# بررسی میزان فنول، فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاه گل ماهور (Verbascum cheiranthifolium Boiss.) از منطقه کلکچال استان تهران

زهرا سادات آقاخواه رازلیقی[1*]، عبدالحسین روستائیان[2]، کامبیز لاریجانی[3]

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران
۲. استاد، گروه شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران
۳. استادیار، گروه شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۶/۱۲؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۹/۱۵)

## چکیده

گیاه .Verbascum cheiranthifolium Boiss از خانواده Scrophulariaceae، در طب سنتی ایران و کشورهای همسایه به صورت خوراکی و موضعی برای درمان بیماری‌ها به کار می‌رود. در این پژوهش برای اولین بار مقدار فنول، فلاونوئید کل و خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره قسمت‌های هوایی گیاه بومی ایران منطقه کلکچال تهران بررسی شد. برای سنجش میزان فنول و فلاونوئید به ترتیب از معرف‌های فولین سیو کالتیو و کلرید آلومینیوم و برای اندازه‌گیری پتانسیل آنتی اکسیدانی از روش DPPH استفاده شد. نتایج نشان داد محتوای فنولی و فلاونوئیدی برای نمونه‌ها به ترتیب ۰/۹۲۵ میلی گرم گالیک اسید در هر گرم وزن خشک و ۱۸/۸۸۷ میلی گرم کوئرستین در هر گرم وزن خشک می‌باشد. در ارزیابی پتانسیل آنتی اکسیدانی به روش DPPH، مقدار $IC_{50}$ برای BHT ۷۲۳۰۱/۴۲۸ میکروگرم بر میلی لیترو برای عصاره ۴۵۸۲۹/۳۶۴ میکروگرم بر میلی لیترمی باشد. در نتیجه خاصیت آنتی اکسیدانی این گیاه توان بالاتری در مقابل آنتی اکسیدان سنتزی BHT برخوردار است. نتایج این مطالعه نشان داد که این گیاه قدرت آنتی اکسیدانی خوبی در مقابل انواع سیستم‌های اکسیداتیو بوده لتت به عنوان یک آنتی اکسیدان طبیعی در دسترس می‌تواند در صنایع غذایی و دارویی مورد استفاده قرار گیرد.

## کلیدواژگان

آنتی اکسیدان، ترکیبات فنولی، فلاونوئید، گل ماهور، ۲ و ۲ دی فنیل- ۱- پیکریل هیدرازین.

* نویسنده مسئول، رایانامه: samaghafari22@gmail.com

## مقدمه

مطابق گزارش WHO، امروزه تا هشتاد درصد مردم در سراسر جهان (تقریبا ۵ میلیارد نفر) از گیاهان دارویی برای درمان بیماری‌ها استفاده می‌کنند. تقریبا، یک چهارم داروها در دنیا، به طور مستقیم از گیاهان دارویی استخراج می‌شوند و یا منشاء گیاهی دارند (Karimian et al.,2013). اصطلاح "گیاه دارویی" تنها به عنوان "شفاءدهنده بیماری‌ها" استفاده نمی‌شود، آنها اغلب به عنوان طعم دهنده، نوشیدنی، شیرین کننده، رنگدانه‌های طبیعی و رنگ، حشره کش‌ها و همچنین مواد تشکیل دهنده لوازم آرایشی استفاده می‌شود (Karimian et al., 2013). ایران به عنوان منبع منحصر به فرد گونه‌های گیاهی وحشی و پزشکی شناخته می‌شود. از ۳۰۰۰ گونه گیاه دارویی که در جهان شناخته شده است، تعداد ۱۰۰۰ گونه در ایران رشد می‌کنند(Karimian et al., 2012 ). گیاه دارویی ماهور در بخش‌های زیادی از کشور پراکنش دارد و ایران یکی از مهم ترین مناطق پراکنش این گیاه به حساب می‌آید. جنس گل ماهور(Verbascum) بزرگترین جنس خانواده گل میمون (Scrophulariaceae) است و نزدیک به ۳۶۰ گونه دارد. این جنس در ایران ۴۳ گونه و ۴ هیبرید دارد، ۱۹ گونه از این جنس بومی ایران هستند ( Safi et al., 2016). گل ماهور یا خرگوشک در مناطق مختلف ایران به نام‌های دیگری از جمله: علف خرگوش، خرگوشک، گل ماهور و علف ماهور نیز نامیده می‌شود. پراکندگی این گیاه بیشتر در نواحی غرب و شمال غربی ایران است. در عصاره‌های این گیاهان موادی مانند: ساپونین و گلیکوزید بیواکتیو ( Bioactive saponins and glycosides)، فنیل اتیل گلیکوزید ( Phenylethyl glycoside) و ورباسکوزید (Verbascoside) وجود دارد که دارای فعالیت ضد عفونی کنندگی و ضد التهابی بوده و همین طور ورباسکوزید دارای قدرت ترمیم زخم نیز می‌باشد (Kupeli et al,. 2007).

