۱۴). نتایج بدست آمده نشان می دهد که ویتکس به عنوان یک آنتی اکسیدان اولیه از طریق تبادل



نمودار ۲. منحنی استاندارد فلاونوئید کوئرستین

میزان فلاونوئید تام

منحنی استاندارد کوئرستین برای محاسبه محتوی فلاونوئید عصاره هیدروالکلی و اسانس برگ ویتکس در نمودار شماره ۳ نشان داده است. محتوی فلاونوئید اندازه گیری شده از روش فولین سیوکالتو عصاره هیدروالکلی و اسانس برگ ویتکس به ترتیب برابر با (۱۸±۱ ; ۵/۵±۴) میلی گرم کوئرستین بر گرم عصاره هیدروالکلی و اسانس بود (نمودار ۳) (جدول ۲).



نمودار ۳. منحنی استاندارد فنل گالیک اسید

در مطالعه ای نشان داده شد میزان تام فلاونویید عصاره متانولی ویتکس برابر با $(0.17 \pm 13/45)$ میلی گرم کوئرسیتین بر گرم عصاره بود (۱۴). نتیجه به دست آمده از این مطالعه با نتیجه مطالعه حاضر هم خوانی دارد.

مطالعات متعددی بر روی ویتکس انجام شده است. در یک مطالعه نشان داده شد که ویتکس حاوی میزان پلی فنل بالایی است، به طوری که میزان محتوی فنل عصاره ویتکس حدود $40/15$ درصد گزارش شده است. همچنین در این مطالعه نشان داده شد که عصاره ویتکس از نوع نغوندو باعث کاهش پراکسیداسیون لیپید و کاهش التهاب در حیوانات آزمایشگاهی می شود (۱۲). در یک مطالعه دیگر نشان داده شد که عصاره ویتکس از نوع نغوندو باعث کاهش مالون دی آلدئید و افزایش سوپر اکسید دیسموتاز و کاتالاز به عنوان آنتی اکسیدان های آنزیمی در حیوانات آزمایشگاهی دچار سمیت کبدی ناشی از تراکلرید کربن می شوند (۲۰). همچنین در یک مطالعه دیگر نشان داده شد که عصاره ویتکس از نوع نغوندو باعث کاهش مالون دی آلدئید و افزایش سوپر اکسید دیسموتاز و کاتالاز به عنوان آنتی اکسیدان های افزایش گلوکوتائین و ویتامین C به عنوان آنتی اکسیدان های غیر آنزیمی در حیوانات آزمایشگاهی دارای آرتروز می شوند (۲۱). در یک مطالعه نشان داده شد که ویتکس از گونه دونیانا^۱ باعث کاهش گلوکز و مالون دی آلدئید و افزایش کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز در موش های صحرایی دیابتی تحت درمان با ویتکس از گونه دونیانا می شوند (۲۲). مطالعات قبلی نویسندگان این مقاله هم به صورت برون تنی و هم درون تنی نشان داده است که گیاهان مرزه خوزستانی و موسیر اثرات آنتی اکسیدانی خوبی دارند (۱۶،۲۳).

هیدروژن و واکنش با رادیکال های آزاد دارای توان بالایی در حذف رادیکال های آزاد است.

میزان ظرفیت تام آنتی اکسیدانی

فعالیت تام آنتی اکسیدانی عصاره هیدروالکلی و اسانس برگ ویتکس نسبت به هم معنی دار نیستند. میزان فعالیت تام آنتی اکسیدانی یک گیاه ارتباط مستقیمی با نوع و میزان ترکیبات آنتی اکسیدانی موجود در آن گیاه، نظیر کاروتنوئیدها، فنل و اسیداسکوربیک دارد (۱۵).

با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه و مطالعات گذشته این گیاه از توان حذف رادیکال های آزاد بالایی برخوردار است و یک آنتی اکسیدان خوب می باشد.

میزان فنل تام

گیاهان دارویی منابع غنی آنتی اکسیدان های طبیعی می باشند. اکثر آنتی اکسیدان های طبیعی قادر به حذف رادیکال های آزاد، رادیکال های سوپراکسید، هیدروکسیل از طریق انتقال الکترون های منفرد می باشند (۱۶،۱۷). ترکیبات فنلی متابولیت های ثانویه از گیاهان بویژه گیاهان دارویی هستند. این ترکیبات توان آنتی اکسیدانی بالایی دارند و از طرق مختلف در حذف و جلوگیری از ایجاد رادیکال های آزاد موثرند. به طوری که این ترکیبات رادیکال های آزاد را حذف می کنند و همچنین باعث رسوب عناصر اکسیدان مانند آهن می شوند (۱۹،۱۸). محتوی فنل اسانس برگ ویتکس به طور معنی داری بیشتر از عصاره هیدروالکلی است. در مطالعه ای نشان داده شد که عصاره برگ ویتکس میزان تام فنل عصاره متانولی آن برابر با $0/81 \pm$ (۳۶۳) میلی گرم گالیک اسید بر گرم عصاره بود (۱۴).

میزان فلاونویید تام

اختلاف محتوی فلاونویید اندازه گیری شده از روش فولین سیوکالتو عصاره هیدروالکلی و اسانس برگ ویتکس نسبت به هم معنی دار است ($P < 0/05$).