از روزگاران قدیم، از این گیاه برای درمان ناراحتی‌های تنفسی استفاده می‌شد، همچنین پزشکان از این گیاه برای درمان سرفه استفاده می‌کردند و مهاجران اروپایی نیز به همین منظور این گیاه را با خود به آمریکا بردند. در طب سنتی از این گیاه برای درمان التهاب حلق و گلو، ورم لوزه‌ها، اسهال و بواسیر و عفونت‌های مجاری ادراری نیز استفاده می‌کردند (Nabiuni et al,. 2011). فلاونوئیدهای موجود در این گیاه به ویژه در روند ترمیم زخم‌ها، به عنوان عامل موثری در از بین بردن رایکال‌های آزاد، محسوب می‌شوند (Süntar et al,. 2010 ).

اکسیداسیون، به واکنش انتقال الکترون از یک اتم به اتم یا مولکول دیگر می‌گویند، همچنین قسمتی از فرایند تنفس هوازی و سوخت و ساز در موجودات زنده می باشد. در سوخت و ساز بدن، انرژی مواد غذایی به ATP (Adenosine triphosphate) تبدیل می‌شوند، تنفس هوازی برای تولید ATP به اکسیژن نیاز دارد، اکسیژن پذیرنده الکترون در سیستم انتقال الکترون می‌باشد. اکسیژن تحت شرایط خاص ممکن است به صورت تک الکترون درآمده و تولید رادیکال آزاد نماید. زمانی که اکسیژن به صورت تک الکترون در می آید به آن اکسیژن فعال می‌گویند (Pietta,2000).

آسیب‌های اکسیداتیو متوجه DNA، پروتئین‌ها و دیگر ماکرومولکول‌ها از جمله عوامل داخلی ایجاد کننده بیماری‌های دژنراتیو مانند پیری، سرطان، بیماری‌های قلبی عروقی، نقص سیستم ایمنی، عملکرد غیرطبیعی مغز می‌باشد .اکسیژن منفرد، اکسیژن با انرژی بالا و موتاژنیک، می تواند به وسیله انتقال انرژی از نور و یا مسیرهای تنفسی نوتروفیل‌ها، پراکسیداسیون لیپیدها ایجاد شود (Ames *et al*,. 1993).

آنتی اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که می‌توانند از تولید رادیکال‌ها جلوگیری کرده و رادیکال‌های آزاد را

خنثی و در نتیجه از ایجاد بیماری‌ها جلوگیری کنند (Khalili et al,. 2015). در حضور این ترکیبات اکسیدشدن یک ماده به تأخیر افتاده یا از آن جلوگیری می‌شود. آنتی اکسیدان‌ها تشکیل گونه‌های فعال اکسیژن را از روش‌های مختلف مانند اتصال به فلزات یا روش آنزیمی مهار یا جلوگیری می‌کنند. مطالعات اپیدمیولوژیک نیز نشان داده است، افرادی که دارای رژیم غذایی حاوی آنتی اکسیدان‌های طبیعی هستند، کمتر در معرض خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی و عروقی و سرطان‌ها هستند. بر این اساس توجه به آنتی اکسیدان‌های طبیعی افزایش یافته است. آنتی اکسیدان‌ها ممکن است به طور طبیعی در ماده غذایی وجود داشته باشند و یا در طبیعت موجود نباشند و از طریق سنتز تهیه و به ماده غذایی اضافه شوند.

ترکیبات فیتوشیمیایی موجود در گیاهان از آنتی اکسیدان‌های طبیعی به شمار می‌آیند که توان آنتی اکسیدانی مشابهی با آنتی اکسیدانهای سنتزی، بدون اثرات جانبی دارند (Shashi et al,. 2014) ( Salmanian et al,. 2013). از این رو تجویز آن‌ها برای درمان بسیاری از بیماری‌ها مفید و مؤثر است. ترکیبات فنولی از جمله فلاونوئیدها دسته ای از ترکیبات فیتوشیمیایی هستند که انتشار وسیعی در گیاهان دارند و فعالیت بیولوژیکی متنوع این ترکیبات از جمله فعالیت‌های آنتی اکسیدانی، ضد میکروبی، ضدالتهاب و گشاد کنندگی عروق آن‌ها در بسیاری از بررسی‌ها گزارش شده است.