1 Vitex doniana stem bark

نتایج حاصل از مطالعات قبل بر روی گونه‌های مختلف گیاه ویتکس و این مطالعه نشان داد ویتکس از ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی برخوردار است. انجام مطالعات بیشتر به خصوص آنالیز ترکیبات تشکیل دهنده و با بکارگیری از عصاره ویاستخراج مواد موثر مهم موجود در آن و استفاده از آن در درمان بیماری‌های مرتبط با تنش اکسیداتیو مانند دیابت، بیماری‌های قلبی-عروقی و سرطان در حیوانات آزمایشگاهی حائز اهمیت است و در صورت مطالعه بیشتر و بدست آوردن

نتایج مطلوب می‌توان از آن در فراورده‌های غذایی، دارویی و صنعتی استفاده کرد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله نویسندگان این مقاله مراتب تشکر و قدردانی خود را از معاونت تحقیقات و فناوری همچنین مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی دانشگاه علوم پزشکی به خاطر تصویب و تامین اعتبار و فراهم نمودن امکانات و تجهیزات آزمایشگاهی جهت انجام این پروژه تحقیقاتی اعلام می‌نماید.

References

1. Nige E. Cellular oxidative process in relation to renal disease. *Nephrology*. 2005; 25: 13-22.
2. Wojcik M, Burzynska-Pedziwiatr I and Wozniak LA. A review of natural and synthetic antioxidants important for health and longevity. *Curr Med Chem*. 2010; 17(28): 3262-3288.
3. Zhang J, Yuan K and Zhou WL. Studies on the active components and antioxidant activities of the extracts of *Mimosa pudica* Linn. From southern China. *Pharmacogn Mag*. 2011; 7(25): 35-39.
4. Vanzani P, Rossetto M and De Marco V. Wild mediterranean plants as traditional food: a valuable source of antioxidants. *J Food Sci*. 2011; 76(1): 46-51.
5. Bonilla J, Atarés L, Chiralt A and Vargas M. Recent patents on the use of antioxidant agents in food. *Food Nutr Agric*. 2011; 3(2): 123-132.
6. Boroomandfar KH, Kazemiyan A and Safdari F, M. Effect of *Vitex* on hot flash of menopausal women referred to health center of Isfahan. *J Birjand University Of Medical Sciences*. 2007; 14(3): 13-19(Persian)
7. Tandon VR and Guota RK. An experimental evaluation of anticonvulsant activity of *vitex-negundo*. *Indian J Physiol Pharmacol* 2005; 49 (2) : 199–205.
8. Blois MS. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*. 1958; 181: 1199-1200.
9. Prieto P, Pineda M and Aguilar M. Spectrophotometric Quantitation of Antioxidant Capacity through the Formation of a Phosphomolybdenum Complex: Specific Application to the Determination of Vitamin E. *Anal Biochem*. 1999; 269(2): 337-341.
10. Sigleton VL, Orthofer R and Lamuela RRM. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol*. 1999; 299: 152–178.
11. Mikkonen TP, Maatta KR, Hukkanen AT, Kokko HI, Torronen AR, Karenlampi SO and Krajalainen RO. Flavonol content varies among black currant cultivars. *J Agric Food Chem*. 2001;49(7): 3274-3277.
12. Kulkarni RR, Virkar AD and D'mello P. Antioxidant and Antiinflammatory Activity of *Vitex negundo*. *Indian J Pharm Sci*. 2008; 70(6): 838–840.
13. Pawan KS, Neelam K, Vince P and Dinender K. The role of oxidative stress in the genesis of heart disease. *Cardiovasc res* 1998; 40:426–432.
14. Zargar M, Azizah AH, Roheeyati AM, Fatimah AB, Jahanshiri F and Pak-Dek MS. Bioactive compounds and antioxidant activity of different extracts from *Vitex negundo* leaf. *J Med Plants Res*. 2011; 5(12): 2525-2532.
15. Gorinstein S, Cvikrova M, Machackova I, Haruenkit R, Zachwieja Z and Katrich E. Characterization of antioxidant compounds in Jaffa sweets and white grapefruits. *Food Chem*. 2004; 84: 503–510.
16. Ahmadvand H, Khosrobeigi A and Bagheri S. Comparison of Inhibitory

- effects of Satureja Khozistanica oil extract, vitamin E and Coenzyme Q10 on LDL oxidation in vitro. *Yafteh*. 2008; 11(4): 25-31. (In Persian)
17. Lloyd DR and Phillips DH. Oxidative DNA damage mediated by copper(II), iron(II) and nickel(II) fenton reactions: evidence for site-specific mechanisms in the formation of double-strand breaks, 8-hydroxydeoxyguanosine and putative intrastrand cross-links. *Mutat Res*. 1999; 424(1-2): 23-36.
 18. Williams RJ, Spencer JPE and Rice EC. Flavonoids: Antioxidants or signalling molecules? *Free Radical Biol Med*. 2004; 36(7): 838-849.
 19. Wong C, Li H, Cheng K and Chen F. A systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay. *Food Chem*. 2006; 97: 705-711.
 20. Agbafor KN and Nwachukwu N. Phytochemical Analysis and Antioxidant Property of Leaf Extracts of *Vitex doniana* and *Mucuna pruriens*. *Biochem Res Int*. 2011; 459: 1-4
 21. Renuka Devi P, Krishna Kumari S and Kokilavani C. Effect of vitex negundo leaf extract on the free radicals scavengers in complete frunds adjuvant induced artheitic rats. *Indian J Clinic Biochem*. 2007; 22 (1): 143-147.
 22. James DB, Owolabi OA, Oluloto AO, Mohammed H and Muhammed OA. Change in Organs Weight and Antioxidant Potential of Combined Effects of Aqueous Extracts of *Phyllanthus amarus* and *Vitex doniana* Stem Bark on Streptozotocin-Induced Dibetic Rats. *Asian J Med Sci*. 2011; 3(6): 237-242.
 23. Ahmadvand H, Khosrowbeygi A, Ghasemi M. Inhibitory effect of *Allium ascalonicom* hydroalcoholic extract on low-density lipoprotein (LDL) oxidation induced by CuSO4 in vitro. *J Med Plants Res* 2011; 5 (6): 1012-1017