تحقیق و بررسی‌های زیادی بر روی گونه‌های مختلف گیاه ماهور انجام شده است. در مورد گونه V.cheiranthifolium کریمان و همکاران، در سال ۲۰۱۳، ترکیبات شیمیایی عصاره اتانولی گل، ساقه و برگ با استفاده از دستگاه GC-MS شناسایی کرده اند. نتایج حاصل از تحقیق بر روی دو گونه V.songaricum و V.cheirantifolium نشان داد که اختلاف معنی داری بین قسمت‌های مختلف گل، برگ و ساقه در هر دو گونه از نظر وجود ترکیبات الکل، آمین، استر، هیدروکربن و کتون وجود دارد. با توجه به اینکه افزایش تولید کمی و کیفی دارو نه تنها بستگی به شرایط زیست محیطی دارد، بلکه در رابطه با روش‌های مختلف استخراج نیز متفاوت است. علاوه بر این، این نتیجه به ساختار ژنتیکی گیاه نیز ارتباط دارد. برگ گونه Verbascum دارای تغییرات شیمیایی بالاتری نسبت به سایر قسمت‌های گیاهی مانند گل و ساقه است (Karimian et al,. 2013). تحقیقاتی در سال ۲۰۱۲ بر روی گیاه V.cheiranthifolium بومی در منطقه آناتولی شرقی ترکیه مورد مطالعه قرار دادند. V.cheiranthifolium یکی از گیاهان پرمحصول استفاده شده در منطقه آناتولی شرقی است. دالارا و همکاران ظرفیت آنتی اکسیدانی و ترکیبات فنولی این گیاه را مورد بررسی قرار دادند. تجزیه و تحلیل قدرت آنتی اکسیدانی با استفاده از دو روش FRAP ( ارزیابی ظرفیت آنتی اکسیدانی بر اساس احیاء آهن) و ORAC (روش ظرفیت جذب رادیکال اکسیژن) انجام شده است (Dalara et al,. 2012). در سال ۲۰۱۴ دالار و همکاران ترکیبات فنولی و خواص بالقوه ضد التهابی برگ گیاه .Verbascum cheiranthifolium var مورد بررسی قرار دادند (Dalar et al,. 2014).

Ilhan Gurbuz و همکاران در سال ۲۰۰۵ اثر جوشانده عصاره آبی گلهای Verbascum cheiranthifolium متعلق به منطقه پینارپاشی ترکیه را بر روی بهبود ناراحتی‌های معده، درد و زخم معده بررسی کرده اند (Gurbuz et al,. 2005). خشنود و همکاران در سال ۲۰۰۸ عصاره اتانولی گیاه V.chiranthifolium را به عنوان حشره کش برای دفع آفات و محافظت از محصولات مورد بررسی قرار دادند (Khoshnoud et al,. 2008). با توجه به این که عوامل بسیار زیادی از جمله اقلیم، خاک و ارتفاع، اختلاف در گونه‌های گیاهی، روش‌ها و حلال‌های استخراج و روش‌های مختلف اندازه‌گیری در میزان متابولیت‌های

ثانویه از جمله فنول تام و خواص آنتی اکسیدانی دخالت دارند (Mirzaei et al,. 2011)، ضرورت انجام تحقیق بر روی میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی کل و فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه V.cheiranthifolium در منطقه کلکچال تهران قابل توجیه است. گیاه مورد مطالعه در این تحقیق از منطقه ای است که تا کنون کسی از این منطقه جمع آوری نکرده و مسلما از نقطه نظر جغرافیایی ترکیبات و خواص موجود با آنچه تا کنون انجام گرفته اختلاف دارد. این مطالعه، میزان ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی و خاصیت آنتی اکسیدانی را در عصاره قسمت‌های هوایی گیاه با روش DPPH[1] مورد بررسی قرار می‌دهد، روشی که تا کنون بر روی این گونه گیاهی انجام نشده است.

## مواد و روش‌ها

در این تحقیق آزمایشگاهی گونه گیاه ایرانی Verbascum cheiranthifolium Boiss. در تیر ماه سال ۱۳۹۶ از ارتفاع حدود ۲۵۰۰ متری رشته کوه البرز منطقه کلکچال تهران جمع آوری و توسط دکتر ولی الله مظفریان در موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور در تهران شناسایی شد. منطقه کلکچال واقع در رشته کوه البرز در شمال تهران قرار دارد. فصل سرد در این منطقه سه یا چهار ماه طول می‌کشد و سردترین ماه‌های سال دی و بهمن گزارش شده است. گرم ترین ماه‌های سال مرداد و شهریور می‌باشد. بر اساس نتایج گزارش شده از نزدیک ترین ایستگاه هواشناسی، بیشترین میزان بارش در سال ۲۰۱۷ در ماه آوریل، ۸۳/۴ میلی متر و ماه‌های ژوئن و سپتامبر بدون بارش بوده است.بیشینه دما ۳۷/۷ وکمینه دما ۶/۲- درجه سانتی گراد گزارش شده است.

قسمت‌های هوایی گیاه پس از جمع آوری و شناسایی در سایه خشک و سپس توسط دستگاه آسیاب آزمایشگاهی به پودر تبدیل شد. عمل عصاره گیری توسط حلال متانول به روش خیساندن به مدت ۴۸ ساعت انجام شد(Zohouri et al,. 2014).

اندازه‌گیری مقدار فنول کل: مقدار فنول کل با استفاده از معرف فولین - سیوکالتیو توسط دستگاه اسپکتروفتومتر UV-Vis (مدل CARY 300 Conc UV-Visible) اندازه گیری شد. به نیم میلی لیتر از عصاره ($1:10 g.ml^{-1}$)، ۲میلی لیتر واکنشگر فولین - سیوکالتیو ۱۰ درصد و پس از ۵ دقیقه، ۲ میلی لیتر از محلول ۵ درصد کربنات سدیم به آن اضافه شد. جذب نمونه‌ها پس از ۲ ساعت در طول موج ۷۶۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتوفوتومتر در مقابل بلانک قرائت شد.

گالیک اسید به عنوان استاندارد برای رسم منحنی کالیبراسیون به کار رفت و میزان فنول کل بر اساس میزان معادل "میلی گرم گالیک اسید در گرم عصاره" گزارش گردید. آزمایشات ۳ بار تکرار و میانگین آنها گزارش شد(Wojdylo et al,. 2007).

تعیین مقدار فلاونوئیدهای کل: از روش رنگ سنجی کلرید آلومینیوم برای تعیین مقدار فلاونوئیدهای کل استفاده شد (Chang et al,. 2002). به نیم میلی لیتر از عصاره ($1:10 g.ml^{-1}$)، ۱/۵ میلی لیتر متانول، ۰/۱ میلی لیتر کلرید آلومینیوم ۱۰ درصد، ۰/۱ میلی لیتر استات پتاسیم 1M و ۲/۸ میلی لیتر آب مقطر ترکیب شدند. سپس محلول‌ها در دمای اتاق به مدت ۳۰ دقیقه قرار داده شدند. جذب محلول‌ها در ۴۱۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. منحنی استاندارد با محلول‌های کوئرستین در حلال متانول تهیه شد و منحنی با نرم افزار Exel رسم گردید، سپس معادله خط y=ax+b بدست آمد. جذب‌های خوانده شده از نمونه‌ها به جایy قرار داده شد و X یا همان غلظت بدست آمد. آزمایشات ۳ بار تکرار و میانگین آن‌ها گزارش شد.

ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی به روش قدرت

1. 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

مهارکنندگی رایکال‌های آزاد DPPH: اساس این روش بر مبنای احیاء رادیکال آزاد DPPHبه وسیله آنتی اکسیدان‌ها در غیاب سایر رایکال‌های آزاد در محیط می‌باشد که نتیجه این عمل باعث ایجاد رنگی در محیط می‌شود که شدت آن با دستگاه طیف سنجی قابل اندازه‌گیری است.

DPPH یک رادیکال آزاد پایدار است که دارای یک الکترون جفت نشده بر روی یکی از اتم‌های پل نیتروژنی می‌باشد. مهار رادیکال DPPH پایه و اساس ارزیابی ظرفیت آنتی اکسیدانی است.

محلول متانولی DPPH دارای رنگ بنفش می‌باشد که بیشترین جذب نوری را در ۵۲۰-۵۱۵ نانومتر نشان می‌دهد. پایه و اساس این روش این است که رادیکال DPPH به عنوان پذیرنده الکترون از یک مولکول اهداکننده مانند آنتی اکسیدان عمل می‌کند در نتیجه آن DPPH به $_2$ DPPH تبدیل می‌شود. در این حالت رنگ بنفش محیط به رنگ زرد تبدیل می‌شود بنابراین شدت جذب در ۵۱۵ نانومتر کاهش می‌یابد از روی اندازه‌گیری کاهش شدت جذب به وسیله طیف سنجی می‌توان به خصوصیات آنتی اکسیدانی آن پی برد.

معمولا نتایج آزمون DPPH بر پایه$IC_{50}$[1] بیان می‌شود. $IC_{50}$ بیان گر غلظت موثر از نمونه‌ها است که ظرفیت مهار ۵۰٪ DPPH را دارد و از طریق رگرسیون خطی منحنی درصد ممانعت کنندگی و غلظت بدست می‌آید(Hosseini et al,. 2014). غلظت‌های مختلف از عصاره‌ها به همراه ۱ میلی لیتر از DPPH ۰/۱ میلی مولار و ۱ میلی لیتر متانول تهیه گردید. بعد از ۳۰ دقیقه قرار دادن در دمای اتاق، جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر با DPPH در مقابل بلانک توسط دستگاه UV-Vis قرائت شد. درصد مهار رایکال‌های آزاد با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$\%RSD = \frac{A_0 - A}{A_0} \times 100$$

%RSD: درصد مهار رایکال‌های آزاد (درصد بازداری آنتی اکسیدان در برابر رایکال‌های آزاد)

$A_0$: جذب شاهد (که حاوی یک میلی لیتر از متانول و یک میلی لیتر از محلول DPPH می‌باشد).

A: جذب نمونه (که حاوی حجم‌های مختلفی از عصاره گیاهی یا BHT و DPPH می‌باشد.)

در این تست از BHT (یک آنتی اکسیدان سنتزی) به عنوان کنترل مثبت استفاده گردید و کلیه آزمایشات سه بار تکرار شدند و میانگین آنها گزارش شد(Sadeghi et al,. 2015).

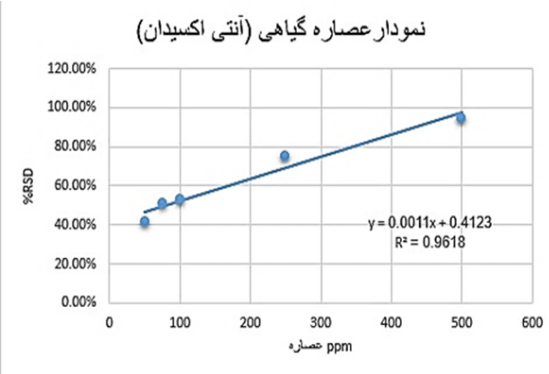
## نتایج

در این تحقیق مقدار فنول و فلاونوئید کل و میزان فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌های قسمت‌های هوایی گیاه ماهور مورد سنجش قرار گرفت. غلظت تمام عصاره‌ها برای کلیه آزمایشات با نسبت $1:10 g.ml^{-1}$ به کار رفت. به منظور ارزیابی مقدار متابولیت‌های ثانویه که مرتبط با فعالیت آنتی اکسیدانی هستند. مقدار فنول و فلاونوئید کل عصاره گیاه با دستگاه اسپکتروفتومتر UV-Vis مورد سنجش قرار گرفت. محتوای فنولی و فلاونوئیدی برای نمونه‌ها به ترتیب ۰/۹۲۵ میلی گرم گالیک اسید در هر گرم وزن خشک و ۱۸/۸۸۷ میلی گرم کوئرستین در هر گرم وزن خشک می‌باشد.

قدرت مهار رادیکال های آزاد توسط آزمایش DPPH مورد بررسی قرار گرفت. در روش DPPH با افزایش غلظت عصاره‌ها، مهار رادیکال‌ها با قدرت بیشتری صورت گرفت. برای محاسبه مقدار $IC_{50}$ ابتدا منحنی کالیبراسیون قدرت بازداری (%RSD) بر حسب غلظت (µg/ml) برای عصاره گیاه و آنتی اکسیدان سنتزی BHT رسم شد (شکل ۱و۲) و معادله خط هر دو نمودار بدست آمده و با جایگزین کردن عدد ۵۰ در محورy مقدار $IC_{50}$ از محور x محاسبه شد. غلظتی از

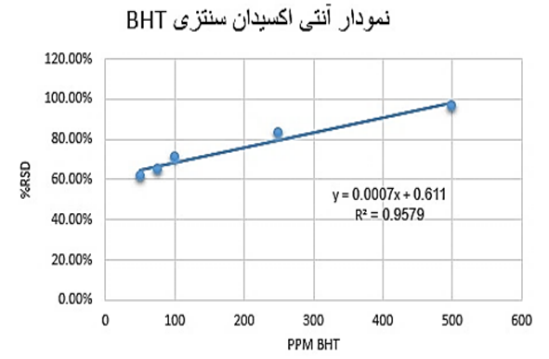
1. Half Maximal Inhibitory Concentration

عصاره‌ها که ۵۰ درصد مهار رادیکالی را منجر شد، برای BHT ۷۲۳۰۱/۴۲۸ میکروگرم بر میلی لیتر و برای عصاره ۴۵۸۲۹/۳۶۴ میکروگرم بر میلی لیترمی باشد. محدوده پتانسیل آنتی اکسیدانی به روش DPPH نشان داد که عصاره متانولی ماهور قدرت مهارکنندگی بیشتری از BHT دارد.




**شکل ۱- نمودار منحنی کالیبراسیون قدرت بازداری (RSD%) عصاره گیاهی(آنتی اکسیدان طبیعی)**

**RSD% درصد مهار رایکال‌های آزاد (درصد بازداری آنتی اکسیدان در برابر رایکال‌های آزاد) است.**




**شکل ۲- نمودار منحنی کالیبراسیون قدرت بازداری (RSD%) BHT (آنتی اکسیدان سنتزی)**

**BHT: ترکیب شیمیایی بوتیلات هیدروکسی تولوئن ، یک آنتی اکسیدان سنتزی است.**

## بحث

از آنجا که متابولیت‌های ثانویه مشتق شده از گیاهان مانند فنول و فلاونوئید دارای پتانسیل قوی برای پاکسازی رایکال‌های آزاد می‌باشند، مقدار فنول و فلاونوئید کل عصاره قسمت‌های هوایی گیاه ماهور به روش اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شد. روش فولین – سیوکالتو از رایج ترین روش‌های اندازه‌گیری ترکیبات فنولی است. اساس کار در این روش، احیای معرف فولین توسط ترکیبات فنولی در محیط قلیایی و ایجاد کمپلکس آبی رنگ است که حداکثر جذب را در طول موج ۷۶۰ نانومتر نشان می‌دهد. مخلوط متانول – آب و یا متانول به تنهایی برای استخراج ترکیبات فنولی به ویژه فلاونوئیدها و اسیدهای فنولی از بافت گیاهی به کار می‌رود(Mirzaei et al,. 2011).

افزایش غلظت ترکیبات فنولی به طور مستقیم میزان توانایی عصاره‌های مختلف را در مهار رایکال‌های آزاد افزایش می‌دهد. در غلظت‌های بالاتر ترکیبات فنولی، به دلیل افزایش تعداد گروههای هیدروکسیل حلقه‌های آروماتیک ترکیبات فنولی در محیط واکنش، احتمال دادن هیدروژن به رایکال‌های آزاد و به دنبال آن قدرت مهارکنندگی عصاره افزایش می‌یابد. توانایی و قدرت مهارکنندگی فنولها به دلیل گروه‌های هیدروکسیل در ملکول‌های آنها است. در بین ترکیبات فنولی، فلاونوئیدها ترکیبات آنتی اکسیدانی قویتری محسوب می‌شوند. فلاونوئیدها بازدارنده‌های قوی رایکال‌های هیدروکسیل و پراکسید هستند ( Sadeghi et al,. 2015).

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد عصاره متانولی قسمت‌های هوایی گیاه ماهور منطقه کلکچال تهران دارای مقدار فنول کل ۰/۹۲۵ میلی گرم گالیک اسید در هر گرم نمونه عصاره و مقدار فلاونوئید کل ۱۸/۸۸۷ میلی گرم کوئرستین در هر گرم وزن خشک می‌باشد. در تحقیقی که در سال ۲۰۱۲ توسط دالار و همکاران بر روی همین گیاه متعلق به منطقه آناتولی ترکیه انجام شده مقدار فنول کل عصاره ساقه، برگ و گل به ترتیب ۲۰/۲، ۳۳/۱ و ۳۰/۵ و مقدار فلاونوئید کل ساقه، برگ و گل به ترتیب ۵/۴۱، ۸/۴۲ و ۵/۹۲ می‌باشد (Dalara et al,. 2012).

گیاه مورد استفاده در این تحقیق از ارتفاع حدود ۲۵۰۰ متری رشته کوه‌های البرز در شمال تهران جمع آوری شد. این منطقه زمستان‌های سرد، حدود سه یا چهار ماه، با کمینه دما حدود ۶/۲- درجه سانتی گراد دارد و در ماه‌های گرم تابستان بیشینه دما به ۳۷/۷ درجه سانتی گراد می‌رسد.بیشترین میزان بارش که در سال جمع آوری گیاه گزارش شده ۸۳/۴ میلی متر و در بعضی از ماه‌های گرم سال بدون بارش گزارش شده است. در تحقیق سال ۲۰۱۲ در منطقه آناتولی، قسمت شرقی ترکیه، توسط دالار و همکاران انجام شده، مناطق کوهستانی شرقی ترکیه، دارای زمستان‌های سرد و طولانی با بارش سنگین برف همراه است.کمینه دما در زمستان ۱۳- درجه سانتی گراد و بیشینه دما در تابستان در این مناطق ۱۷ درجه سانتی گراد گزارش شده است.تفاوت گزارش شده در مورد نتایج گزارش شده در هر دو تحقیق، احتمالا می‌تواند به علت تفاوت دما و میزان بارش برف و باران در این دو منطقه باشد. با مقایسه نتایج بدست آمده مقدار ترکیبات فنولی کل گیاه متعلق به منطقه کلکچال کمتر از آناتولی است اما مقدار فلاونوئید کل گیاه منطقه کلکچال بیشتر است. با توجه به نتایج به دست آمده و مقایسه آنها می‌توان نتیجه گرفت که ارتفاع، وضعیت جوی و تغییرات دمایی آب و هوا بر روی میزان متابولیت‌های ثانویه فنول و فلاونوئید می‌توانند اثر داشته باشند.ترکیبات فنولی در آب و هوای سرد و کوهستانی افزایش ولی ترکیبات فلاونوئیدی در آب و هوای گرم افزایش می‌یابد. همچنین تفاوت در مقدار نتایج بدست آمده از یک گونه گیاهی اما متعلق به مناطق جغرافیایی مختلف، می‌تواند به علت تفاوت در اقلیم، خاک و ارتفاع، اختلاف در روش‌ها و حلال‌های استخراج و روش‌های مختلف اندازه‌گیری در میزان متابولیت‌های ثانویه باشد (Mirzaei et al,. 2011). ضمن اینکه در بین ترکیبات فنولی، فلاونوئیدها ترکیبات آنتی اکسیدانی قوی تری محسوب می‌شوند(Sadeghi et al,. 2015) می‌توان انتظار داشت خواص آنتی اکسیدانی گیاه منطقه کلکچال نیز بیشتر باشد.

چندین روش برای سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی وجود دارد. در تحقیق حاضر میزان فعالیت آنتی اکسیدانی به روش ظرفیت مهار رایکال‌های آزاد DPPH، مورد سنجش قرار گرفت. فعالیت مهارکنندگی رایکال‌های آزاد در روش DPPH بستگی به غلظت عصاره‌های گیاهی دارد. با افزایش غلظت، توانایی دادن الکترون‌ها به رایکال‌های آزاد و در نتیجه قدرت مهارکنندگی شدت می‌یابد و واکنش زنجیره ای رایکال‌های آزاد متوقف می‌شود(Peksel et al,. 2010).

با توجه به گستردگی کارهای انجام شده با روش‌های شیمیایی TEAC، DPPH،FRAP می‌توان گفت که این روش‌ها نتایج قابل مقایسه ای را در زمینه اندازه‌گیری ظرفیت آنتی اکسیدانی مطرح می‌کنند. اکثر این روش‌های شیمیایی ساده و سریع بوده اما همیشه همبستگی خوبی بین نتایج آنها مشاهده نمی‌شود همراه شدن این روش‌ها با اندازه‌گیری کل ترکیبات فنولی (که در اکثر مواقع متناسب با نتایج آزمون‌های شیمیایی است) می‌تواند مفید واقع شود. می‌توان گفت با توجه به نظر اکثر محققین استفاده تنها از یک روش شیمیایی نتایج دقیق و قابل استنادی ارائه نمی‌کند بنابراین پیشنهاد می‌شود در کارهای تحقیقاتی حداقل از دو یا سه روش شیمیایی استفاده شود.

نتایج بدست آمده از، ارزیابی پتانسیل آنتی اکسیدانی در این تحقیق، به روش DPPH، مقدار $IC_{50}$ برای BHT ۷۲۳۰۱/۴۲۸ میکروگرم بر میلی لیترو برای عصاره ۴۵۸۲۹/۳۶۴ میکروگرم بر میلی لیتر می‌باشد. در نتیجه خاصیت آنتی اکسیدانی این گیاه توان بالاتری در مقابل آنتی اکسیدان سنتزی BHT برخوردار است.

ظرفیت آنتی اکسیدانی در سال ۲۰۱۲ توسط دالار و همکاران با دو روش ORAC و FRAP انجام شده

است. در رابطه با ارزیابی ظرفیت آنتی اکسیدانی درروش ORAC، ترتیب زیر در میان اندام‌های مختلف گیاهی مشاهده شد: گل>برگ>ساقه. مقادیر بالای نتایج ارزیابی ظرفیت آنتی اکسیدانی با روش ORAC برای برگ و گل این گیاه قابل توجه است. برگ V.chiranthifolium در روش FRAP بالاترین مقدار را نشان داد. با توجه به مقادیر بدست آمده در روش FRAP، بیشترین مقدار ظرفیت آنتی اکسیدانی برای برگ‌ها و به دنبال آن گل و ساقه است. هر دو آزمون در این مطالعه به وضوح نشان داده که برگ در میان تمام قسمتهای گیاهی بالاترین مقدار ظرفیت آنتی اکسیدانی را دارد. ارزیابی ظرفیت آنتی اکسیدانی در روش FRAP برای ساقه، برگ و گل به ترتیب ۲۲۳/۸، ۳۶۸/۴ و ۲۲۴/۸ با واحد $\mu molFe^{2+}/g\ DW$ و در روش ORAC برای ساقه، برگ و گل به ترتیب ۹۰۵/۰، ۲۰۴۲/۱ و ۲۲۶۲/۶ با واحد $\mu mol\ TE/g\ DW$ می‌باشد (Dalara et al,. 2012).

## نتیجه‌گیری نهایی

در این تحقیق مقدار فنول و فلاونوئید کل اندازه‌گیری شد، با توجه به تفاوت در نتایج بدست آمده در مقدار فنول و فلاونوئید کل این تحقیق و تحقیقاتی که در ترکیه در سال ۲۰۱۲ توسط دالار و همکاران انجام شده، می‌توان با تغییر شرایط اقلیمی، خاک، ارتفاع، حلال‌ها، روش‌های مختلف و سایر شرایط موثر در آزمایش، میزان متابولیت‌های ثانویه ای که خواص آنتی اکسیدانی دارند را تحت تاثیر و افزایش داد. با بررسی مقادیر بدست آمده و شرایط آب و هوایی می‌توان نتیجه گرفت، با افزایش دمای هوا، مقدار فلاونوئید و خواص آنتی اکسیدانی گیاه هم افزایش می‌یابد.

همچنین میزان فعالیت آنتی اکسیدانی به روش ظرفیت مهار رایکال‌های آزاد DPPH، نشان داد که عصاره متانولی قسمت‌های هوایی گیاه ماهور خواص آنتی اکسیدانی بیشتری نسبت به آنتی اکسیدان سنتزی BHT دارد، با توجه به اینکه آنتی اکسیدان‌های سنتزی مانند BHT دارای خاصیت سرطان زایی بوده، به همین دلیل استفاده و جایگزین کردن آنتی اکسیدان‌های طبیعی در دسترس (بویژه در منابع گیاهی) در صنایع غذایی و دارویی می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد.

## سپاسگزاری

بدین وسیله از دکتر ولی الله مظفریان در موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور در تهران به خاطر همکاری درانجام تحقیق و راهنمایی در شناسایی جنس و گونه گیاهی تشکر و قدردانی می‌شود.

## منابع و مآخذ


1. Karimian V, Vahabi MR, Fazilati M, Soleimani F. Chemical composition in two species of Verbascum collected from natural habitats, southern Iran. Journal of Herbal Drugs.2013. Vol. 4, No. 3. 127-132
2. Karimian V, Vahabi MR, Teimoori J, Moradi R.2012. Importance of medicnal plants in reclamation of degraded rangelands. The third international conference on climate change and tree phenology, may 17-19, Sari, Iran.1-12. [In Persian]
3. Safi Z, Saeidi K, Lorigooini Z, Shirmardi HA. Evaluation of total phenols and antioxidant activity of Mullein (Verbascum songaricum) ecotypes. J Shahrekord Univ Med Sci.2016. 17 (6) :68-75. [In Persian]
4. Kupeli E, Tatli II, Akdemir ZS, Yesilada E. Bioassay-guided isolation of anti-inflammatory and antinociceptive glycoterpenoids from the flowers of Verbascum lasianthum Boiss. ex Bentham. J Ethnopharmacol.2007. 110(3):444-450.
5. Nabiuni N, Oryan SH, M Ayyobipor, Bagheri M. Histochemical study of Verbascum speciocum extract's effects on the wound healing in rats. Journal of Cell & Tissue.2011. 2(1):67-75. [In Persian]
6. Süntar IP, Akkol EK, YIlmazer D, Baykal T, KIrmIzIbekmez H, Alper M, et al. Investigations on the in vivo wound healing potential of Hypericum perforatum L. J Ethnopharmacol.2010. 127(2):468-77.
7. Pietta PG. Flavonoids as antioxidants. Journal of Natural Prodygts.2000. 63(7): 1035-1042.
8. Ames BN, Shigenaga MK, Hagen TM. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.1993. 90(17): 7915-7922.
9. Khalili M, Ebrahimzadeh MA. A Review on Antioxidants and Some of their Common Evaluation Methods. J Mazandaran Univ Med Sci .2015. 24(120):188-208. [In Persian]
10. Salmanian Sh, Sadeghi MAR, Alami M, Ghorbani M. Determination of antiradical and antioxidant activities and flavonoid content in hawthorn fruit (Crataegus elbursensis) Iran. J Nutr. Food Sci. Food Technol.2013. 8(1): 177- 185. [In Persian]
11. Shashi A, Sanjay KJ, Amita V, Mayank K, Alok M, Monika S. Herbal antioxidant in clinical practice: A review. Asian Pac J Trop Biomed.2014. 4(1):78-84
12. Karimian V, Vahabi M.R, Fazilati M, Soleimani. F. Chemical composition in two species of Verbascum collected from natural habitats, southern Iran. Journal of Herbal Drugs.2013. Vol. 4, No. 3: 127-132
13. Dalara A, Konczaka, I. Botanicals from Eastern Anatolia Region of Turkey: Antioxidant capacity and phenolic constituents of endemic herbal medicines. journal of herbal medicine.2012. Volume 2. Issue 4:126–135
14. Dalar A, Yu Guo, Konczak I. Phenolic composition and potential anti-inflammatoryproperties of Verbascum cheiranthifolium var. cheiranthifolium leaf. Journal of Herbal Medicine.2014.4:195-200
15. Gurbuz I, Ozkan AM, Yesilada E, Kutsal O. Anti-ulcerogenic activity of some plants used in folk medicine of Pinarbasi (Kayseri, Turkey). Journal of Ethnopharmacology .2005.101:313–318
16. Khoshnoud H, Khayamy M. Insecticidal Effects of Ethanolic Extract from Verbascum cheiranthifolium Boiss. Against Two Stored-Product Insect Pests Species. Journal of Biological Sciences.2008. 8 (1): 191-195
17. Mirzaei A, Mohammadi J, Mirzaei N, Mirzaei M. The antioxidant Capacities and total phenolic contents of some medicinal plants in Iran. Journal of Fasa University of medicinal sciences.2011.1(3): 160-166. [In Persian]
18. Zohouri A, Tabatabaee Yazdi F, Mortazavi SA, Shahidi F. Comparision ps efficiency and extraction of color and natural compounds from red beet by maceration and ultrasonic extraction methods. JFST.2014. 52(13): 50-56 [In Persian]

19. Wojdylo A, Oszmianski J, Czemerys R. Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs, Food Chem.2007.105: 940–949

20. Chang C, Yang M, Wen H, Chern, J. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. J Food Drug. Analaysis.2002.10: 178-182.

21. Hosseini S, Gharchurlu M, Ghiasi Tarzi B, Ghavami M. A review of antioxidant capacity determination methods (basis of reaction, method of work, strengths and weaknesses). Food Technology & Nutrition.2014. Vol. 11. No. 4:89-111 [In Persian]

22. Sadeghi Z, Valizadeh J, Azizian Sharmah O. Evaluation of total phenol, total flavonoid and antioxidant activity of Gistagrass Pistacia atlantica from Saravan (Sistan and Baluchestan province). Phytophthochemistry of Medicinal Plants.2015. Vol. 3, No. 2:18-27. [In Persian]

23. Peksel A, Arisan-Atac I, Yanardag R. Evaluation of Antioxidant and Antiacetylcholinesterase Activities of the Extracts of Pistacia atlantica Desf. Leaves. Journal of Food Biochemistry.2010. 34(3):451–476.